

龙翅海棠组培快繁技术初报

相 阳

(济宁市园林局科研所, 山东济宁272003)

摘 要:龙翅海棠的组培快繁要经过建立无菌外植体、继代增殖培养和试管苗的生根炼苗培养3个阶段。其中,在无菌外植体的建立过程中,选择叶片作为外植体,经过消毒后,切成1.5cm²左右的小块,叶正面向上平放在MS+6-BA1.0mg/L+NAA0.1mg/L+3%蔗糖+0.6%琼脂培养基中;继代增殖最适培养基为:MS+6-BA1.0mg/L+NAA0.05mg/L;当继代培养进行到第6代时生长势降低,需在不加任何生长调节物质的培养基MS₀中进行壮苗培养;生根培养的最适培养基为:1/2MS+NAA0.1mg/L+2%蔗糖+0.6%琼脂;最适炼苗基质为:泥炭:珍珠岩:蛭石=1:1:1。

关键词:龙翅海棠;组培快繁;生长调节剂;练苗基质

中图分类号S685.99

文献标识码B

文章编号1007-7731(2008)16-095-03

龙翅海棠是秋海棠属,多年生常绿半垂吊型草本花卉。其叶片形状如翅膀,基部偏斜,形似龙身插翅,因而得名龙翅海棠。龙翅海棠四季有花,猩红色的海棠状如珊瑚,叶片亮绿,色彩对比鲜明,光彩夺目,艳丽醉人,是观赏价值较高的名贵花卉。龙翅海棠种子繁殖易产生变异,一般不采用。扦插易成活,但扦插分枝性差,株型不整齐,花小色浅,也不是理想的繁殖方法。用组织培养的方法可在短期内获得大批遗传性稳定的优良种苗,且组织培养苗生长健壮,具有很强的分枝、开花、生长能力。鉴于此,对龙翅海棠的组织培养做了系统的研究,并取得了丰硕成果。于2006年顺利通过专家组的技术鉴定。

1 材料与与方法

1.1 供试材料。由北京引进的盆栽龙翅海棠品种。

1.2 实验方法。

1.2.1 无菌外植体的建立。(1)外植体的选择:取生长健壮的龙翅海棠的中龄叶片作为外植体。(2)外植体的消毒:将选取的外植体叶片先用自来水冲洗30min转入接种室,70%乙醇浸泡10s后,再用0.1%HgCl₂处理4min,倒入无菌水冲洗四五次。(3)外植体的切取:将灭菌后的龙翅海棠叶片放在培养皿中,切成1.5cm²左右的含主脉和不含主脉的2种切块,接种到带有培养基的三角瓶中,每瓶一块,具体详见表1。(4)外植体的放置:把经过消毒处理后的龙翅海棠的叶片切成1.5cm²左右,接种在合适的培养基中,在放置时采用了叶正面向上、叶背面向上、竖直放置3种方法,具体详见表2。(5)愈伤组织的诱导:选用MS培养基作为基本培养基,添加3%的蔗糖和0.6%的琼脂,从3个不同生长调节剂浓度配方中选出较为合适的配方,具体详见表3。

1.2.2 继代增殖培养。(1)生长调节剂对不定芽增殖培养的影响,详见表4。把第1阶段诱导出的含愈伤组织的不定芽块,切成直径1cm左右的小块,转移到不同生长调节剂浓度组合的培养基中。每瓶二三块,每处理10瓶,3个重复,

25d后统计不定芽增殖情况。(2)继代次数对龙翅海棠继代增殖培养的影响,详见表5。把丛生苗转接进行继代增殖培养,当继代增殖进行到第6代时,表现出苗子分化异常,叶片小而薄、不舒展、颜色变浅,分生能力大大降低,个子矮小,生长缓慢。

1.2.3 生根壮苗培养。(1)生根前的壮苗培养,详见表6。把经过5代继代增殖的丛生芽苗转接到含有不同生长调节剂浓度的培养基中,与不含任何生长调节剂的MS₀对照,经过30d培养后观察。(2)基本培养基类型对试管苗生根的影响,详见表7。选取生长健壮的无菌苗,接种在添加适当生长调节剂的1/2MS(所有元素减半)、1/2MS(大量元素减半)、1/4MS(大量元素)培养基中,20d后观察。(3)生长调节剂对无菌苗生根的影响,详见表8。以1/2MS培养基为基本培养基,选取生长健壮的无菌苗,接种在6个不同生长调节剂浓度组合的培养基上,20d后观察统计实验结果。(4)活性炭对无菌苗生根的影响,详见表9。为验证活性炭对龙翅海棠的生根培养是否有影响,本实验培养基中加入0.2%的活性炭,其他成分不变,接种健壮无菌苗20d后与未加入活性炭的作比较。

1.2.4 试管苗的炼苗移栽。试管苗经过生根培养25~30d后,株高约3.5~4.0cm,最大叶宽2.4~2.8cm,每株叶片五六枚,须根生长良好,转入炼苗室,解开瓶口在常温下炼苗三四天,洗去附着于苗根部的培养基,移栽于4种不同的基质中,保温保湿。

2 结果与分析

2.1 无菌外植体的建立。

2.1.1 外植体切取。情况详见表1。从表1可以看出,含有主脉的切块愈伤组织诱导时间短,诱导率高,不含主脉的叶片切块诱导时间长,诱导率低,可能与叶脉两侧组织肥厚,细胞分化能力强有关。

2.1.2 外植体的放置。情况详见表2。由表2可以看出,外植

体在培养基中的放置方式对愈伤组织的诱导时间及诱导率均有影响。叶片正面向上时,叶背面气孔多,利于吸收水分和养分,故诱导快,诱导时间为12d,诱导率高达99%。因此,大多采用叶片正面向上的放法,竖直放置,诱导率也比较高,为84%。

表1 叶片不同部位愈伤组织诱导时间、诱导率 单位: %

叶片部位	诱导情况	诱导率
含叶脉	9d叶片肿胀,开始凸起,12d叶片边缘及叶脉处,出现愈伤组织	99
不含叶脉	14d叶片肿胀,开始凸起,18d叶片边缘及叶脉处,出现愈伤组织	55

表2 叶片愈伤组织不同放置方式对诱导时间、诱导率的影响 单位: d、%

放置方式	诱导时间	诱导率
叶正面向上	12	99
叶背面向上	17	74
竖直放置	15	84

2.1.3 不同生长调节剂浓度组合对愈伤组织诱导的影响。情况详见表3。由表3可知,综合比较各处理下愈伤组织的形成时间,诱导率及生长情况,使用分裂素BA和生长素NAA效果明显好于KT和2,4-D,且MS+BA1.0+NAA0.1组合在龙翅海棠愈伤组织诱导过程中效果最好。

表3 不同生长调节剂浓度组合对愈伤时间及诱导率的影响 单位: d、%

生长调节剂浓度组合	愈伤组织出现时间	诱导率	愈伤组织诱导状况
MS+KT2.0+2,4-D0.2	11	12	愈伤组织形成后,停止分化
MS+BA2.0+2,4-D0.2	17	9	愈伤组织很少,不进行分化
MA+BA2.0+NAA0.2	19	3	愈伤组织分化成了许多白色块状体,少数绿色愈伤组织块分化成芽
MS+BA2.0+NAA0.02	16	52	愈伤组织分化成块状体,极少分化成芽
MS+BA1.0+NAA0.1	12	75	愈伤组织形成后,又出现许多绿色瘤状突起,后又分化成不定芽
MA+BA1.0+NAA0.5	17	85	愈伤组织形成后,又出现少量绿色瘤状突起,后极少数分化成不定芽

2.2 继代增殖培养。情况详见表4和表5。由表4可以看出,在不定芽的增殖培养过程中,分裂素与生长素缺一不可,并且只有达到一定比例,才能出现理想效果,经过MS+6-BA1.0+NAA0.05培养出的苗子,分化能力强,生长速度快。

表4 生长调节剂种类和浓度对不定芽增殖培养效果的影响 单位: mg/L、块/块

生长激素浓度	接种块数	分化芽数	不定芽生长状况
6-BA1.0+NAA0.01	39	2.4	不定芽畸形,生长萎缩
6-BA1.0+NAA0.05	34	14	不定芽生长健壮,叶色深绿
6-BA2.0+NAA0.2	42	6.5	不定芽长势弱,少数有生根现象
6-BA2.0+NAA0.3	34	13.8	不定芽黄化,生长缓慢
6-BA3.0+NAA0.5	32	7.0	不定芽浅黄色,生长弱
6-BA5.0+NAA0.5	32	10.6	不定芽畸形,不生长

表5 继代次数对不定芽分化的影响 单位: 代、个/块、d

愈伤组织继代次数	分化芽数	分化时间	不定芽生长状况
1	15	25	芽体饱满、健壮,生长快
2	13	24	芽体饱满、健壮,生长快
3	14	24	芽体饱满、健壮,生长快
4	14	23	芽体饱满、健壮,生长快
5	15	25	芽体较饱满,生长势稍弱
6	10	29	芽体小,稍弱,生长慢
7	10	32	芽体小而弱,生长慢
8	6	40	芽体很小,生长迟缓,个别植株变为褐色

由表5可知,龙翅海棠继代培养过程中前5代表现较好,分化率高,分化快,不定芽生长健壮、饱满,颜色纯正;从第6代开始表现出衰退现象,分化缓慢,数量少,不定芽芽体少而弱,生长迟缓,有的分化后不久变为黄褐色,逐渐死亡,个别甚至出现不分化的现象,可见激素的积累效应在龙翅海棠的组织培养过程中表现是明显的。

2.3 生根壮苗培养。

2.3.1 生根前的壮苗培养。情况详见表6。由表6可以看出,继代增殖无菌苗源转接至第6代时,生长势减弱,可进行壮苗培养,通过调节生长调节剂的浓度达到壮苗的目的。实验表明,不含任何生长调节剂的培养基MS₀,对不定芽的生长极为有利,不定芽表现出个体明显高大,叶片增厚,富有光泽,颜色深绿等生长特征。

表6 不同生长调节剂浓度对无菌苗壮苗的影响

生长调节剂浓度组合	不定芽生长状况
对照MS ₀	不分化产生新的不定芽,后来不定芽生长健壮,个体明显长大
6-BA0.1+NAA0.1	分化少量不定芽,不定芽长势弱,产生少量不定根
6-BA0.1+NAA0.5	分化少量不定芽,不定芽长势弱,产生较多不定根,影响苗子生长
6-BA0.1+NAA0.05	不定芽数量较多,黄化,长势弱

2.3.2 基本培养基类型对试管苗生根的影响。情况详见表7。由表7可以看出,在适当的生长调节剂浓度下,采用1/2MS(所有元素减半)的培养基生根快,生根率高,根多而壮,无菌苗生长健壮,叶色正常,而采用大量元素1/4和1/2浓度均不利于龙翅海棠的生根培养,生根率虽然较高,但无菌苗表现出生根缓慢,根系少而弱,长势差甚至停止生长。

表7 基本培养基类型对无菌苗生根的影响 单位: d、%

培养基类型	初始生根时间	生根率	根系生长状况	瓶苗生长状况
1/2MS(所有元素减半)	7	100	须根多	个体明显增大,
1/2MS(大量元素减半)	10	92.6	须根数较少	生长势旺盛
				生长缓慢
1/4MS(大量元素1/4)	13	80.5	须根稀少	叶色发黄,
				个体停止生长

表8 不同生长调节剂配比浓度对无菌苗生根的影响 单位: (%)

生长调节剂浓度组合	生根率	根系生长情况	试管苗长势
NAA0.1	100	根数最多,根系发达	叶片大,颜色深,茎粗壮
6-BA0.2+NAA0.1	15	产生少量不定根,粗而短,	叶片小,茎细弱
6-BA0.2+NAA0.2	30	后期个别有枯死现象	叶片小,发黄,茎细弱
IAA0.1	100	不定根细而弱	叶片较大,颜色稍浅,
		根系丰富,但较弱	生长缓慢
6-BA0.2+IAA0.1	10	个别产生细弱不定根	苗子矮小,生长缓慢
6-BA0.2+IAA0.2	18	产生少量细弱不定根	苗子矮小,生长缓慢

2.3.3 生长调节剂对无菌苗生根的影响。情况详见表8。(下转127页)

售鲜菇,即采收完即可销售。如果遇到销售淡季,可以进行腌渍,可以进行烘干,还可以加工做罐头。

2008年双孢菇的行情,由于国家政策的调控,春节前每kg5元左右,春节后4元左右。虽然价格有些下降,但远远高

于双孢菇的生产成本,菇农还是有很大的利润空间。

综上所述,在冠县发展双孢菇是一项很好的产业,前景非常广阔。

(王 霄编,郑丹丹校)

(上接96页)由表8可以看出,同外植体的脱分化、继代增殖培养阶段一样,生长调节剂类型和浓度同样在该阶段起着至关重要的作用。实验表明,有分裂素的配方生根效果很差,单一生长素生根效果好, NAA优先于IAA, 1/2MS+NAA0.1是最适生根配方。

2.3.4 活性炭对无菌生根苗的影响。情况详见表9。由表9可以看出,活性炭对龙翅海棠的生根培养阶段无促进作用,相反对生根苗的生长有一定的抑制作用,即可能与活性炭的吸附作用有关,它很可能吸附了培养基中的生长调节剂NAA和其他营养物质而导致。

活性炭浓度	生根率	根系生长状况	试管苗生长状况
0 (对照)	100	根系发达, 生长快	叶片大, 颜色深, 茎粗壮
0.2	100	根系较少, 生长慢	叶片小, 颜色浅, 茎较细

2.4 试管苗炼苗移栽。情况详见表10。由表10可以看出, 基质类型的不同对试管苗炼苗的影响甚大, 混合基质炼苗效果好于单一基质, 成活率高, 生根快, 数量多, 苗体健壮。其中泥炭:珍珠岩:蛭石(1:1:1), 炼苗成活率达95%, 是比较理想的基质配方, 该基质具备一定的结构、孔隙度、保水持水能力, 不仅具有一定的透气性, 还提供部分营养物质和微酸性环境条件, 满足龙翅海棠幼苗生长的需求。

基质	实验苗数	成活率	生根状况
泥炭	68	75	较好
泥炭: 珍珠岩 (1: 1)	70	85	较好
泥炭: 珍珠岩: 蛭石 (1: 2: 1)	76	85	好
泥炭: 珍珠岩: 蛭石 (1: 1: 1)	78	95	很好

3 小结与讨论

(1) 在无菌外植体系的建立过程中, 外植体叶片经过消毒后切成1.5cm²左右的含主脉的切块, 叶正面向上放在合适的培养基中诱导效果较好, 且MS+6-BA1.0+NAA0.1, 添加3%蔗糖及0.6%琼脂的培养基是诱导愈伤组织较合适的培养基。

(2) 不定芽的增殖培养必须具备生长素和分裂素, 6-BA1.0+NAA0.05浓度组合效果较好, 生长调节素的累计效应在龙翅海棠的继代培养过程中表现的非常明显, 当继代繁殖到第6代时无菌苗分化生长势减弱。

(3) 在生根前的壮苗培养过程中, 不含任何生长调节物质的培养基MS₀壮苗效果较好; 在壮苗生根培养过程中, 改良的1/2MS(所有元素减半)培养基效果较好, 单一生长素有利于生根培养, 1/2MS+NAA0.1是较为适宜的生根配方; 活性炭在生根阶段具有非常明显的作用, 一般认为活性炭对诱导生根有利, 但在龙翅海棠的生根培养过程中无促进作用, 可能是活性炭吸收了培养基中的生长素所致。

(4) 不同基质炼苗效果有一定差异, 混合基质效果好于单一基质, 无菌苗在泥炭:珍珠岩:蛭石(1:1:1)中炼苗成活率高、生根快、数量多, 苗体健壮, 炼苗成活率达95%。

附: 龙翅海棠组培快繁图片



图1: 初代培养阶段

图2: 继代培养阶段



图3: 壮苗培养阶段

图4: 生根培养阶段

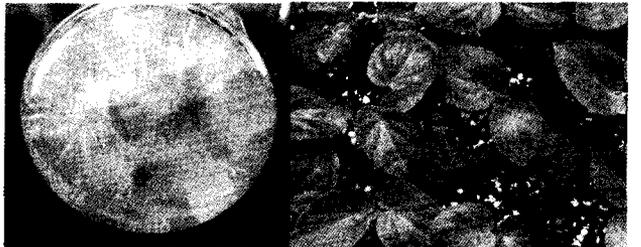


图5: 生根培养阶段

图6: 练苗期



图7: 上盆后的小苗

图8: 初花期

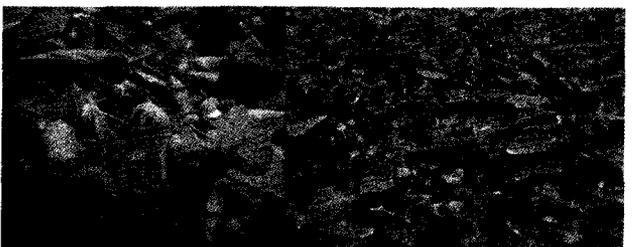


图9: 盛花期

图10: 盛花期

(何贤芳编, 王 霄校)