

新几内亚凤仙的组织培养

韩 颖, 刘忠智

(辽宁省朝阳农业学校 辽宁 朝阳 122000)

摘 要: 新几内亚凤仙为凤仙花科凤仙花属多年生常绿草本植物。试验对新几内亚凤仙的组织培养进行了研究。结果表明: 新几内亚凤仙繁殖采用组织培养具有变异几率小、花大、繁殖速度快等特点。新几内亚凤仙最好选择春季接种, 可以减少杂菌污染。试验利用多组培养基配方进行组织培养试验, 筛选出适合新几内亚凤仙的培养基: 诱导培养基 MS+BA 2.5, 增殖培养基 MS+BA 2.5+NAA 2.5, 生根培养基 MS+NAA 2.0。新几内亚凤仙在 MS+BA 2.5+NAA 2.5 上进行培养, 增殖系数可达 4~5; 在生根培养基 MS+NAA 2.0 上进行培养, 10 d 后的生根率可达 67.5%。新几内亚凤仙组培苗移栽易于成活。以素砂为基质, 驯化后移栽, 成活率达 95.2%。

关键词: 新几内亚凤仙; 组织培养; 培养基

中图分类号: S 681.103.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2007)12-0211-03

新几内亚凤仙(*Impatiens Platyptala*)又名霍克凤仙, 是凤仙家族中的一个新种。原产于非洲南部和澳洲的新几内亚岛, 为凤仙花科, 凤仙花属多年生常绿草本植物^[1]。新几内亚凤仙于近几年引入我国, 作为一种草花新秀, 因其具有漂亮的花朵, 丰富的色彩独特的叶色、叶形以及极长的花期和较强的适应性而具有着广阔的市场前景^[2]。国外学者对新几内亚凤仙的变异性、育种选择和生长等方面进行了较多的研究, 而在组织培养方面的报道较少。我国学者曾前、熊丽等对新几内亚凤仙的组织培养和快速繁殖进行了初步试验, 取得了较好的结果^[3,4]。

试验在前人研究的基础上, 利用多组培养基配方进行组织培养试验, 找出最适合新几内亚凤仙组织培养所需的激素种类和水平及培养基。

1 材料和方法

试验在沈阳农业大学花卉基地和组织培养实验室中进行。

1.1 供试材料

新几内亚凤仙当年生的新发幼茎。

1.2 供试药品

生长素: 吲哚乙酸(IAA)、吲哚丁酸(IBA)、萘乙酸(NAA)、2,4-二氯苯氧乙酸(2,4-D); 细胞分裂素: 激动素(KT)、6-苄氨基嘌呤(6-BA)。70%的酒精及 0.1%的升汞。

1.3 试验方法

1.3.1 取材方法 2002 年 3 月从花卉棚内选取健康无病虫害的盆栽植株移入温室, 杀菌剂喷洒处理, 一周后选取外植体。

1.3.2 培养基设计 以培养基 MS(每 500 mL 中琼脂 3.5 g, 蔗糖 15 g, 蒸馏水 500 mL)为对照, 以 MS+BA 1.0、2.5、5.0; MS+KT 1.0、2.5、5.0 做 6 组培养基, 筛选适合的细胞分裂素及诱导培养基。以 MS+BA 1.0、2.5+IAA 0.5、1.0、2.5; MS+BA 1.0、2.5+IBA 0.5、1.0、2.5; MS+BA 1.0、2.5+NAA 0.5、1.0、2.5; MS+BA 1.0、2.5+2,4-D 0.5、1.0、2.5 做 24 种培养基, 筛选适合的生长素及增殖培养基。以培养基 MS 为对照, 以 MS+NAA 1.0、2.0、3.0 做 3 种培养基, 筛选出适合的生根培养基。

1.3.3 试验程序 试材消毒: 选取长约 2 cm 的茎尖或细嫩的茎段剪下, 剪去大叶自来水冲洗 30 min, 在无菌条件下, 70%的酒精浸泡 30~60 s, 再用 0.1%的升汞溶液加 1~2 滴吐温 20 消毒 8~10 min(必要时: 用 3%的次氯酸钠溶液进行消毒灭菌 10 min), 无菌水冲洗 4~5 次, 无菌滤纸将外植体表面水分吸干。接种和初代培养: 将经消毒的外植体接种到诱导培养基 MS+BA 1.0、2.5、5.0; MS+KT 1.0、2.5、5.0 中, 每瓶培养基接种 3 个外植体, 每组培养基 10 瓶。1 周后, 茎尖开始生长, 少数外植体基部开始膨大, 并产生愈伤组织; 1 个月后, 外植体在原茎尖生长的同时, 侧芽萌发, 并从基部愈伤组织分化形成大量的丛生芽, 此后的发育主要是愈伤组织的继续形成及丛生芽数量的增加; 当诱导的丛生芽变的扁大而变异时, 可将丛生芽分割成小块后转入诱导培养基。继代增殖和生根培养: 将分割成小块的丛生芽接种到培养基

第一作者简介: 韩颖(1981-), 女, 辽宁省朝阳农业学校教师, 从事园林植物栽培的教学和科研工作。E-mail: hanying0104@163.com。

收稿日期: 2007-07-25

MS+BA 1.0、2.5+IAA 0.5、1.0、2.5; MS+BA 1.0、2.5+IBA0.5、1.0、2.5; MS+BA 1.0、2.5+NAA 0.5、1.0、2.5; MS+BA 1.0、2.5+2,4-D 0.5、1.0、2.5 中,使丛生芽长高长粗壮。每种接种 7 个,每组培养基 10 瓶。增殖培养基可以和诱导培养基交替使用,使繁殖系数达到最高,并且使生长出来的丛生芽质量更好,芽更粗壮。1 个月后,将分化形成的丛生芽分割成小丛或单株转接到新鲜的增殖培养基中,当繁殖系数达到所要求时,可将带茎尖的 1~1.5 cm 长的小苗转入生根培养基。练苗和移栽培养:试管苗生根培养 15~20 d 后,即可移到室外进行练苗移栽。先将瓶口打开小缝,在有散射光的室内锻炼 1~2 d,再去除封口膜锻炼 1 d。然后用镊子将根长约为 1 cm,株高 2~3 cm 的完整植株从培养基中取出,经清洗去掉根部粘连的培养基。用 1 000 倍的多菌灵溶液浸泡 2 min 后移至素砂床中。移栽前基质要浇透水,移栽后搭小拱棚,覆膜,并扣遮阳网。采用间隔喷雾法,保持温度为 26℃左右,湿度为 90%~95%。1~2 周后,可将相对湿度降至 70%~80%;15 d 后可移植到营养钵中。钵内基质可按泥炭:砂:园土=3:1:1 的比例混合配制。

1.4 试验处理及调查项目

1.4.1 取材时间的选择 分别在 2002 年 3 月、6 月、9 月取材,接种在同一培养基上。接种芽数均为 30 个,均采用 0.1%的升汞消毒 10 min,接种 5~10 d 调查污染率。评价指标如下:

污染率(%)= 污染茎尖个数/ 接种茎尖个数× 100。

1.4.2 最适合组织培养的细胞分裂素 茎尖萌发的基本培养基均为 MS,添加激素的种类和浓度见表 1,接种时间为 2002 年 3 月,接种 20 d 后调查。统计萌发的茎尖数,评价指标如下:

萌芽率(%)= 萌发的茎尖个数/ 接种茎尖个数× 100。

表 1 茎尖萌发效果试验因素和水平

激素种类	激素浓度/ mg · mL ⁻¹		
BA	1.0	2.5	5.0
KT	1.0	2.5	5.0

表 2 增殖效果试验因素和水平

激素种类	激素浓度/ mg · mL ⁻¹		
BA	0.5	1.0	2.5
IAA	0.5	1.0	2.5
IBA	0.5	1.0	2.5
NAA	0.5	1.0	2.5
2,4-D	0.5	1.0	2.5

1.4.3 不同生长调节剂水平的增殖效果 试验研究了 IAA、IBA、NAA、2,4-D 不同浓度的组合对于新几内亚凤仙增殖效果的影响,生长调节剂种类和浓度(见表 2)。接种 1 个月后调查增殖株数。试验时间为初代培养建立后 2 个月,比较不同处理的增殖系数:

增殖系数(%)= 转瓶后的茎段数/ 转瓶前的茎段数× 100。

1.4.4 不同生长调节剂水平的生根效果 试验研究了 NAA 在浓度为 1.0、2.0、3.0 时,对新几内亚凤仙生根的影响(标准为移入生根培养基 10 d 后)。

1.4.5 生根试管苗移栽成活率 试管苗在瓶内生根后 20 d 左右,练苗并移栽。试验时间为 2002 年 9 月,移栽后 15 d 调查成活率:

成活率(%)= 成活株数/ 移栽株数× 100。

2 结果和分析

2.1 不同的取材时间对组培污染的影响

在无菌体系建立过程中,外植体的选择十分重要。试验分别于 2002 年 3 月、6 月、9 月 3 个时期取材,研究对比了不同取材时期对组培污染的影响,均采用 0.1%的升汞消毒 10 min(见表 3)。从表 3 可以看出,6 月份接种的污染率最高为 53.3%,而 3 月和 9 月份相对污染较轻。这可能是因为 6 月份气温偏高,棚内和实验室内的杂菌都较多的原因。所以,试验认为新几内亚凤仙的组织培养在春季的接种效果较好。

表 3 不同取材时期对新几内亚凤仙茎尖培养污染的影响

接种时期	3月	6月	9月
接种芽数	30	30	30
污染芽数	6	16	10
污染率/ %	20.0	53.3	33.3

注:培养基均为 MS+BA 2.5。

2.2 茎尖组培中细胞分裂素类对萌发的影响

表 4 列出了使用 BA 和使用 KT 的培养基对新几内亚凤仙接种效果的影响。可以看出 BA 组中以 BA 2.5、BA 5.0 的萌发情况最好,KT 组中 KT 5.0 的萌发情况最好。但是使用 BA 2.5 与使用 KT 5.0 相比较,BA 2.5 的萌发效果好于 KT 5.0。所以,适于新几内亚凤仙进行组织培养的细胞分裂素是 BA,适合的诱导培养基是 MS+BA 2.5。

表 4 不同细胞分裂素对新几内亚凤仙茎尖萌发的影响

序号	培养基/ mg · mL ⁻¹	接种数	萌发数	萌发率/ %
CK	MS	30	16	53.3
1	MS+KT 1.0	30	20	66.7
2	MS+KT 2.5	30	22	73.3
3	MS+KT 5.0	30	26	86.7
4	MS+BA 1.0	30	23	76.7
5	MS+BA 2.5	30	26	86.7
6	MS+BA 5.0	30	26	86.7

2.3 不同生长调节剂水平对增殖的影响

由表 5 可以看出,使用 NAA 和使用 IAA 培养基其增殖系数都比较高。但是经过多次试验,从整体效果来讲,IAA 的使用效果不稳定。这是因为 IAA 本身不稳定。在培养基的灭菌过程中,由于温度过高,IAA 易分解,所以弃用 IAA,选择使用 NAA。在新几内亚凤仙的

增殖培养中,使用培养基 MS+BA 2.5+NAA 2.5 的增殖系数最高,可达到 4.9,所以选择该种培养基作为增殖培养基。

表 5 不同激素水平对新几内亚凤仙增殖的影响

序号	培养基/mg · mL ⁻¹	接种数	增殖后株数	增殖系数
1	MS+BA 1.0+IAA 0.5	70	298	4.3
2	MS+BA 1.0+IAA 1.0	70	275	3.9
3	MS+BA 1.0+IAA 2.5	70	325	4.7
4	MS+BA 1.0+IBA 0.5	70	275	3.9
5	MS+BA 1.0+IBA 1.0	70	289	4.1
6	MS+BA 1.0+IBA 2.5	70	309	4.4
7	MS+BA 1.0+NAA 0.5	70	285	4.1
8	MS+BA 1.0+NAA 1.0	70	300	4.3
9	MS+BA 1.0+NAA 2.5	70	313	4.5
10	MS+BA 1.0+2-4-D 0.5	70	290	4.1
11	MS+BA 1.0+2-4-D 1.0	70	294	4.2
12	MS+BA 1.0+2-4-D 2.5	70	309	4.4
13	MS+BA 2.5+IAA 0.5	70	300	4.3
14	MS+BA 2.5+IAA 1.0	70	274	3.9
15	MS+BA 2.5+IAA 2.5	70	345	4.9
16	MS+BA 2.5+IBA 0.5	70	290	4.1
17	MS+BA 2.5+IBA 1.0	70	314	4.5
18	MS+BA 2.5+IBA 2.5	70	315	4.5
19	MS+BA 2.5+NAA 0.5	70	298	4.3
20	MS+BA 2.5+NAA 1.0	70	321	4.6
21	MS+BA 2.5+NAA 2.5	70	344	4.9
22	MS+BA 2.5+2-4-D 0.5	70	301	4.3
23	MS+BA 2.5+2-4-D 1.0	70	312	4.5
24	MS+BA 2.5+2-4-D 2.5	70	318	4.5

2.4 不同生长调节剂水平对生根的影响

试管苗移入生根培养基 10 d 后,其生根率见表 6。从表 6 中可以看出,向 MS 中添加 NAA 以后,有效提高了新几内亚凤仙的生根率。使用 NAA 1.0 时的生根率为 55.5%,比对照提高了 5.5%;使用 NAA 2.0 时的生根率为 67.5%,比对照提高了 17.5%;使用 NAA3.0 时的生根率为 66.5%,比对照提高了 16.5%。由于新几内亚凤仙本身易于生根,并且 NAA 浓度过高时,生根率反而下降。因此,试验认为,适合新几内亚凤仙的生根培养基是 MS+NAA 2.0。

表 6 NAA 不同浓度对新几内亚凤仙生根的影响

序号	NAA/mg · mL ⁻¹	生根率/%
MS	0	50.0
1	1.0	55.5
2	2.0	67.5
3	3.0	66.5

2.5 生根试管苗移栽成活率

新几内亚凤仙试管苗下地移栽成活率较高,平均成活率达 95.2%(表 7)。

表 7 新几内亚凤仙试管苗移栽成活率

序号	下地株数	成活株数	成活率/%
1	70	66	94.3
2	70	67	95.7
3	70	67	95.7

3 结论和讨论

试验对新几内亚凤仙的离体繁殖进行了初步的研究,从外植体的选择到组培苗的下地做了一系列的试验。

3.1 接种与增殖

试验筛选出适于新几内亚凤仙进行组培繁殖的诱导培养基 MS+BA 2.5 和增殖培养基 MS+BA 2.5+NAA 2.5。

研究认为最适于新几内亚凤仙接种的时期为春季 3、4 月份,此时杂菌相对较少,接种后污染较轻,茎尖萌发率高。

由于新几内亚凤仙侧枝的萌发能力不强,以茎段增殖为主,又极易长根,所以在不玻璃化的前提下,可适当提高 BA 的浓度,培养环境温度也可以调整的高一些,光强也可以适当强一些,但要避免阳光直接照射到组培苗上。由于新几内亚凤仙组培苗的生长周期为 1 个月,封口膜最好用不透气的膜,否则培养基容易变干,对组培苗的生长不利。组培条件管理得当,新几内亚凤仙的增殖系数可以达到 4~5 倍。

3.2 生根和移栽

试验筛选出了适于新几内亚凤仙生根的培养基 MS+NAA 2.0。生根对于新几内亚凤仙来说不是问题,新几内亚凤仙组培繁殖后期需要注意的是组培苗驯化阶段的管理。此阶段应该注意出瓶的组培苗根长要适中,避免根过长,否则操作中容易伤根;种植前,将受污染的小苗剔除;种后相对湿度应保持在 90%~95%之间,随后逐渐降低湿度,防止腐烂死苗;并使小苗逐渐适应自然环境;小苗移栽后,极易受病菌侵染,要及时用药剂进行防治和加强水肥管理。

参考文献

[1] 叶剑秋. 凤仙花—春夏季节理想的居住盆花[J]. 园林, 2000(3): 14-15.
[2] 陈延. 来自异国的花卉明星—新几内亚凤仙[J]. 中国花卉盆景, 2000(3): 4-5.
[3] 曾前. 新几内亚凤仙的组织培养和快速繁殖[J]. 中国林副特产, 2002(1): 12-14.

配制农药都应注意啥

- 1 要严格掌握药剂的加水倍数。每种农药都有一定的使用浓度范围,加水过多,影响药剂;加水不足,不但浪费农药,还会引起药害,尤其是高效农药,更应严格掌握使用浓度。
- 2 注意选择水的质量。配制药剂的用水应该用清水,如河水、塘水以及井水,不要用脏水、污水和苦井水。脏水、污水里杂质多,配制农药液容易堵塞喷头,同时还会影响药剂的效果。在没有清水的情况下,只能使用苦水、硬水时,应选在水中加些碱面(每 50 kg 加 0.1 kg 碱面),使水里的矿物质沉淀。
- 3 注意加水方法。可湿性粉剂、乳剂或其它可以溶在水里的农药,再加入大量水之前应先加少量水,配好母液,然后按照所需要的浓度加足水量。这样可以相对提高可湿性粉剂的悬浮率和乳剂的稳定性,对可溶于水的药剂也便于搅拌,促使其均匀溶解。