

非洲紫罗兰幼嫩叶片离体培养的技术研究

何家涛, 王 会

(湖北襄樊职业技术学院生物工程系, 441021)

摘 要:以非洲紫罗兰幼嫩叶片为外植体,以 MS 为基本培养基,添加不同浓度 BA、NAA、GA 等探讨了外源激素对其愈伤形成、不定芽分化、增殖与不定根形成的影响。试验表明:采用 MS+0.1~2.0 mg/L(单位下同)6-BA+0.01~0.5NAA 培养基,愈伤诱导率在 20%以上;采用 MS+0.1~1.0 6-BA+0.01~0.5NAA+0.1~1.0GA 培养基对芽的生长及增殖效果好,并提出 GA 具提高不定芽长势和成苗率的作用;采用 1/2MS+0.1~0.5NAA 或 0.1IBA 或 0.1~0.5 IAA,20d 内生根率可达 97%以上。在腐叶土:珍珠岩=5:3 的基质中驯苗,成活率可达 90%以上。

关键词:非洲紫罗兰;幼嫩叶片;组织培养

中图分类号:S 681.203.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2007)01-0157-02

非洲紫罗兰(*Sanitpaulia io nantha wendl*)为苦苣苔科多年生草本花卉。全株有毛,叶基部簇生,圆形或卵圆形,叶背面带紫色,花 1~6 朵簇生,花色艳丽,有兰、白、粉红等色,花期 2~3 月,较耐阴,株型小而美观,原产非洲,品种繁多,现世界各地广泛栽培,被誉为“室内花卉皇后”,极具市场开发前景。但其在自然条件下种子不易形成,常规繁殖方式是分株和叶插法两种,繁殖系数低,难于满足生产需求^[1]。因此,组织培养为非洲紫罗兰的重要繁殖途径,可在短期内生产大量优良种苗。我们于 2001 年 4 月开始在前人^[1-4]对非洲紫罗兰大量研究的基础上,对引进的非洲紫罗兰品种进一步进行了组培技术的系统研究,现已实现工厂化育苗和商业化生产。

1 材料与方法

1.1 材料

从生长健壮的非洲紫罗兰植株上采直径 1.0~1.5 cm 的幼嫩叶片作外植体。取样非洲紫罗兰品种引自美国泛美种子公司。

1.2 方法

1.2.1 外植体表面灭菌 将幼叶用饱和洗涤液浸泡 5~10 min,用自来水冲洗 10~15 min,除去表面污物,然后在无菌状态下用 70%酒精浸泡 20s,无菌水冲洗一次,再用 0.1%AgCl₂ 浸泡 5~6 min,最后用无菌水冲洗 4~5 次,每次 1~2 min,滤干水分,以备接种。

1.2.2 培养基与培养条件 以 MS 为基本培养基,附加两种不同浓度的激素 6-BA (0.1、0.5、1.0、2.0、3.0)和 NAA (0.01、0.1、0.5、1.0),共 20 个不同浓度水平的组合进行愈伤组织的诱导,并用上述双因子组合共 11 个处理,进行不定芽诱导和增殖培养;以 1/2MS(矿质元素减半)为基本培养基,附加激素 NAA (0.1、0.5、1.0)、IBA (0.1、0.5、1.0)、IAA (0.1、0.5、1.0)并以 1/2MS 为对照,共 10 个处理进行不定根分化培养。以上愈伤诱导、不定芽分化与增殖培养基中均附加 3.0%蔗糖,生根培养基中均附加 2.0%蔗糖,其它琼脂 0.7%,pH5.8~6.2。培养条件:温度(24±1)℃,光照 1 500 lx~2000 lx,光照时间:12h/d。

2 结果与分析

2.1 两种激素不同水平组合对叶片外植体愈伤组织与不定芽分化的影响

表 1 两种激素水平组合对非洲紫罗兰叶片外植体愈伤组织与不定芽分化的影响

NAA(mg/L)	6-BA(mg/L)				
	0.1	0.5	1.0	2.0	3.0
0.01	24.0	27.6	34.0	29.0	15.6
0.1	26.5	37.4	36.0	34.0	18.0
0.5	16.0	24.5	25.0	27.5	9.4
1.0	6.0	10.5	12.5	9.5	4.0

*表中数据分化率=分化出愈伤与不定芽的外植体/接种外植体总数×100

*表中分化率为各处理外植体培养 50d 的平均值

在无菌条件下,将经表面灭菌的嫩叶切成 3~5 mm 的小方块,接种于上述分化培养基中,并将叶片腹面向上放置。接种 7~10 d 后,部分培养基上的叶片从切口处开始膨大,15~20 d 后,叶片表面出现皱褶,切口产生少量愈伤组织,并出现绿色小芽点,40~50 d 后,小芽点长成大量丛芽。不同的激素水平组合对愈伤组织与不定芽的诱导有不同的效果,在愈伤与不定芽分化上存在较大差异。外



第一作者简介:何家涛,男,1965 年生,襄樊职业技术学院副教授,主要从事园艺与生物技术教学、研究与应用推广,曾主持三项襄樊市政府资助科技攻关项目,参与两项湖北省科技厅资助的重大科技攻关项目,已发表研究论文 40 余篇。

基金项目:名优花卉组培快繁技术研究,编号:襄科技[2001]6 号

收稿日期:2006-08-06

源激素以 6-BA 0.1~2.0 和 NAA 0.01~0.5 组合(表 1) 叶片外植体愈伤组织与不定芽诱导率较高。

2.2 两种激素不同水平组合对不定芽增殖率和成苗率的影响

将愈伤组织切成 3~5 mm 的小方块接种于愈伤分化率高于 20% 的两种激素不同水平组合的培养基中进行继代增殖培养, 培养周期为 30 d。试验结果(表 2)表明: 随着 6-BA 浓度的提高, 叶片外植体切口的芽点数增多, 增殖率有提高的趋势, 但 6-BA 浓度高(6-BA>1.0) 时不定芽多呈芽点状, 继代培养后期, 叶片增厚、卷曲、叶黄绿、苗畸形, 成苗率有下降趋势。而且随着继代次数的增加, 部分芽上分化的叶呈水渍状, 出现玻璃化现象。6-BA 浓度较低(6-BA 0.5~1.0) 时, 叶片开展, 叶柄长度适中, 顶芽与侧芽同步生长, 株形紧凑, 成苗率较高。6-BA 浓度低(6-BA<0.5), 丛芽不明显, 但成苗率高。而 NAA 浓度较高水平(NAA>0.5), 对不定芽分化产生抑制效应, 以较低浓度较适宜。从增殖率、成苗率、试管苗的质量等方面综合考评, 非洲紫罗兰最适宜的增殖培养基为 MS+0.1~1.0BA+0.01~0.5NAA。非洲紫罗兰因增殖率高, 丛芽密集, 在继代增殖中分割易损坏不定芽。试验中发现在增殖培养基 MS+0.1~1.0BA+0.01~0.5NAA 中附加 0.1~1.0GA, 可使丛芽较稀疏, 有利继代增殖中的分割, 且对增殖率影响不大, 对芽的长势具促进作用。

表 2 两种激素不同水平组合对非洲紫罗兰不定芽增殖率与成苗率的影响

激素组合	外植体块数(个)	增殖率	成苗率
0.16-BA-0.01NAA	20	+	+
0.16-BA-0.1NAA	24	+	++
0.56-BA-0.01NAA	18	---	++
0.56-BA-0.1NAA	26	---	++
0.56-BA-0.5NAA	16	+	+
1.06-BA-0.01NAA	19	---	++
1.06-BA-0.1NAA	22	---	++
1.06-BA-0.5NAA	16	---	++
2.06-BA-0.01NAA	19	++	+
2.06-BA-0.1NAA	16	+	+
2.06-BA-0.5NAA	21	+	+

注: 表中各级增殖率为继代培养 30d 后不定芽总数/外植体块数; 成苗率为成苗数/分化芽点数×100%。“+”表示增殖率 10 倍以下, 成苗率 80% 以上; “++”表示增殖率 10~15 倍间, 成苗率 80%~85% 间; “+++”表示增殖率 15 倍以上, 成苗率 80% 以下。

2.3 不同激素种类与水平对不定根分化的影响

将 3~4 cm 高的增殖苗, 切成单芽, 接种于诱导生根的培养基中, 每处理接种 25 瓶, 每瓶接种 5 株。培养 5~10 d, 部分处理中形成小须根突起, 连续培养 20 d 后, 随机调查统计生根率及须根生长情况(表 3)。试验结果表明: 非洲紫罗兰较易生根, 在 1/2MS 中附加 0.1~0.5 NAA 或 0.1IBA 或 0.1~0.5IAA 生根率均较高, 且根生长健壮, 自然匀称。

表 3 不同激素种类与水平对非洲紫罗兰不定生根分化的影响

激素种类与水平	调查株	生根率(%)	单株根数(个/株)	根生长状况
0.1NAA	40	100	+++	长势旺, 生长健壮
0.5NAA	36	97.2	++	生长健壮
1.0NAA	35	85.7	+	长势弱
0.1IBA	34	97.0	++	生长健壮
0.5IBA	37	89.2	+	弱
1.0IBA	36	77.8	+	长势弱
0.1IAA	34	100	+++	长势旺, 生长健壮
0.5IAA	40	97.5	++	生长健壮
1.0IAA	40	87.5	+	弱
1/2MS(CK)	40	65.0	+	长势弱

注: “+”表示根量少; “++”表示根量较多; “+++”表示根量多。

2.4 试管苗的驯化与移栽

将其 4~5 片叶试管苗根上的培养基洗净, 基部用 800~1 000 倍百菌清浸泡 1~2 min, 栽植于腐叶土:珍珠岩 5:3 的基质中, 移至训苗室中, 一周内, 采取适度降温, 增加环境相对湿度、遮阳等措施调控环境条件, 并逐步向自然条件过渡, 同时, 每 5~7 d 喷一次 800~1 000 倍多菌灵, 以防病菌滋生, 15~20 d 后始喷 0.1% 尿素和磷酸二氢液或稀释的完全营养液, 7~10 d 一次, 以补充营养, 驯苗成活率可达 90% 以上。

3 小结

利用组织培养技术对非洲紫罗兰进行快繁, 可为市场提供大量优质种苗, 从而有利良种引进与繁育。本试验研究结果表明: 非洲紫罗兰以嫩叶为外植体, 愈伤组织与不定芽分化适宜培养基为 MS+0.1~2.06-BA+0.01~0.5NAA, 分化率在 20% 以上, 继代增殖适宜培养基为 MS+0.1~1.06-BA+0.01~0.5NAA+0.1~1.0GA, 增殖率与成苗率均较高, 试管苗质量好。GA 具提高不定芽长势与成苗率的作用, 诱导生根适宜培养基为 1/2MS+0.1~0.5 NAA 或 0.1IBA 或 0.1~0.5IAA, 生根率可达 97% 以上, 根生长势旺、健壮。在腐叶土:珍珠岩=5:3 的基质中驯苗, 成活率可达 90% 以上。

参考文献:

- [1] 李宪章. 非洲紫罗兰与紫罗兰[J]. 中国花卉盆景, 2000(10): 4-5.
- [2] 李惠芝, 潘景丽, 冯惠平. 外源激素对非洲紫罗兰叶分化芽的影响[J]. 河北植物学报, 1989, 9(4): 217-223.
- [3] 刘本叶. 非洲紫罗兰体细胞胚胎发生过程中生化变化的研究[J]. 东北农业大学学报, 1995, 26(3): 267-272.
- [4] 赵光兵, 张亦峰, 李天恩. 非洲紫罗兰组织培养与工厂化快繁程序的研究[J]. 信阳师范学院学报, 1999, 12(1): 109-111.
- [5] 蒋林, 郑迎冬, 陈国华, 等. 非洲紫罗兰和花叶半的组织培养和快速繁殖[J]. 仲恺农业技术学院学报, 2000, 13(1): 27-31.
- [6] 吴丽芳. 非洲紫罗兰组织快繁技术[J]. 云南农业科技, 2001(2): 19-20.
- [7] 纪绍辉. 非洲紫罗兰组织培养与快速繁殖初探[J]. 吉林林业科技, 2003, 32(4): 7-8.
- [8] 吕复兵, 朱根发, 廖飞雄, 等. 非洲紫罗兰组织培养工厂化育苗若干影响因素研究[J]. 广东农业科学, 2004(13): 30-31.