

非洲紫罗兰组培快繁技术

黄 靖

(福建农业职业技术学院园艺园林系 350119)

摘 要: 以成龄叶片、茎段为外植体,对非洲紫罗兰紫花品种进行组培试验,结果表明:叶片诱导效果好于茎段诱导效果,且以 MS + BA 1.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L + 蔗糖 20 g/L 培养基的诱导、继代增殖效果最好;生根培养以 1/2 MS + NAA 0.02 mg/L + 活性炭粉 3 g/L 的培养基较理想。

关键词: 非洲紫罗兰; 组织培养; 快繁

非洲紫罗兰是一种苦苣苔科的半肉质植物,全株被覆绒毛,较耐干旱。非洲紫罗兰品种繁多,花形花色变化大,不仅养护容易,适宜室内窗边生长,而且花期很长,只要护理得当,在室温 18 ~ 23℃ 范围内都能开花。在许多国家,它已成为大多数家庭室内盆栽的常见植物,有“室内花卉皇后”的美称。

非洲紫罗兰常规繁殖可用叶插法,种植多年的可分株繁殖,育种上常用种子繁殖。但是这些方法繁殖系数都不是很高,且增殖速度慢,不利于新品种推广和商业利用。本研究在前人研究的基础上,进一步试验了非洲紫罗兰组织培养和工厂化快繁程序,旨在探索出利于非洲紫罗兰工厂化生产的有效途径。

1 材料与与方法

1.1 供试材料 非洲紫罗兰紫花品种,取自福州建新缤纷园艺场。

1.2 材料处理 将剪取的紫罗兰叶片、茎段用自来水冲洗后置于 70% 酒精中 30 s,倒去酒精,用无菌水漂洗,转入 0.1% 升汞中分别消毒 6 min、8 min、10 min、12 min,用无菌水漂洗 5 ~ 8 次,并在无菌水中浸泡 20 min,然后取出将叶片切为 0.5 ~ 0.7 cm² 的方块,将茎段切为 0.2 ~ 0.3 cm 的小段备用。

1.3 培养基配制 采用 MS 基本培养基,附加不同浓度的 BA、KT、NAA、蔗糖、活性炭粉,琼脂 7 g/L。培养基煮沸后调 pH 值至 5.8 后注入容器中(诱导使用试管,继代使用三角瓶),封口后于

120℃、1.1 kg/cm² 高压锅中灭菌 30 min。

初代培养基: ①MS + BA 0.1 mg/L + NAA 0.1 mg/L; ②MS + BA 1.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L; ③MS + BA 2.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L; ④MS + KT 0.2 mg/L + NAA 0.2 mg/L; ⑤MS + KT 0.5 mg/L + NAA 0.2 mg/L; ⑥MS + KT 1.0 mg/L + NAA 0.5 mg/L。

继代增殖培养基: ⑦MS + BA 1.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L; ⑧MS + BA 2.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L。

生根培养基: ⑨1/2 MS + BA 0.05 mg/L + NAA 0.02 mg/L; ⑩1/2 MS + NAA 0.02 mg/L。

1.4 培养条件 将消毒过的紫罗兰叶片切块与茎段分别接种在不同配方培养基的试管内(茎段需注意极性),置于光照培养室内,在室温为 26℃ 左右、光照强度 1000 ~ 1500 lx、光照时间 16 h 的条件下诱导愈伤组织形成。

1.5 继代增殖培养 将形成的愈伤组织转移到⑦MS + BA 1.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L 及⑧MS + BA 2.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L 的培养基中培养,每个三角瓶接种 2 ~ 3 块,培养 35 d 左右,将形成的丛生芽继续分割接种,进一步扩大增殖。

1.6 生根培养 选择生长健壮的小苗移至⑩1/2 MS + NAA 0.02 mg/L 的生根培养基上,3 周后观察记录生根和小苗生长状况,并统计生根率。

1.7 观察记载 接种后每隔 15 d 观察 1 次,记录成活数、污染率、萌芽数、愈伤组织及芽和根的生长情况。

2 结果与分析

2.1 消毒时间对非洲紫罗兰无菌系建立的影响 不同消毒时间对非洲紫罗兰外植体接入的影响结果列于表 1。由表 1 可见,非洲紫罗兰外植体的消毒

时间不宜少于 8 min, 而消毒 12 min 的, 则因消毒时间过长而导致外植体全部褐变死亡。因此, 非洲紫罗兰外植体的消毒时间以 8~10 min 为宜。

表 1 消毒时间对非洲紫罗兰外植体接入的影响

消毒时间 (min)	接种数 (瓶)	污染数 (瓶)	污染率 (%)
6	40	19	47.5
8	40	9	22.5
10	40	5	12.5
12	40	0	0

2.2 不同外植体的愈伤组织诱导效果 从表 2 可知, 茎段诱导率极低, 且随时间延长大部分茎段外植体褐变死亡; 而叶片的诱导率为 100%, 所有接入的叶片外植体都有愈伤组织生成。因此, 从外植体来源上看, 叶片比茎段诱导效果好。

表 2 不同外植体的愈伤组织诱导效果

外植体	诱导率 (%)	诱导时间 (d)	增殖速度	愈伤组织特征
叶片	100	35	较快	黄绿色、半透明
茎段	0	0	无	无

2.3 不同培养基对叶片愈伤组织诱导的影响 将消毒后的叶片外植体分别接入①、②、③、④、⑤、⑥等 6 种培养基中, 培养 35 d 后, 外植体叶面发生皱褶, 切口产生黄绿色愈伤组织。从表 3 可知,

表 3 不同培养基对叶片愈伤组织诱导的影响

培养基	接种数 (个)	出愈数 (个)	出愈率 (%)
①MS + BA 0.1 mg/L + NAA 0.1 mg/L	50	7	14
②MS + BA 1.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L	60	15	25
③MS + BA 2.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L	56	9	16
④MS + KT 0.2 mg/L + NAA 0.2 mg/L	39	0	0
⑤MS + KT 0.5 mg/L + NAA 0.2 mg/L	39	0	0
⑥MS + KT 1.0 mg/L + NAA 0.5 mg/L	39	1	2

使用含有 BA 配方的诱导效果明显高于使用 KT 配方的, 其中以②号配方 (BA 为 1.0 mg/L) 的诱导效果最好, 故在以后的继代培养中选用②号配方。此外, 试验发现, 非洲紫罗兰叶片组织培养的极性反应很明显, 丛生芽总是从叶片上表面长出, 叶片切块的放置方式对诱导率有一定的影响, 当叶片朝

上放置时, 诱导率明显高于叶面朝下放置的。所以, 在叶片外植体接入时应以叶面朝上的方式放置。

2.4 不同培养基对叶片愈伤组织分化的影响 外植体产生小苗后, 采用同样的培养基做继代增殖。将转移的丛生小苗切成较小的丛, 或将较大的苗再切碎, 分别在⑦和⑧两种培养基上培养 30~40 d, 结果表明: 两种培养基的继代增殖效果相差不多, 一般每个愈伤组织可以诱导分化出 3~4 个芽。

2.5 根诱导效果分析 选取生长健壮的试管苗, 移植到培养基⑩上。一般在 23 d 左右便可生根。根长度多为 1.0~1.5 cm, 根较细且多须根。

为了尝试小苗是否能在增殖的同时生根, 从而节省从生长到移苗的时间, 在继代增殖的过程中, 将小苗接种到一次生根培养基⑨上, 但效果并不理想, 供试的 20 瓶小苗, 在增殖同时仅有 5 瓶生根, 而且耗时相对过长, 不利于大规模工厂化生产。因此对于一次生根配方有待进一步的研究。

3 小结与讨论

以往的研究表明, 用组织培养技术对非洲紫罗兰进行繁殖, 技术较简单, 繁殖速度快, 比常规繁殖的叶插法等能明显缩短繁殖时间, 同时可避免叶插繁殖时出现小苗叶片生长不对称的偏斜现象, 从而为市场提供大量优质种苗。本研究在前人的基础上, 进一步研究了外植体取材、消毒时间、激素组合等对非洲紫罗兰组培快繁的影响。

3.1 在外植体消毒时间上, 不同于以往常用的 8 min、10 min、12 min。本研究表明, 12 min 的消毒时间对紫罗兰外植体的伤害很大, 易导致大量外植体褐变死亡; 而 6 min 的消毒时间则明显不足, 污染率高。因此, 非洲紫罗兰外植体的消毒时间以 8~10 min 为宜。

3.2 在外植体取材方面, 叶片与茎段有着显著的差异, 以叶片作为外植体无论在分化时间、分化效果上, 均好于茎段。所以非洲紫罗兰的外植体应尽量使用叶片。

3.3 试验结果表明, 非洲紫罗兰叶片的初代诱导和继代增殖均可在 MS + BA 1.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L 及 MS + BA 2.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L 两个培养基上完成, 其中又以 MS + BA 1.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L 的培养基配方效果更好。

澳大利亚 GLP 概况与我国农药 GLP 建设的几点思考

黄琼辉

(福建省农药检定所 350003)

为加强良好实验室规范 (Good Laboratory Practice, 以下简称 GLP) 建设, 由农业部农药检定所组织有关单位赴澳大利亚进行考察培训, 笔者有幸参与。培训期间, 分别邀请了悉尼科技大学 (UTS)、澳大利亚实验室质量管理服务公司 (LQMS)、澳大利亚联邦科学与工业研究组织 (CSIRO) 纺织与纤维制品研究所、澳大利亚农药和兽药管理局 (APVMA)、堪培拉大学 (UC)、Bayer (拜耳) 农药残留 GLP 实验室、昆士兰大学 (UQ)、昆士兰州卫生和健康科学服务部 (QHSS)、澳大利亚国家检测协会 (NATA) 等单位的近 20 位专家详细介绍了 GLP 基础知识、GLP 实验室认证、机构设置、质量监督管理以及标准操作程序 (SOP) 的建立、GLP 与澳大利亚农药登记管理、农药安全使用等方面的内容, 并参观了相关单位的 GLP 实验室, 了解了澳大利亚实验室认可及 GLP 实验室认证的基本情况, 学习了实施 GLP 的实际经验, 对今后我国农药 GLP 实验室的建设、提高农药登记试验研究水平具有一定的借鉴作用。本文主要对 GLP 准则的概况及澳大利亚 GLP 实施的模式进行介绍, 并对我国农药领域 GLP 的建设提出建议。

收稿日期: 2007-05-08

作者简介: 黄琼辉, 女, 1968 年生, 高级农艺师。

1 GLP 准则概况

GLP 是为实验室实 (试) 验研究的实施从计划、实验、监督、记录、归档到实验报告等一系列管理而制定的规范性文件, 涉及到实验室工作可影响到的结果和实 (试) 验结果解释的所有方面。它主要是针对医药、农药、食品添加剂、化妆品、兽药等进行安全性评价实 (试) 验而制定的规范。制定 GLP 的目的是严格控制化学品安全性评价试验的各个环节, 即严格控制可能影响结果的准确性的各种主客观因素, 减小误差, 确保结果的真实性。如应保证研究人员具备一定素质, 实 (试) 验设计周密合理, 各种条件符合要求, 仪器设备经过校准, 数据处理完整准确, 总结报告科学真实等。经济合作与发展组织 (以下简称 OECD) 从国际贸易的角度出发, 为了避免化学品的非关税壁垒, 推动安全性评价数据的相互认可, 制订了 GLP 准则, 并规定: 凡是需要登记和许可管理的医药、农药、食品添加剂、化妆品、兽药和类似产品, 以及工业化学品, 在进行非临床人员健康和环境安全试验时, 都应遵守 GLP 准则。实施 GLP 准则能促进试验数据质量的提高, 而试验数据质量的可比性也是各国之间数据相互认可的基础。GLP 实验室所出具的数据不但在本国得到登记管理部门认可, 如果国家间或 GLP 实验室检查机构间达成互认协议, 其试验数据

在生根培养上, 以 $1/2$ MS + NAA 0.02 mg/L 为主要生根配方, 生根效果较理想。有资料表明, 非洲紫罗兰可在 MS + BA 0.1 mg/L + NAA 0.1 mg/L 的配方中一次成苗。本试验尝试用 $1/2$ MS + BA 0.05 mg/L + NAA 0.02 mg/L 的激素组合进行一次生根, 但试验效果并不理想。

参考文献:

- [1] 廖晴, 刘大庆. 非洲紫罗兰的组织培养 [J]. 新疆农业科学, 1997, 3: 125-126.
- [2] 赵兴兵, 张苏锋. 非洲紫罗兰组织培养与工厂化快繁程度的研

究 [J]. 信阳师范学院学报: 自科版. 1999, 12 (1): 109-111.

- [3] 蒋林, 陈国华. 非洲紫罗兰和花叶芋的组织培养和快速繁殖 [J]. 仲恺农业技术学院学报, 2000, 13 (1): 27-32.
- [4] 吴丽芳, 杨春梅. 非洲紫罗兰组培快繁技术 [J]. 云南农业科技, 2001, 3: 19-20.
- [5] 徐怀亮, 罗鹏. 紫罗兰愈伤组织诱导及植株再生的研究 [J]. 中国油料作物学报, 2002, 24 (1): 19-22.
- [6] 谭文澄, 戴策刚. 观赏植物组织培养技术 [M]. 北京: 中国林业出版社, 2000.

(责任编辑: 林树文)