

# 丽格海棠离体培养植株再生影响因素的研究

文锦芬<sup>1</sup>, 邓明华<sup>2</sup>, 施卫省<sup>1</sup>, 何铁光<sup>3</sup>, 范 适<sup>4</sup>, 金雪花<sup>1</sup>

(1. 云南昆明理工大学现代农业工程学院, 昆明 650224; 2. 云南农业大学园林园艺学院, 昆明 650201;

3. 广西农业科学院生物技术研究所, 南宁 530007; 4. 湖南生物与环境职业技术学院, 衡阳 421005)

**摘要:**以丽格海棠叶片、叶柄和花茎为试材进行培养。研究了不同浓度的 NAA 和 6-BA 对叶片不定芽的诱导作用, 同时研究了不同类型的外植体, 叶片的不同部位对不定芽的诱导影响, 结果表明: MS+6-BA 1.5mg/L + NAA 0.2-0.5 mg/L 有利于不定芽的诱导。叶片再生不定芽的能力最强, 而叶片中以叶中和叶侧的再生效果最好。1/2MS+NAA 1.0 mg/L 有利于不定根的诱导。

**关键词:**丽格海棠; 叶片培养; 植株再生

**中图分类号:**S685.99 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2006)02-0110-02

丽格海棠(Rieger Begonia)是海棠目(regoniales)秋海棠科(Regoniaceae)多年生草本花卉。由南阿尔比亚地区冬日开花的 *B. Socotrana* Hook 和几种来自秘鲁和玻利维亚球根海棠杂交而成。因其花色比球根海棠更加绚丽多彩, 且花期也长, 在西欧、日本和美国很受欢迎, 观赏价值远高于球根海棠, 是秋海棠中的上品<sup>[1,2]</sup>。丽格海棠是雌雄异花植物, 用种子繁殖极易发生变异, 不能保持原品种的特性, 特别是重瓣类型, 易向单瓣方向退化, 且种子完全依赖进口, 价格十分昂贵, 发芽率很低, 故种子繁殖成本很高<sup>[3,4]</sup>。用扦插繁殖难度大, 繁殖系数低, 且多代扦插后, 种性退化严重<sup>[5,6]</sup>, 无法满足市场的需要。利用植物组织培养技术快速、高效繁殖这类珍稀品种是解决上述问题的有效途径<sup>[7,8]</sup>。近些年来关于丽格海棠组织培养的方法和条件研究较多, 且取得了一些进展<sup>[3-8]</sup>, 但因为重复性差, 基因型差异大, 再生频率低而应用很少。本研究旨在通过对丽格海棠再生过程中一些关键技术的研究, 为丽格海棠的种苗产业化生产和繁育新品种提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 无菌材料的获得

温室培养的丽格海棠植株, 选取展平幼叶, 用洗衣粉刷

洗表面, 自来水冲洗干净, 再用 75% 的酒精浸泡 3s~4s, 后用无菌水洗净酒精后, 放入 0.1% 的升汞溶液中浸泡 6~7min, 最后用无菌水冲洗 5~6 次。

### 1.2 培养基的配制

不定芽诱导培养基:

PD1: MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.2 mg/L

PD2: MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.5 mg/L

PD3: MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L

PD4: MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L

PD5: MS+6-BA 1.5 mg/L+NAA 0.2 mg/L

PD6: MS+6-BA 1.5 mg/L+NAA 0.5 mg/L

PD7: MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L

PD8: MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L

生根培养基:

PR1: 1/2MS+NAA 0.5mg/L

PR2: 1/2MS+NAA 0.75mg/L

PR3: 1/2MS+NAA 1.0mg/L

PR4: 1/2MS+NAA 1.25mg/L

PR5: 1/2MS+NAA 1.5mg/L

### 1.3 不定芽的诱导

1.3.1 不同类型的外植体对不定芽诱导的影响 外植体分为幼叶、叶柄和花茎三种。无菌的条件下将灭菌的幼叶切成 1cm 方块, 叶柄和花茎切成 1cm 的小段, 接种于诱导培养基上, 每皿 4~6 个外植体, 7 次重复, 置于光强 2 500Lx, 白天/晚间温度 (25±1)℃/(23±1)℃, 光/暗处理 14h/10h 下培养。30d 统计不定芽的分化率。

1.3.2 叶片不同部位对不定芽诱导的影响 叶片分为叶中、叶侧和叶边缘 3 个部位, 接种方法和培养条件同 1.3.1。

### 1.4 生根和移栽

待芽伸长约 2 cm 以上后, 从基部切下(勿带愈伤组织)置于生根培养基中生根, 待长出完整根系后, 敞瓶炼苗 7d~10 d 然后洗净根系培养基, 用适当浓度多菌灵浸泡后, 移植于经灭菌的蛭石中, 浇灌 1/2MS 无激素培养基, 用塑料膜覆



**第一作者简介:**文锦芬, 女, 1973 年生, 讲师, 2001 年毕业于湖南农业大学, 获理学硕士学位, 同年到昆明理工大学进行从事教学与研究, 主讲《植物生理学》和《植物细胞工程与技术》, 主要从事

植物生理与遗传组织及细胞培养等研究工作, 参与国家自然科学基金、云南省自然科学基金、云南省教育厅科学研究基金等多项, 发表学术论文十多篇(其中一篇被 EI 收录)

\*基金项目: 云南省教育厅科学研究基金(04Y559B), 昆明理工大学青年科研基金(校青 2003-44)

收稿日期: 2005-10-10

盖保湿 15 d 后, 敞膜并移入盆土中, 温室常规管理。

## 2 结果与分析

### 2.1 不定芽的诱导

比较了不同激素水平搭配对芽分化的影响, 叶片不定芽诱导试验结果表明: 6-BA 是诱导芽分化的关键因子结果见表 1。6-BA 浓度为 5.0mg/L~7.0 mg/L 时, 芽的诱导频率高, 6-BA 浓度为 1.5mg/L 时, 最高达 100%, 且芽分化的区域大, 芽数多, 质量高。6-BA 浓度为 0.5mg/L 时, 主要生成愈伤组织, 偶尔有芽的分化。6-BA 浓度高于 1.5mg/L 时, 不定芽的发生率亦下降, 而且再生的不定芽有玻璃化现象产生。NAA 与 6-BA 组合使用时, 具有促进叶片不定芽发生率提高和再生芽数量增加的作用。0.5mg/L 的 NAA 配方效果好于 0.2mg/L 的配方。对丽格海棠而言, MS+6-BA 1.5 mg/L+NAA 0.2~0.5 mg/L 是诱导芽分化的最佳激素配方。

### 2.2 不同类型的外植体对不定芽分化的影响

本实验对丽格海棠不同类型的外植体对不定芽诱导的影响作了研究, 研究结果见表 2。叶片 10d 左右就开始膨大, 并有少量淡黄绿色的愈伤组织产生。15d 左右有不定芽的产生。不定芽既可以从愈伤组织上产生, 也可以从叶片上直接产生。约 40d 后, 丛生芽可长满整个外植体。叶柄和花茎在培养 15d 左右从切口处开始膨大变绿, 在 20d 有愈伤组织的产生, 25d 左右在叶柄和花茎变绿的皮层处和边缘的愈伤组织处产生不定芽。从结果来看, 叶柄和花茎的不定芽的诱导率远低于叶片。因此认为叶片是较为理想的, 具有较高应用价值的外植体。

表 1 不同激素对比对丽格海棠叶片培养不定芽分化的影响

培养基配方	接种外植体数	有不定芽分化的外植体数	分化率 (%)	每个外植体分化的不定芽数
PD1	36	17	47	4.2
PD2	36	19	53	3.4
PD3	36	25	69	11.3
PD4	36	26	72	14.2
PD5	36	36	100	20.9
PD6	36	36	100	22.1
PD7	36	30	83	18.1
PD8	36	32	89	18.6

表 2 不同类型的外植体对不定芽诱导的影响

外植体类型	接种外植体数	分化外植体数	分化率 (%)	污染外植体数	污染率 (%)	每个外植体分化的不定芽数
叶片	36	36	100	0	0	22.1
叶柄	36	25	69	8	22	15.5
花茎	36	24	65	10	28	13.8

### 2.3 叶片不同部位对不定芽分化的影响

同一叶片的不同部位在配方相同的培养基中, 其分化的情况不相同。具体结果见表 3。从不定芽的诱导率和有效芽的情况来看, 叶片边缘的有效芽数量和诱导率远远低于叶

侧和叶中, 叶中略好于叶侧。其原因可能是叶片边缘薄, 所含的具有分生能力的细胞少, 所以其结果差异明显。

表 3 叶片不同部位对不定芽分化的影响

叶片部位	接种外植体数	分化外植体数	分化率 (%)	每个外植体分化的不定芽数
叶中	36	36	100	22.1
叶侧	36	34	94	15.6
叶缘	36	9	25	2.3

### 2.4 生根及移栽

将伸长到 2cm~3 cm 高, 具有 2~3 个节的小芽从基部切割下来转移到生根培养基中。20 d 左右形成 5~6 条白色不定根。比较了不同生长素对生根的影响发现: NAA 的质量浓度在 0.5mg/L~1.5 mg/L 时均能诱导不定根的产生。其中以 NAA 质量浓度为 1.0 mg/L 最佳, 形成的根粗壮, 须根丰富。将上述生根小苗敞开瓶锻炼 7d~10 d 后洗净培养基, 用适当浓度多菌灵浸泡后移入经灭菌的蛭石中, 浇 1/2 MS 培养液, 塑料膜保温 15 d 后, 敞膜移入盆中, 温室常规管理, 成活率为 85% 以上。

## 3 讨论

诱导丽格海棠外植体产生不定芽的激素范围较宽, 本实验所有的激素配比均有不定芽的产生, 但以 MS+6-BA 1.5 mg/L+NAA 0.2~0.5 mg/L 的效果较好。

同一品种不同类型的外植体的分化能力差异很大。本实验结果表明, 丽格海棠在不定芽的诱导阶段, 叶片诱导分化能力最强, 叶柄和花茎次之。

同一品种同一器官不同部位的外植体分化能力也有差异。本实验对丽格海棠叶片的叶中、叶侧和叶缘不定芽的分化能力进行了比较。结果表明: 叶缘的分化能力最差, 叶中的分化能力略强于叶侧。可能是由于叶片边缘的细胞层数少于叶中和叶侧, 维管束也较少; 而叶中和叶侧在细胞层数方面相差不远, 但叶中的维管束多于叶侧, 维管束是植物运输养分的通道, 同时又具有贮藏功能, 还有较强的分生能力的形成层, 所以其不定芽诱导的能力略强于叶侧。

### 参考文献:

- [1] 李文, 李宪章. 丽格海棠走俏花市[J]. 花木盆景, 1999, (1): 23
- [2] 李虬, 张雪梅, 戴英祥. 丽格海棠的历史、生产现状及栽培前景[J]. 中花园艺, 2000, (10): 5~6
- [3] 王发琳, 赵秀梅, 刘芬. 丽格海棠的叶片离体培养技术[J]. 甘肃农业科技, 2001, (5): 46~47
- [4] 达克东, 张松, 姜璐璐等. 丽格海棠离体培养不定芽的发生和微繁殖研究[J]. 山东农业大学学报(自然科学版), 2002, 33(1): 92~95
- [5] 佟新萍, 董建民. 彩纹海棠微繁殖研究[J]. 北方园艺, 1998, (2): 53~54
- [6] 宋仪农. 培养基种类和植物激素对丽格海棠微体快繁影响的研究[J]. 青海农林科技, 2003, (1): 6~7
- [7] 王利琳, 庞基良, 胡江琴. 丽格海棠的离体快繁[J]. 生物技术, 2001, 11(5): 46~48
- [8] 徐宏英, 谢海军. 玫瑰海棠的组织培养及快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 1999, 35(5): 381