

非洲菊组织培养技术

严志衡 贾明 姚愚 曹征宇 顾韵莉

(上海市浦东新区农业技术推广中心 201201)

非洲菊 (*Gerbera jamesonii* Bolus), 又名扶郎, 为世界各国常用的切花, 但因其异花授粉, 用种子繁殖不能保持其特性, 而利用组织培养可加速其繁殖并保持性状。本试验采用非洲菊的幼嫩花蕾为外植体, 使用不同的培养基激素组合, 选择非洲菊诱导、增殖和长根培养三个阶段的最适培养基配方, 通过愈伤组织诱导出芽, 并使其大量繁殖, 获得生根的植株, 为非洲菊标准化和规模化生产奠定基础。

1 材料和方法

1.1 试验材料 非洲菊品种“107-2”。

1.2 试验方法

1.2.1 外植体的选择及表面消毒。外植体采用非洲菊的幼嫩花蕾, 用自来水冲洗, 再用稀释洗衣粉加少许吐温浸泡并振荡 10min, 自来水冲洗 20~30min; 在超净工作台上将预处理后的幼蕾用 75% 酒精表面消毒 45min, 无菌水冲洗 3 次; 再用 0.1% 升汞浸泡振荡消毒 25min, 无菌水冲洗 5 次, 将消毒后的花蕾一切为 2 或 4。

1.2.2 培养基。诱导培养基以 1/2MS 为基本培养基, 以不同激素组合, 细胞分裂素 BA 分 2.5、5.0、10.0、12.5 和 15mg/L 五个处理, 其中培养基糖浓度 30g/L, 琼脂 6.5g/L, 置光强 1500Lux 下培养; 与生长素 IAA 分 0.10、0.25、0.50、0.70 和 1.00mg/L 五个处理组合, 从中选择最适合的培养基配方, 每种培养基接种 4 块外植体。增殖培养基以 MS 为基本培养基, 采用不同激素组合, 细胞分裂素 BA 分 0、0.1、0.2、0.5 和 1.0mg/L 五个处理; 与生长素 (KT+IAA) 分 (0+0.1)、(2.5+0.2)、(5.0+0.3)、(7.5+0.4) 和 (10.0+0.5)mg/L 五个处理组合, 使小苗增值。生根培养基以 1/2MS 为基本培养

持不变。

2.5 种子干燥速率因干燥剂的种类和剂量不同而不同 采用木柜、干燥器和冰箱 3 种贮藏方法比较芝麻种子的贮藏效果, 结果以冰箱低温贮藏最佳, 但成本高; 其次是干燥器贮藏, 干燥器贮藏 17 年的种子, 含水量稳定在 2.3% 左右, 粗脂肪、粗蛋白和脂肪酸组成含量未发生明显变化; 田间种植出苗率仍有 50% 以上, 且能正常生长, 无形态上的变异 (冯祥运, 1995)。

2.6 不同作物种子适合于不同的超干回湿方法 解决超干种子的吸胀损伤是种子超干贮藏技术的重要环节。经超干后的种子细胞膜活性受到不同程度的影响, 但对于大多数种子而言, 这并非来自超干处理, 而是由于极度干燥的种子在萌发时重新吸水过快而受损伤造成的。种子的吸胀损伤以大粒豆科作物种子表现最甚: 吸胀损伤的程度取决于种子含水量、吸水速率和所处的温度。防止吸胀损伤的办法就是发

基, 附加激素 NAA, 浓度分别为 0、0.05、0.10、0.15、0.20 和 0.25mg/L 六个处理。

1.2.3 统计方法。对诱导培养基接种 1 周后开始观察、记录, 试验结束后统计时取其平均数。对增殖培养基、生根培养基上的小苗, 10d 开始观察、记录, 试验结束后统计时取其平均数。

2 结果与分析

2.1 生长素和细胞分裂素对芽诱导再生的影响 结果表明, 生长素和细胞分裂素对芽诱导再生有影响, 组合浓度过高或过低都不利于芽的再生, 最佳组合是 BA 10.0mg/L + IAA 0.5mg/L, 外植体在此培养基上生长 10d 后就可形成愈伤组织, 60d 后愈伤组织上不定芽都生长正常, 再生率为 93.50%, 芽平均高度可达 0.96cm (见表 1)。

表 1 生长素和细胞分裂对芽诱导再生的影响

细胞分裂素 BA 浓度 (mg/L)	生长素 IAA 不同浓度 (mg/L) 下的诱导再生率 (%)				
	0.10	0.25	0.50	0.75	1.00
2.50	14.70	19.10	40.10	19.80	8.90
5.00	20.90	32.30	66.70	30.40	15.60
10.00	32.40	46.80	93.50	47.10	21.70
12.50	18.90	26.60	47.80	25.70	13.80
15.00	9.70	15.70	29.40	13.20	6.40

2.2 生长素和细胞分裂素对小苗增殖的影响 结果表明, 小苗的增殖倍率对生长素浓度有一定要求, 当激素组合生长素 KT5.0mg/L + IAA 0.3mg/L 时, 小苗的增殖倍率随细胞分

收稿日期: 2005-10-12

芽前对超干种子进行回湿处理 (饱和水汽平衡、不同相对湿度梯度平衡、PEG 渗调等), 使超干种子有一个缓慢的吸水过程, 对膜进行修复, 改善膜的选择透性, 从而避免种子在吸胀过程中由于大量物质渗漏而造成活力下降。但不同作物种子有不同的特性以及化学组成, 要求回湿方法也不相同, 适当的回湿方法将大大提高超干的活力水平 (张云兰, 1996)。

3 展望

我国是 80 年代中后期开始种子的超干贮藏研究, 1991 年国家种质库将这项研究列入国家“八五”重点攻关项目。超干贮藏技术是种子贮藏研究领域的一个新课题, 尚有大量工作需要去做, 如究竟有哪些作物种子可进行超干贮藏, 其干燥的临界水分即安全含水量下限是多少, 种子在超干贮藏时的生理生化以及细胞结构的变化等, 因此必须推广作物种类的研究范围, 进一步拓宽试验的种子材料, 以使超干贮藏技术能够在农业生产上得到广泛应用。(参考文献略)

羽衣甘蓝组织培养及快繁技术

王会 (襄樊职业技术学院生物工程系;湖北 441021)

羽衣甘蓝 (*Brassica Oleracea* var *acephala*) 为十字花科芸薹属甘蓝的一个野生种,一二年生草本植物。原产地中海至小亚西亚一带,在我国栽培历史不长,尤其是观赏羽衣甘蓝近10年才有少量种植。它是长江中下游地区晚秋和初冬的优良观叶植物,色彩鲜艳,观赏期为11月~翌年3月。羽衣甘蓝由于品种不同,叶色丰富多变,叶形也不尽相同,整个植株形如牡丹,所以也被称为“叶牡丹”、“牡丹菜”等。

1 材料及培养条件

1.1 材料 波浪叶羽衣甘蓝大喉红色种子。

1.2 培养条件 以MS为基本培养基,诱导培养基(mg/L,下同)为(1)MS+2,4-D 0.5+GA 0.5,增殖培养基为(2)MS+6-BA 1.0+IAA 0.2,生根培养基为(3)MS+NAA 0.05~0.2。以上培养基均加入3%蔗糖,0.7%琼脂,pH 5.8,培养温度 $22 \pm 3^\circ\text{C}$,光照时间12h/d,光照强度2000Lx。

2 培养方法

2.1 无菌材料的获取 取羽衣甘蓝种子,装入小纱布袋,无菌水冲洗后浸种12~24h,然后在超净工作台上用70%酒精浸泡1min,无菌水冲洗2次后放入0.1% HgCl₂消毒14min,用无菌水冲洗5次后播种于培养基上,经23~25℃暗培养3d后进行光培养1周,即可得到羽衣甘蓝无菌小苗。

2.2 丛芽的诱导与增殖 在超净台上取羽衣甘蓝无菌小苗的顶芽、茎段(1~1.5cm)接种到诱导培养基上,培养1周后顶芽及茎段开始膨大、增厚,逐渐变成乳白色愈伤组织,2周后渐渐分化出绿色小芽点,3周后可见明显的丛生芽。将丛

生芽分切成大小1cm左右,接种到增殖培养基上,丛芽不断分化增生,1周后即可继代,增殖系数可达6~10。

2.3 根的培养 将高2~3cm、生长健壮的无根小苗接种到生根培养基(3)上,1周后苗基部长出辐射状粗壮的白色小根,2周后根长达1~2cm,每株苗根数10~25条,生根率达100%。

3 试管苗的移栽与管理

当试管苗长至4~5cm、有5~6片叶时可移栽。移栽前,将小苗带瓶移入温室2周左右,然后打开瓶盖炼苗3~5d,取出苗后,用清水冲洗掉苗基部的培养基,将根部放入1000倍百菌清溶液中浸根3~5min,然后定植于泥碳土+炭化糖灰+珍珠岩(2:1:1)育苗盘中。刚定植的小苗应遮光50%左右,温度控制在20℃左右,湿度以70%为好,以后保持不干不湿。羽衣甘蓝喜充足光照,喜肥耐肥,因此缓苗后要保证充足光照,光照不足苗体细弱。移苗1周后开始追肥,每周叶面喷施一次,保证充足肥水。

4 小结

诱导培养时发现顶芽比茎段更易形成愈伤组织,表现在形成愈伤组织时间短、丛生芽多。生根时生长素浓度不宜偏高,偏高易形成愈伤组织,降低苗的成活率。培养温度不宜超过25℃,否则试管苗会变黄、枯萎。出苗时间宜掌握在秋季,以便羽衣甘蓝幼苗经寒冷刺激更好着色和结球。

收稿日期:2005-06-30

裂素浓度的提高而增加,最高可达4.0倍(BA1.0mg/L),但此时由于植株分蘖过多,生长瘦弱,苗体高度仅2.1cm,苗的质量较差;而当BA浓度为0.2mg/L时,小苗的增殖倍率为2.5,较理想,小苗高度可达3.2cm,苗体生长健壮、翠绿,故最适增殖培养基为MS+BA0.2mg/L+KT5.0mg/L+IAA0.3mg/L(见表2)。

表2 生长素和细胞分裂素对小苗增殖的影响

细胞分裂素 BA (mg/L)	生长素 KT 和 IAA 不同浓度(mg/L)下的增殖倍率									
	KT		IAA		KT		IAA		KT	
	0	0.1	2.5	0.2	5.0	0.3	7.5	0.4	10.0	0.5
0	0.9	1.5	1.9	1.8	1.6					
0.1	1.0	1.7	2.1	2.0	1.9					
0.2	1.3	2.0	2.5	2.2	2.0					
0.5	1.9	2.2	3.1	2.4	2.2					
1.0	2.1	2.4	4.0	2.7	2.4					

2.3 生长素对小苗生根的影响 试验结果表明(见表3),生长素NAA对非洲菊根的诱导起重要作用。在没有NAA的培养基中,小苗的生根率非常低,平均只有19%,生根苗只有1条根,且根非常短,平均只有0.43cm;当在培养基中加入生长素NAA后,随NAA浓度的不断提高,小苗生根率、根条数和根长度逐渐发生变化,在NAA浓度达0.15mg/L时生根率达最高,为95%,每株苗平均根数为3.6条,平均根长为1.20

cm,小苗根粗壮,植株翠绿挺拔,为最佳生根配方;随NAA浓度进一步提高,生根率和每株苗生根数都明显下降,但小苗根的长度明显增加,根细长、根的分枝增多,植株长势明显比NAA为0.15mg/L时弱。

表3 生长素对小苗生根的影响

生长素 NAA(mg/L)	0	0.05	0.10	0.15	0.20	0.25
接种数(棵)	100	100	100	100	100	100
平均根数(条)	0.89	2.05	2.40	3.60	2.10	1.90
生根率(%)	19	55	70	95	69	50
平均根长(cm)	0.43	0.81	0.85	1.20	2.88	2.86

3 小结

经过采用非洲菊幼嫩花蕾为外植体,使用不同的培养基激素组合,筛选出非洲菊诱导的最适培养基配方组合是1/2MS+BA10.00mg/L+IAA0.50mg/L,外植体在此培养基上生长10d后就可形成愈伤组织,60d后愈伤组织上的不定芽生长正常,再生率为93.5%,芽平均高度可达0.96cm;非洲菊增殖的最适培养基为MS+BA0.2mg/L+KT5.0mg/L+IAA0.3mg/L,小苗的增殖倍率为2.5,小苗高度达2.3cm,苗体健壮,翠绿;非洲菊长根的最适培养基为1/2MS+NAA0.15mg/L,生根率最高可达95%,每株苗平均根数为3.6条,平均根长1.2cm,小苗根粗壮,植株翠绿挺拔。