

大岩桐叶片组织培养及其组织学观察

任如意¹, 赵金良², 宗宪春¹, 张晓军¹

(1. 牡丹江师范学院 生物系, 黑龙江 牡丹江 157012; 2. 烟台大学 体育学院 山东 烟台 264005)

摘要: 大岩桐盆栽植株叶片进行培养, 成功获得了再生植株, 对其组织培养过程的组织学观察, 表明 MS 培养基上附加不同浓度的 NAA 和 BA 对愈伤组织的形成影响不大, 但对不定芽的分化有较大影响, 得出最佳培养基组合为 MS+BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L。山沙+土 (1:1) 可促进小苗后期生长, 加速成苗。

关键词: 大岩桐; 组织培养; 快繁; 愈伤组织; 组织学观察

中图分类号: S 682.2⁺ 9; S 603.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2008)06-0183-03

大岩桐 (*Sinningia speciosa*), 为苦苣苔科多年生盆栽球根花卉, 花大而艳丽, 是室内美化环境的主要栽培花卉。大岩桐的繁殖主要靠种子和叶扦插, 而种子得之不易, 需要人工辅助授粉, 费时费力, 得到的种子多半不育; 叶扦插得苗, 时间长 (从扦插到苗到开花得一年以上), 繁殖指数低, 容易携带病菌。兰芹英^[1] 等用组培的方法得到了再生植株。为了充分利用黑龙江省的花卉大棚, 不再从外省市大量购置大岩桐幼苗, 降低成本。作者对大岩桐组培苗再生条件和快繁进行了细致的探索, 获得了成功, 并首次对大岩桐组织培养的器官发生进行了组织学观察。可为大岩桐的快繁和遗传转化提供组织学的基本资料。

1 材料与方法

1.1 材料

大岩桐购于牡丹江花市。

1.2 方法

取盆栽重瓣大岩桐的幼嫩叶片, 经常规灭菌后, 在 0.7% PVP 水溶液中将叶片剪成 0.5 cm×0.5 cm 的小块, 用无菌的滤纸条吸干液体, 接种于培养基上。暗培养 20 d 左右, 愈伤组织出现, 继代培养, 出现芽点后, 仍然转入同一培养基中, 待苗长至 2~3 cm 时, 将苗切下转入生根培养基中。

基本培养基用 MS, 附加 6-BA 及 NAA 或 2,4-D (用量见表 1), 琼脂 4 g/L, 白糖 30 g/L^[23], pH 5.8。生根培养基为 MS 大量元素减半, 附加 NAA 或 IBA, 琼脂 4 g/L, 白糖 30 g/L^[23], pH 5.8。

培养条件: 光强 1 500~2 500 lx, 光周期 16 h, 温度

25~27℃。

幼苗种植基质为: (1) 山沙: 土=1:1 (2) 珍珠岩: 土=1:1 (3) 蛭石: 珍珠岩=1:1。

1.3 组织学观察

取不同培养时间和不同培养基上的组织块, 经固定液固定, 石蜡包埋, 制成石蜡切片, 置于显微镜下观察器官发生的组织学过程^[4], 选典型结构显微照相, 进行结果分析。

2 结果与分析

2.1 诱导培养阶段

外植体接种到诱导培养基上, 暗培养 (25℃) 15 d 左右, 叶片开始卷曲, 20~25 d 左右叶片膨大, 形成突起。将暗培养 25 d 左右的组织块转至光下, 光周期 16 h, 突起增多增大, 形成愈伤组织。对愈伤组织进行组织学观察, 由附图 1~5、7、8 可看出, 细胞已启动、脱分化, 出现了具有分生组织特性的细胞。

通过组织切片观察到, 在愈伤组织近表面, 出现生长点, 且是不同步的, 见附图 6、9, 生长点的下方, 形成维管系统, 是不定芽的特征, 这表明芽原点发生于愈伤组织的表面或近表面。

培养时间长的黄褐色的愈伤组织块 (继代不及时造成的) 组织切片观察, 见附图 10~15 根原基出现的多, 芽原基很少。

在继代培养基上再培养 30 d 左右, 小芽长势茂盛, 幼叶展开。但 5、6 号培养出现玻璃化现象, 说明是激素浓度过高造成的。

2.2 快繁

将得到的小芽切下, 置于继代培养基中, 可产生无限制的丛生芽, 以后扩大繁殖可不再用叶片, 而直接转移切割下的芽即可。快繁速度较重新接种快一倍的时间之多。

第一作者简介: 任如意 (1968-), 女, 博士, 副教授, 主要研究方向为遗传学。E-mail: mdjrry@126.com

收稿日期: 2008-02-09

2.3 生根

将切下的小芽置于不同的生根培养基上,见表2。从表2中可以看出,NAA和IBA的生根作用没有区别,可依据个人的喜好来选择;但其浓度不应过低,否则出现芽殖。

2.4 苗的锻炼及移栽

将培养基中已生根的苗(生根至少5根,并形成小球茎)打开封口膜,练2d苗,然后将苗从瓶中取出,用清水冲净培养基,栽入松软的沙土中,用塑料布覆盖,以便保湿及透光,5~7d可撤掉塑料布,2~3d喷水1次,即可成活,苗成活率在97%以上。3~5个月即可开花。

表1 不同浓度激素对大岩桐叶片不定芽发生的影响

编号	培养基 /mg·L ⁻¹	培养 时间/d	不定芽发生情况
1	MS+6-BA 2+NAA 0.3	20	叶片膨大,突起多
		40	出现愈伤组织,镜下检出大量的芽原基
		60	有芽出现,芽的数目很多
2	MS+6-BA 2+2.4-D 0.3	20	叶片膨大,突起少
		40	出现愈伤组织,镜下检出少量的芽原基
		60	根及芽都出现,芽的数目少
3	MS+6-BA 1+NAA 0.05	20	叶片膨大,突起少
		40	出现突起,形成愈伤组织,芽原基数目少
		60	有芽出现,芽的数目不多
4	MS+6-BA 1+2.4-D 0.05	20	叶片膨大,突起少
		40	出现愈伤组织,镜下检出少量的芽原基
		60	根及芽都出现,芽的数目少
5	MS+6-BA 3+NAA 0.2	20	叶片膨大,突起多
		40	出现愈伤组织,芽原基数目较多,出现玻璃化
		60	有芽出现,芽的数目较多,但玻璃化
6	MS+6-BA 3+2.4-D 0.2	20	叶片膨大,突起少
		40	出现愈伤组织,镜下检出少量的芽原基,出现玻璃化
		60	根及芽都出现,芽的数目少,但玻璃化

表2 生根培养结果

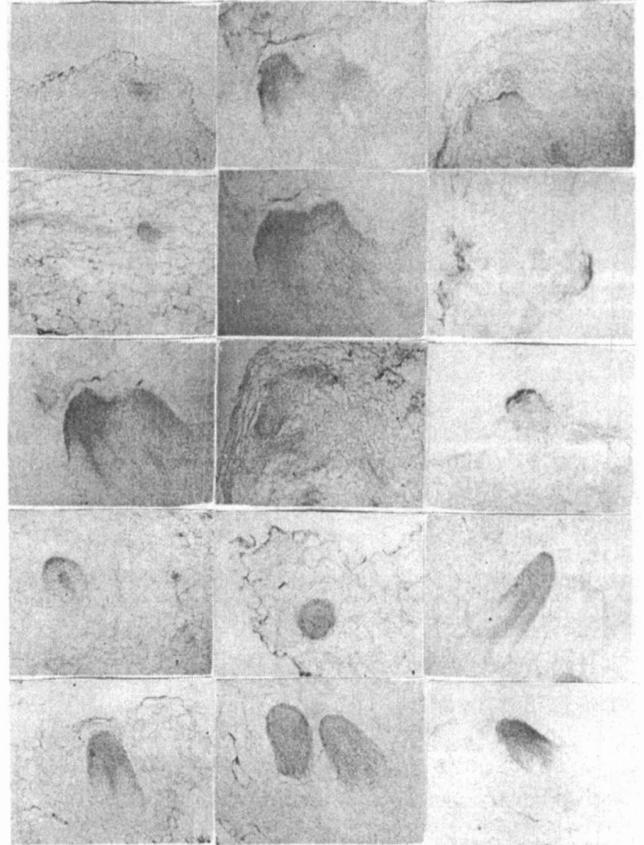
培养基/mg·L ⁻¹	出根天数	生根情况
1/2MS 0	12	根细长,生长正常,苗基部有愈伤组织,并有芽增殖
1/2 MS+NAA 0.1	13	根细长,生长正常,苗基部有愈伤组织,并有芽增殖
1/2 MS+IBA 0.1	13	根细长,生长正常,苗基部有愈伤组织,并有芽增殖
1/2 MS+NAA 0.5	18	根细长,生长正常,苗基部有愈伤组织,无芽增殖
1/2 MS+IBA 0.5	17	根细长,生长正常,苗基部有愈伤组织,无芽增殖讨论

有关大岩桐的组织培养与快繁的研究报道很多,不少报道也提到了降低成本,用白糖替代蔗糖^[3],研究中也认为替代后不影响繁殖指数和苗的质量,因此在大岩桐的生产中用白糖替代蔗糖完全可行。大岩桐的组织培养与快繁中极易褐化,该研究在外植体的处理上,采用0.7% PVP水溶液,有效地防治了外植体切块的褐化,明显提高分化率。

关于植物离体形态发生途径的研究国内外有很多报道,通过间接或直接体细胞胚发生途径再生苗,即通过叶片外植体先产生愈伤组织,再从愈伤组织表面形成

体细胞胚;或者从叶片外植体表面直接发生体细胞胚,然后在初生胚或膨大的原生胚团块表面高频率发生次生胚,之后将体细胞胚解离单独培养,即可形成完整的再生植株^[4]。通过组织学观察,首次研究了大岩桐细胞无性系的形态发生的方式,从组织学图片观察初步可以认为大岩桐是以不定芽方式再生的。

附图:



参考文献

- [1] 兰芹英,普华琼,刘道华,等.重瓣大岩桐的组织培养[J].植物生理学通讯,1997,33(3):201.
- [2] 杜启兰,赵秀芳,陈秀芳.大岩桐的组织培养技术[J].林业科技通讯,2001(2):44.
- [3] 李爱华,熊春玲.大岩桐的组织培养及快速繁殖[J].湖北林业科技,2003(2):5-6.
- [4] 郑国倡,谷祝平.生物显微技术[M].2版.北京:高等教育出版社,1993:157-168.
- [5] 秦廷豪,邹宗兰,饶晓鸿,等.重瓣大岩桐的快速繁殖及其产业化技术程序[J].植物生理学通讯,2002,38(4):313-316.
- [6] Kuehnle A R, Chen F C, Sugii N. Somatic embryogenesis and plant regeneration in Anthurium andraeanum hybrids[J]. Plant Cell Reports, 1992, 11(9): 438-442.

不同浓度激素对荷兰栀子组培的影响

张 红¹, 王万新²

(1. 德州学院 农学系 山东 德州 253023; 2. 德州学院 机电系 山东 德州 253023)

摘要:以荷兰栀子的无菌苗为材料, 研究不同激素浓度对荷兰栀子芽的增殖和生根的影响。结果表明:MS+6-BA 1.5 mg/L(以下同)+NAA 0.1 是其适宜的增殖培养基, 增殖率高, 组培苗生长健壮; 1/2 MS+NAA 0.1 是其适宜的生根培养基, 生根迅速, 质量好。

关键词:荷兰栀子; 激素; 组织培养

中图分类号: S 482.8; S 685.99 文献标识码: A 文章编号: 1001-0009(2008)06-0185-02

植物激素是植物组培中不可缺少的物质, 用量虽少, 但它们对外植体愈伤组织的诱导和根、芽等器官分化起着重要而且明显的调节作用^[1]。荷兰栀子属茜草科栀子属, 是从荷兰引进的优质盆栽观赏花卉, 是一种常绿矮化灌木, 叶互生, 全缘, 颜色亮绿, 革质, 花大, 洁白, 具香味, 单生枝顶。利用普通的繁殖方式, 繁殖速度慢, 很难满足市场需求。采用组织培养可以提高其繁殖系数, 缩短繁殖时间^[2]。主要研究了不同激素及浓度对荷兰栀子组培苗增殖和生根的影响, 寻求利于荷兰栀子组培快繁的适宜激素浓度及配比, 为在短期内大量扩繁荷兰栀子优良种苗, 满足工厂化需要提供理论依据。

1 研究方法

1.1 试验材料

荷兰栀子无菌苗。

第一作者简介:张红(1971-), 女, 山东省德州市平原县人, 硕士, 讲师, 主要从事生物技术与作物遗传育种的教学与研究。E-mail: zhh71821@yahoo.com.cn

收稿日期: 2008-02-05

1.2 试验方法

增殖培养以 MS 为基本培养基, 分别附加不同浓度的 6-BA 和 NAA 或 6-BA 和 IAA, 共设 12 个处理, 具体处理见表 1。将无菌丛生苗, 切成长约 1~2 cm, 带 2~3 片叶芽的茎段, 然后接入不同的增殖培养基中, 每瓶接 3 个, 每种培养基接 10 瓶。培养 30 d 后观察增殖情况。

生根培养以 1/2 MS 为基本培养基, 分别附加 0.05、0.1、0.2、0.5 mg/L 的 NAA。切取瓶内 2~3 cm 高的荷兰栀子幼嫩枝条, 接种于生根培养基上。每瓶接 3 个, 每种培养基接 10 瓶, 培养 20 d 后观察生根情况。

增殖和生根培养基都加入 30 g/L 的蔗糖和 7 g/L 的琼脂, pH 值为 5.8~6.0, 培养温度为 (25±1) °C, 相对湿度 70%, 光照强度 2 400 lx, 每天光照 12 h。

表 1 增殖培养基激素浓度及配比 mg/L

增殖培养基编号	6-BA	NAA	增殖培养基编号	6-BA	IAA
A1	0.5	0.1	A7	0.5	0.1
A2	1.0	0.1	A8	1.0	0.1
A3	1.0	0.2	A9	1.0	0.2
A4	1.5	0.1	A10	1.5	0.1
A5	1.5	0.2	A11	1.5	0.2
A6	2.0	0.1	A12	2.0	0.1

Tissue Culture With Leaves of *Sinningia speciosa* and Histological Observation

REN Ru-yi¹, ZHAO Jin-liang², ZONG Xian-chun¹, ZHANG Xiao-jun¹

(1. Department of Biology, MuDanjiang Teachers College, Mudanjiang, Heilongjiang 157012, China; 2. College of Physical Education, Yantai University, Yantai, Shandong 264005, China)

Abstract: An efficient and reliable method for shoot regeneration from leaf disks of *Sinningia speciosa* was established. Histological observations on calli and bud formation were carried out. The results are as follows: there were no differences in callus induction, but there were significant difference in bud formation. The optimum medium for shoot regeneration was MS+BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L.

Key words: *Sinningia speciosa*; Tissue culture; Rapid propagation; Callus; Histological observation