

丽格海棠组织培养技术的研究

陈林晶, 张熹涛, 曹玉凤, 王林波, 赵 宇

(晋中学院, 山西 榆次 030600)

摘 要:采用丽格海棠中度成熟叶片为外植体进行丛生芽诱导, 并进行扩繁培养和诱导生根, 以期筛选适宜的丽格海棠组织培养的培养基配方, 并建立其组织培养技术体系。结果表明: 较好外植体诱导丛生芽培养基为 MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.5 mg/L, 扩繁培养基为 MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.5 mg/L, 生根培养基为 1/2MS+NAA 0.3 mg/L。

关键词:丽格海棠; 中度成熟叶片; 丛生芽; 组织培养

中图分类号:S 682.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)22-0122-03

丽格海棠(*Rieger begonia*)为秋海棠属植物, 是由冬季开花的索科秋海棠与许多种球根类秋海棠杂交得出的一群冬季开花的杂交品种^[1]。它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, 具有冬季开花且多花、大花、抗病、没有明显的休眠期等特性, 是难得的温室盆栽花卉^[2]。因德国育种专家 Otto Rieger 陆续推向市场而得名^[3-4]。由于它是杂交品种, 一般不形成种子^[5], 目前主要的繁殖方式仍以扦插为主, 成活率低, 繁殖速度慢, 很难满足市场需求^[6], 因此对其进行组织培养尤为必要。该试验选择丽格海棠中度成熟叶片和幼嫩叶片 2 种外植体, 对其进行丛生芽诱导、继代增殖和生根培养比较研究, 以期建立一套完整的丽格海棠组织培养体系, 为丽格海棠的工厂化育苗及繁育新品种提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试植株为采自山西省农业科学研究院苗圃的丽格海棠品种“巴克斯”。选择生长旺盛, 无病虫害的健壮植株, 摘取中度成熟叶片(幼嫩叶片对照除外)作为供试外植体材料。

1.2 试验方法

1.2.1 材料预处理 软毛刷刷净叶片材料表面, 放入小烧杯中罩上纱布后, 流水冲洗 30 min 左右, 置于超净工作台上, 在 75% 酒精中浸泡 30 s 后, 倒去酒精, 再用 0.1% HgCl₂ 灭菌 8 min, 无菌水冲洗 5~7 次。将叶片切

成 0.5 cm² 左右的小块, 无菌条件下接入准备好的培养基中培养。每瓶接 4~6 块叶片。

1.2.2 丛生芽诱导 将处理好的叶片接入不同激素配比的 MS 培养基中(表 1), 观察丛生芽诱导及生长状况, 选择合适的诱导培养基配方。丛生芽诱导培养至 45 d 时, 会分化形成一丛丛的无根小植株。将无根小植株分成小团转移至不同激素配比的培养基(表 2)上进行继代培养。试验以 35 d 为 1 个继代周期, 在继代培养出的丽格海棠小苗中, 选择生长状态比较一致的、且高度大于 1.5 cm 的小苗, 按表 3 接入不同的生根培养基中, 40 d 后, 观察记录生根情况。以 MS 和 1/2MS 为基本培养基, 添加不同浓度的 6-BA、NAA, 蔗糖 30 g/L、琼脂 4.2 g/L, pH 5.8。温度 22~26℃, 光照时数 12 h/d, 光照强度 2 000 lx。

2 结果与分析

2.1 叶片诱导丛生芽

由表 1 可知, 中度成熟叶片接种 3 d 后, 外植体产生隆起等反应, 7 d 后外植体块边缘膨大, 在叶脉处尤为明显, 且开始产生少量愈伤, 20 d 后切口处产生很多团状物。继续培养 10 d, 就会形成许多不定芽。幼嫩叶片产生反应的时间较中度成熟叶片普遍迟 3~4 d, 试验发现, 接种后先进行 10 d 左右的暗培养, 然后进行光培养有利于丛生芽的生长。中度成熟叶片的诱导率普遍高于幼嫩叶片, 且丛生芽的生长状况也较优于幼嫩叶片, 因此该试验采用中度成熟叶片为外植体。不同激素对比对丽格海棠叶片诱导丛生芽的诱导率及生长状况不相同。低浓度的 NAA 时, 添加不同浓度的 6-BA, 丛生芽诱导率普遍都较低。较高浓度 NAA 时, 诱导率普遍较高; 且芽生长状况良好。在相同 NAA 浓度下, 随着 6-BA 浓度的升高, 丛生芽诱导率先升高后降低。可见在诱导丽格海棠叶片分化丛生芽的初代培养基中,

第一作者简介:陈林晶(1981-), 女, 山西临猗人, 硕士, 助教, 研究方向为园林植物生物学。E-mail: cljlr426@163.com.

责任作者:赵宇(1978-), 男, 山西榆社人, 博士, 副教授, 研究方向为花卉穴盘苗营养生理。E-mail: zhaoyu786132003@126.com.

收稿日期:2012-07-17

表 1 不同激素对比对叶片诱导丛生芽的影响

Table 1 Effect of different hormones on leaf bud induction effect

中度成熟叶片 Moderate mature leaves						幼嫩叶片 Young leaves			
6-BA /mg·L ⁻¹	NAA /mg·L ⁻¹	接种数 Cultured number/块	诱导数 Inducted number/块	诱导率 Inducted frequency/%	生长状况 Growth status	接种数 Cultured number/块	诱导数 Inducted number/块	诱导率 Inducted frequency/%	生长状况 Growth status
0.1	0.1	30	11	37	长势弱,生长过慢	30	6	20	长势弱,生长过慢
0.5	0.1	30	17	57	长势弱,生长缓慢	30	13	43	长势弱,生长缓慢
1.0	0.1	30	14	47	长势较弱,有畸形	30	10	33	长势较弱,生长缓慢
0.1	0.5	30	21	70	长势良好,丛生芽密集	30	18	60	长势弱,丛生芽密集
0.5	0.5	30	28	93	长势良好,丛生芽密集	30	24	80	长势好,丛生芽密集
1.0	0.5	30	25	83	长势弱,丛生芽密集	30	20	67	长势弱,有畸形

MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.5 mg/L 为较适宜的培养基(图 1~2)。



图 1 叶片萌发出丛生芽
Fig.1 Leaves sprout buds



图 2 丛生芽长大
Fig.2 Buds to grow up

2.2 继代培养

由表 2 可知,当固定 NAA 浓度时,随着 6-BA 浓度加大,增殖率随之升高,但 6-BA 浓度过高时,芽苗质量降低,并且出现叶片卷曲发红等现象。NAA 浓度过低时增殖率比较低,过高时又有愈伤化倾向,以 0.5 mg/L 最为合适。结合增殖倍数及生长状况,较好的继代增殖培养基为 MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.5 mg/L(图 3)。

表 2 不同激素对比对继代增殖的影响

Table 2 Effect of different hormones on Subculture proliferation

6-BA /mg·L ⁻¹	NAA /mg·L ⁻¹	接种数 Cultured number/个	增殖数 Proliferation number/个	增殖倍数 Proliferation times	生长状况 Growth status
0.3	0.5	30	41	1.37	长势不好,叶片枯黄
0.5	0.5	30	163	5.43	长势良好,叶片翠绿,生长快
1.0	0.5	30	171	5.70	长势弱,叶片卷曲
0.3	0.2	30	52	1.73	长势弱,叶片正常
0.5	0.2	30	63	2.10	长势良好,叶片轻微卷曲
1.0	0.2	30	98	3.27	长势差,叶片卷曲发红

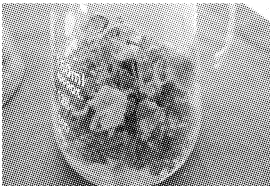


图 3 继代出健壮的丽格海棠植株
Fig.3 The subculture robust *Rieger begonia* plants

2.3 生根培养

由表 3 可知,1/2MS 不添加任何激素,即可以诱导生根,但生根率低,根的数量也不多。1/2MS 添加 NAA 后,随着 NAA 浓度的增加,生根率随之上升、根的数量

也增多,但 NAA 浓度过高时根变的太过细长,不适宜练苗移栽。试验还发现,提高 NAA 浓度,少量添加 6-BA 亦可诱导瓶苗,但和 NAA 浓度过高一样,也是根茂密、细长,不适宜练苗移栽。因此,诱导丽格海棠瓶苗生根较为理想的培养基为 1/2MS+NAA 0.3 mg/L(图 4)。

表 3 不同培养基对生根的影响

Table 3 Effect of different medium on rooting

培养基 Media	接种数 Cultured number/个	生根数 Rooting number/个	生根率 Rooting rate/%	生长状况 Growth status
1/2MS	30	11	37	根系稀疏、粗壮
1/2MS+NAA 0.1 mg/L	30	19	63	根系稀疏、粗壮
1/2MS+NAA 0.3 mg/L	30	27	90	根系粗壮、茂密
1/2MS+NAA 0.5 mg/L	30	28	93	根系茂密、细长
1/2MS+6-BA 0.02 mg/L+NAA 1.0 mg/L	30	25	83	根系茂密、细长
1/2MS+6-BA 0.02 mg/L+NAA 2.0 mg/L	30	27	90	根系茂密、细长



图 4 生根的丽格海棠
Fig.4 Rooting *Rieger begonia*

3 讨论与结论

该试验选用的外植体材料为中度成熟叶片,因为无论从成活率还是分化率上均优于幼嫩叶片,其原因可能是幼嫩叶片在表面消毒过程中极易褐化、死亡^[7]。外植体的分化过程中,初代培养时叶片直接长出不定芽点,这种未经愈伤组织阶段而直接分化成苗的现象,利于缩短培养时间。

试验中初代培养和继代培养所使用的培养基和激素配比相同,且相对于其它同类植物来说激素用量相对较低。其原因可能是丽格海棠自身所含内源激素水平较高,不需要外界条件给予提供太多的外源激素,也有可能是丽格海棠自身诱导分化所需激素水平很低的缘故,其确切原因有待于进一步研究^[8]。

现实生产中,长时间继代培养,激素会在植物体内

积累,扰乱植物正常的生理代谢。因此长时间继代培养,应适当降低激素含量,以减少或消除植株畸形和其它不良现象的发生,使植株正常生长^[9-10]。

该试验通过对丽格海棠叶片离体培养技术的研究,建立了一套比较完善的组培快繁体系,可为丽格海棠的工业化生产提供一定的理论依据。通过对试验数据的比较分析表明,丽格海棠叶片诱导丛生芽的较好培养基为 MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.5 mg/L;最佳继代培养基为 MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.5 mg/L;最佳生根培养基为 1/2MS+NAA 0.3 mg/L。

参考文献

- [1] 司马诺. 让丽格海棠扮靓佳节[J]. 花木盆景, 2007(1):10-12.
- [2] 达克东,张松,高东升,等. 丽格海棠叶片培养胚状体发生和植株再生[J]. 园艺学报, 2001, 28(2):180-181.
- [3] 罗祥,李万年,曹虎,等. 丽格海棠的离体快繁研究[J]. 甘肃农业科

技, 2004, 29(3):36.

- [4] 王利琳,庞基良,胡江琴. 丽格海棠的离体快繁[J]. 生物技术, 2001, 10(5):46-47.
- [5] 马原松,姚晓惠,陈亚,等. 玫瑰海棠组织培养技术[J]. 农业与技术, 2004, 24(4):114-216.
- [6] 范小峰,李师翁,田兴旺. 丽格海棠的组织培养与快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 2003, 39(2):147.
- [7] 韩超. 丽格海棠组织培养技术体系研究[D]. 保定:河北农业大学, 2005:33-40.
- [8] 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):23-26.
- [9] 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, 2002:33-40.
- [10] Shevade A, Preece J E. *In Vitro* Shoot and Floral Organogenesis From Stamen Explants from Rhododendron "P. J. M" Group clone [J]. Scientia Horticulture, 1993, 19(56):163-170.

Study on Tissue Culture Technology of *Rieger begonia*

CHEN Lin-jing, ZHANG Xi-tao, CAO Yu-feng, WANG Lin-bo, ZHAO Yu

(Jinzhong College, Yuci, Shanxi 030600)

Abstract: Taking moderate mature leaves of *Rieger begonia* as explants, induced buds, propagation, and rooting were studied. The results showed that better explants induced buds medium was MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.5 mg/L, the better multiplication medium was MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.5 mg/L, the better rooting medium was 1/2MS+NAA 0.3 mg/L.

Key words: *Rieger begonia*; moderate mature leaves; cluster buds; tissue culture

一刊在手 致富不愁 想致富,请订 2013 年《特种经济动植物》

《特种经济动植物》(原名《国外特种经济动植物》)是由中华人民共和国农业部主管、中国农业科学院特产研究所主办的全国唯一的特种经济动植物专业性国家级科技类期刊,为中国农业核心期刊,主编为中国农业科学院特产研究所所长、研究员、博士生导师杨福合。1982 年创刊,月刊,大 16 开,56 页。本刊面向生产和用户,为科技兴农、振兴农村经济、农民科技致富服务,奉行科学、适用、及时的办刊方针,介绍特产农业、特色农业新技术、新成果、新品种、新经验、新信息,努力办成广大读者买得起、读得懂、用得上的好刊物,是您致富的好帮手。主要栏目:① 特种经济动物 毛皮动物、野生动物、各种宠物、珍(野)禽、畜禽优良品种、特有水(海)产动物。② 特种经济植物 经济植物、野生(名特)果树、药源、观赏、油料、饲料、蜜源、园林草坪、海(水)生、防风固沙(氮)等植物,高产作物、野生名特蔬菜、各地名产、牧草、食用菌等的栽培、加工、植物保护等。③ 信息荟萃 国内毛皮市场及世界毛皮拍卖会行情,全国十大中药材市场特种经济动、植物类中药材市场行情、发展前景及其权威预测等。刊号:CN 22-1155/S,邮发代号 12-183,每期定价 4.00 元,全年 48.00 元(含邮费)。全国各地邮局(所)均可订阅,也可随时从邮局汇款至编辑部订阅。

地 址:长春市净月经济开发区 4899 号 邮编:130112

单 位:中国农业科学院特产研究所《特种经济动植物》编辑部

联系人:包秀芳

电 话:(0431)81919599

E-mail:tzjjdzw@126.com