

丽格海棠巴科斯品系的组培与快繁研究

赵 凤¹,曹永琼²,付宴昆²

(1. 昆明学院 科研处,云南 昆明 650214;2. 昆明学院 实训基地管理委员会,云南 昆明 650214)

摘要:以丽格海棠巴科斯品系叶片为材料,进行外植体的诱导培养、不定芽继代增殖培养、无根苗生根培养等组织培养技术研究,探索其适宜的培养基和培养条件.结果表明:在 MS + BA 1.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L 培养基上丽格海棠叶片诱导不定芽效果最好;在 MS + BA 0.1 mg/L + NAA 0.01 mg/L 培养基上继代增殖效果较好;在 1/2 MS + NAA 0.2 mg/L 培养基生根诱导培养效果较好.苗高 6 cm 可出瓶过渡移栽,并保持 90% 以上的空气湿度,温度为(25±3)℃,成活率最高.

关键词:丽格海棠;组织培养;快速繁殖;外植体

中图分类号:S685.99 **文献标识码:**A **文章编号:**1674-5639(2012)06-0057-03

Study of Tissue Culture and Rapid Propagation of Rigghedan Ba Kos Strains

ZHAO Feng¹, CAO Yong-qiong², FU Yan-kun²

(1. Office of Science Research, Kunming University, Yunnan Kunming 650214, China;

2. Management Committee of Practical Training Base, Kunming University, Yunnan Kunming 650214, China)

Abstract: We take the leaves of Rigghedan Ba Kos strains as materials to conduct tissue culture technology research, including induction culture explanting subculture to adventitious buds, rooting culture to rootless seedling, in order to explore the optimal culture medium and culture condition. The results show that the best effect of induction adventitious buds on Rieger begonias leaves occurred in culture medium as MS + BA 1.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L medium; subculture proliferation effect is better in culture medium as MS + BA 0.1 mg/L + NAA 0.01 mg/L; rooting induction training effect is better in culture medium as 1/2 MS + NAA 0.2 mg/L. As seedling height reaches 6 cm, transplant could be carried. After transplanting, highest survival rate could realize under the condition as maintaining more than 90% air humidity, temperature (25±3)℃.

Key words: Rieger begonia;tissue culture;rapid propagation;explants

丽格海棠(*Begonia elatior hybrids*)属秋海棠科秋海棠属多年生草本植物^[1],是近年来市场上比较流行的花叶俱美的盆栽花卉之一.它是以德国人 Otto Rieger先生名字命名的一个秋海棠杂种群(*elatior and rieger begonia hybrids*),是用冬季开花的索科秋海棠与多种球根类秋海棠杂交得出的一群冬季开花的杂交品种.这些杂交品种结合了索科秋海棠短日开花的特征和球根秋海棠花朵大且色彩丰富的优点,其株形丰满,枝条柔细,长圆肉质;叶型美观,叶翠绿发亮;花型花色极丰富,花品华贵瑰丽,花期长,花形和玫瑰相似,又名玫瑰海棠,具有较高的观赏价值,深受人们喜爱.丽格海棠有 3 个品种系列:1)娜佳品系为半重瓣花;2)巴科斯品系为重瓣花;3)其他品系为部分半重瓣、部分重瓣.丽格海棠可在室内栽培也可以在室外栽培,是很好的盆栽植物,盛花期长,可达到 6~8 周.巴科斯品系被认为最适合室外种植.

丽格海棠通常无种子,一般采用扦插或组织培

养繁殖.扦插繁殖主要以茎插和叶插为主,但繁殖速度慢,而且非常容易烂根,很难满足生产及市场需求^[2].而采用叶片进行组织培养能够快速繁殖出优质的丽格海棠种苗,在很大程度上可以缓解市场需求.因为组培苗具有脱毒、节约材料、繁殖率高、长势均匀、不受季节和环境影响、可周年供应市场及便于运输等优点,且使用组织培养繁殖生产出的种苗质量好、花色纯正、变异率低^[3].为此,本试验拟以叶片为外植体研究丽格海棠巴科斯品系的组织培养方法,旨在建立其快速繁殖的技术体系,为大规模生产丽格海棠巴科斯品系组培苗提供科学参数与试验依据.

1 材料与方法

1.1 材料

丽格海棠巴科斯品系盆栽品种由昆明维生公司引进.

收稿日期:2012-08-12

作者简介:赵凤(1973—),女,云南昆明人,高级讲师,主要从事园林植物组织培养及栽培管理研究.

1.2 外植体灭菌方法

从生长健壮的植株上选取新生嫩叶,用洗衣粉液浸泡 5 min 后漂洗干净,放在瓶中用纱布封口,在流动缓慢的自来水下冲洗 10 min^[4],沥干水后,移入超净工作台,在无菌条件下采用 0.1% 的升汞加吐温 2~3 滴灭菌处理 3~5 min,灭菌剂必须淹没材料,然后用无菌水清洗 3~5 次,每次不少于 3 min.

1.3 培养基和培养条件

采用 MS 为基本培养基,添加不同质量浓度的细胞分裂素和生长素,配制成 7 种诱导、增殖和生根培养基.诱导培养基为:1) MS + BA 1.5 mg/L + NAA 1.0 mg/L;2) MS + BA 1.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L 增殖(继代)培养基;3) MS + BA 0.10 mg/L + NAA 0.01 mg/L;4) MS + BA 0.20 mg/L + NAA 0.01 mg/L;5) MS + BA 0.20 mg/L + NAA 0.05 mg/L;6) MS + BA 0.30 mg/L + NAA 0.05 mg/L 生根培养基;7) 1/2 MS + NAA 0.2 mg/L.除生根培养基中含蔗糖 1.5% (质量分数)外,其余培养基均含蔗糖 3% (质量分数),琼脂 0.6% (质量分数),pH 值为 5.8,培养温度为 (20 ± 3)℃,光照 12 h/d,光强 2 000 ~ 3 000 lx.

1.4 培养步骤

培养材料灭菌后,用无菌滤纸吸干水分,除去边缘部分后,切成 1 cm × 1 cm 左右的小方块接种于诱导培养基 1 和 2 中,培养 33 d 后调查外植体的分化情况,统计其在不同培养基中的出芽率和芽分化率.

随后将诱导培养产生的芽苗切割后转接于培养基 3,4,5,6 中,24 d 后调查其增殖情况,统计增殖系数.在增殖培养的基础上,选择生长健壮且高 6 cm 左右的增殖苗,将其分成单苗接入生根培养基中进行生根培养,15 d 后调查其生根率和根系生长状况.

1.5 过渡移栽

移栽前将生根培养 15 d 的生根苗移至炼苗棚封盖炼苗 3 d 后取出,清洗干净根部琼脂,将根系浸入 0.1% (体积分数)高锰酸钾溶液消毒处理 10 min 后,栽入盛有 *m*(腐叶土):*m*(珍珠岩) = 3:1 湿润基质的育苗盘中,喷 0.2% (体积分数)多菌灵水溶液后,置于小拱棚内盖一层塑料膜保湿,外加盖两层遮荫网.移栽后 1 周内封膜保持 90% 以上的空气湿度,(25 ± 3)℃ 的温度,1 周后逐渐通风,2 周后除去一层遮荫网,逐渐增大光照,进行常规管理.

2 结果与分析

2.1 不同质量浓度的激素组合对诱导叶片分化芽苗的效果

2011 年 4 月将消毒后的外植体接种于诱导培养基 1,2 上,培养 10 d 后均开始形成少量愈伤组织,继续培养至 20 d,开始分化出芽,培养至 30 d,芽伸长至 1 cm 以上.在两种培养基上,外植体的出芽率均为 100%.从出芽指数和芽分化率来看,2 号培养基明显优于 1 号培养基,其出芽指数和芽分化率分别为 2.69 和 269% (见表 1).

表 1 不同质量浓度激素对丽格海棠巴科斯品系叶片诱导芽的效果

培养基编号	接种时间/ (日·月 ⁻¹)	外植体 数/个	调查时间/ (日·月 ⁻¹)	出芽外植 体数/个	出芽率 /%	出芽总 数/株	出芽指数	芽分化 率/%
1	20/4	35	29/5	35	100	70	2.00	200
2	20/4	36	29/5	36	100	95	2.69	269

注:1)出芽率为发生芽的外植体总数的百分数;2)出芽指数 = 出芽总数/出芽外植体数;3)芽分化率 = (出芽外植体数/接种外植体数) × (出芽总数/出芽外植体数) × 100%^[5].

2.2 增殖培养基的选择

将诱导培养的芽苗切割后转入 3~6 号增殖培养基中,培养 24 d 后,调查不同培养基的增殖结果,试验结果见表 2.从表 2 可以看出,3 号培养基的增

殖系数高于 4~6 号培养基,且苗的长势强,叶色翠绿.试验采用 3 号培养基,每隔 25 d 继代 1 次,多次扩繁,均获得了较好的效果,说明 3 号培养基是丽格海棠巴科斯品系增殖培养的最佳培养基.

表 2 不同培养基的增殖培养效果

培养基编号	接种时间/ (日·月 ⁻¹)	调查时间/ (日·月 ⁻¹)	接种芽苗数/株	接种后芽苗数/株	增殖系数/%	增殖苗长势
3	4/6	5/7	21	48	2.29	强
4	4/6	5/7	19	40	2.11	较强
5	4/6	5/7	22	40	1.82	一般
6	4/6	5/7	20	39	1.95	一般

2.3 生根培养效果

将高 3.0 cm 以上的继代苗切下置于 7 号培养基培养. 10 d 后开始生根, 15 d 后调查, 生根率 100%, 单株根数 4~6 根, 根长 0.2~0.3 cm, 且苗生长健壮.

2.4 过渡移栽

移栽后 1 周内保持膜内空气湿度在 90% 以上, 并注意控制基质的水分含量, 防止水分过多烂苗, 成活率可达 95% 以上, 过渡移栽 1 月后即可定植盆栽.

3 小结

研究结果表明, 以叶片为外植体的组织培养是规模化快速繁殖丽格海棠种苗的一种可行途径. 诱导丽格海棠巴科斯品系叶片分化芽苗的最佳培养基为 MS + BA 1.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L + 0.6% 琼脂 + 3% 蔗糖; 增殖培养基阶段选用 MS + BA 0.1 mg/L + NAA 0.01 mg/L + 0.6% 琼脂 + 3% 蔗糖的培养基效果较好, 增殖系数高, 且苗长势强健; 采用 1/2 MS + NAA 0.2 mg/L + 0.6% 琼脂 + 1.5% 蔗糖培养基, 试管苗生根较为容易, 生根率可达 100%. 本试验在生根培养阶段没有采用常规的生根培养基, 而是只加入 NAA 不加入 6-BA, 同样能够很好地诱导不定根的形成. 说明对于激素的使用并非种类越多、质量浓度越高效果越好, 而是只要质量浓度适宜同样可取得很好的生根效果. 潘梅等^[6]的

研究表明, 根的粗壮程度与激素质量浓度的增加并没有规律性的变化; 而生根数和生根率与激素质量浓度呈现出不均匀的变化; 当激素质量浓度超过一定范围, 会形成大量的愈伤组织, 而且根的数量相对稀少, 根的分化效果也不理想, 这一结果与本试验结果有相似之处, 说明生长素的最适质量浓度选择对生根效果的影响非常大^[7]. 试管苗移栽入盛有 m (腐叶土): m (珍珠岩) = 3:1 的基质上, 前期保持 90% 以上的空气湿度, 重点控制好基质的含水量, 避免水分过多引起烂苗, 是提高移栽成活率的关键.

[参考文献]

[1]李春秀,石大兴,王米力. 丽格海棠组织培养外植体再生体系建立关键技术的研究[J]. 四川农业大学学报,2002,20(4):330-333.

[2]司马诺. 让丽格海棠扮靓佳节[J]. 花木盆景,2007(1):10-12.

[3]葛红. 丽格海棠繁殖及种苗繁殖技术[J]. 温室园艺,2005(8):17-27.

[4]李玉英,段鹏慧,张先平. 丽格海棠叶片的组织培养研究[J]. 山西林业科技,2010,39(1):14-15.

[5]熊丽,吴丽芳. 观赏花卉的组织培养与大规模生产[M]. 北京:化学工业出版社,2003:64-65.

[6]潘梅,陈一龙,张生,等. 丽格海棠组织培养的优化[J]. 南方农业,2007,4(1):23-26.

[7]胡燕梅,喻捷,余群娣,等. 丽格海棠叶片离体培养技术研究[J]. 武汉生物工程学院学报,2008,12(4):198-200.



(上接第 56 页)

低, 是否可以将其作为大规模生产 SOD 的原料植物值得进一步探索. 此外, 热变性法试验所用温度(60℃)已逼近植物中 SOD 活性适宜温度的最高值, 但仍显现其较大活性, 原因何在, 尚需进一步探究.

[参考文献]

[1]廖春丽,王福梅,陈兰英,等. 大蒜 SOD 最佳提取条件确定及其生长过程中 SOD 活力变化研究[J]. 中国调味品,2011,2(36):51-53.

[2]孙永君. 大蒜中 SOD 的提取研究[J]. 化学与生物工程,2005(10):23-25.

[3]李永利,张焱. 邻苯三酚自氧化法测定 SOD 活性[J]. 中国卫生检验杂志,2000,10(6):673.

[4]常守宁. 紫草种子 SOD 的分离及部分性质研究[J]. 药物生物技术,1996,3(4):218-220.

[5]王爱国. 大豆种子 SOD 的研究[J]. 植物生理学报,1993,9(1):77-83.

[6]SFAXI I H, FERRARO D, FASANO E, et al. Inhibitory effects of a manganese superoxide dismutase Isolated from garlic (*Allium sativum* L.) on in vitro tumoral cell growth[J]. Biotechnol Prog, 2009, 25(1):257-264.

[7]甘耀坤,黎建玲,黄海婵,等. 几种经济食品超氧化物歧化酶活力的测定[J]. 玉林师范学院学报:自然科学版,2005,26(5):57-59.