

大岩桐的组织培养和快繁技术研究

韩云花¹, 师春娟¹, 李平英¹, 董菊兰¹, 王 齐²

(1. 甘肃省小陇山林业科学研究所, 甘肃 天水 741022; 2. 甘肃农业大学草业学院, 甘肃 兰州 730070)

摘要: 以大岩桐新生嫩叶为外植体进行了植株再生和快速繁殖研究。结果表明: 诱导不定芽以 MS+3% 蔗糖+0.5% 琼脂+0.05 mg/L NAA+0.50 mg/L 6-BA 效果最好, 分化率达 100%; 增殖培养以 MS+3% 蔗糖+0.5% 琼脂+0.10 mg/L 6-BA+0.10 mg/L NAA 培养基增殖倍数最大, 为 6.5 倍; 诱导不定根, 在 1/2 MS+1.5% 蔗糖+0.5% 琼脂+0.10 mg/L NAA 培养基上生根率为 100%, 达到植株再生和快繁的目的。

关键词: 大岩桐; 组织培养; 快速繁殖

中图分类号: S682 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-1463(2006)06-0010-02

Study on Tissue Culture and Micropropagation of *Sinningia speciosa*

HAN Yun-hua, SHI Chun-juan, LI Ping-ying, DONG Ju-lan, WANG Qi

(1. Xiaolongshan Insitute of Forestry Sciences, Tianshui Gansu 741022, China; 2. Prataculture College, Gansu Agriculture University, Lanzhou Gansu 730070, China)

Abstract: The plant regeneration and micropropagation of *Sinningia speciosa* young shoots as explants was studied in this paper. The results showed that the most suitable induction culture medium is MS+3% cane sugar+0.5% agar+0.05 mg/L NAA+0.50 mg/L 6-BA, differentiation rate could reach 100%; the largest times of enrichment culture is 6.5 which is culture medium by MS+3% cane sugar+0.5% agar+0.10 mg/L 6-BA+0.10 mg/L NAA. The ideal culture medium for rooting is 1/2 MS+1.5% cane sugar+0.5% agar+0.10 mg/L NAA of with 100% rooting rate which is reach to plant regeneration and micropropagation.

Key words: *Sinningia speciosa*; Tissue culture; Micropropagation

大岩桐(*Sinningia speciosa*)又名落雪泥, 原产巴西, 属苦苣科苦苣苔属多年生草本植物, 花朵大而鲜艳, 花期长, 色彩丰富, 具有较高的观赏性, 是最适宜温室盆栽的花卉之一。大岩桐为异花授粉植物, 用种子繁殖受到一定程度的限制, 而常规繁殖方法又远远不能满足人们的需要^[1~2]。为此 2002 年我们通过组织培养, 获得了具有原品种优良性状的大批优质苗木, 现将组培试验结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 叶片不定芽的诱导培养试验

试验于 2002 年 3 月 22 日开始, 选取花朵硕大、生长健壮、无病虫害的大岩桐新生嫩叶, 先用洗衣粉和洗洁剂冲洗数次, 再用清水冲洗干净, 在超净工作台上选用 75% 乙醇溶液浸泡 15 s 作表面消毒处理, 然后用 0.1% 的 HgCl₂ (附加 1~2 滴吐温) 浸泡 5 min, 并不断轻摇使其充分浸泡彻底灭菌, 最后用无菌水冲洗 4~5 次, 灭菌滤纸吸干水分。用刀片将叶片切成 5~7 mm 的小方块, 分别接到以下 MS+3.0% 蔗糖+0.5% 琼脂培养基中: ① 0.05 mg/L NAA+0.50 mg/L 6-BA; ② 0.05 mg/L NAA+0.20 mg/L 6-BA; ③ 0.05 mg/L NAA+0.10 mg/L 6-BA; ④ 0.10 mg/L NAA+0.50 mg/L 6-BA; ⑤

0.10 mg/L NAA+0.20 mg/L 6-BA; ⑥ 0.10 mg/L NAA+0.10 mg/L 6-BA; ⑦ 0.15 mg/L NAA+0.50 mg/L 6-BA; ⑧ 0.15 mg/L NAA+0.20 mg/L 6-BA; ⑨ 0.15 mg/L NAA+0.10 mg/L 6-BA, 每瓶只接 1 块材料。

1.2 不定芽的增殖培养试验

将带有愈伤组织的丛生芽切成约 0.5 cm×0.5 cm 的小块, 分别接到以下增殖 MS+3.0% 蔗糖+0.5% 琼脂培养基中: ① 0.05 mg/L NAA+0.10 mg/L 6-BA; ② 0.05 mg/L NAA+0.50 mg/L 6-BA; ③ 0.05 mg/L NAA+1.00 mg/L 6-BA; ④ 0.10 mg/L NAA+0.10 mg/L 6-BA; ⑤ 0.10 mg/L NAA+0.50 mg/L 6-BA; ⑥ 0.10 mg/L NAA+1.00 mg/L 6-BA; ⑦ 0.15 mg/L NAA+0.10 mg/L 6-BA; ⑧ 0.15 mg/L NAA+0.50 mg/L 6-BA; ⑨ 0.15 mg/L NAA+1.00 mg/L 6-BA。

1.3 芽苗的生根培养试验

将无根苗切成 3 cm 左右分别接到以下 1/2 MS+1.5% 蔗糖+0.5% 琼脂生根培养基上: ① 0.05 mg/L NAA; ② 0.10 mg/L NAA; ③ 0.15 mg/L NAA; ④ 0.20 mg/L NAA。每种培养基接种 30 个, 30 d 后观测记载生根情况。

收稿日期: 2005-09-30

作者简介: 韩云花(1974-), 女, 甘肃天水人, 助理工程师, 主要从事林木、花卉苗木的组培研究工作。联系电话: (0938) 2811247。

以上各试验培养基 pH 5.8, 培养室温度为 25 ± 2 °C, 光照强度为 $1\ 000 \sim 2\ 000$ Lx, 光照时间为 $10 \sim 12$ h/d。

1.4 炼苗移栽

将已生根的大岩桐瓶苗移入无阳光直射的室外, 常温下炼苗 3~7 d。移栽前从瓶中轻轻取出瓶苗, 洗净根部培养基, 不要损伤根部, 用 40% 多菌灵可湿性粉剂 1 000 倍液浸泡根部 30 min, 然后移栽到以珍珠岩为基质的苗床中, 浇透水, 搭上塑料棚保湿, 并适当遮荫, 防止暴晒, 4~5 d 后适当通风排湿。

2 结果与分析

2.1 不定芽诱导结果

大岩桐接种 10 d 后, 叶片开始膨大; 20 d 后, 叶片上产生致密的淡黄色愈伤组织, 且长有 3~4 个芽; 经 30 d 培养, 形成较密集的丛生芽。从表 1 可以看出, 当 NAA 浓度为 0.05、0.15 mg/L 时, 分化数、分化率、芽数、分化芽总数均随着 6-BA 浓度的增加而增加; 当 NAA 浓度为 0.10 mg/L 时, 以上各项指标则随着 6-BA 浓度的增加呈抛物线趋势。外植体经 30 d 培养后, 以 MS+3.0% 蔗糖+0.5% 琼脂+0.05 mg/L NAA+0.50 mg/L 6-BA 培养基形成不定芽数、分化芽总数最多, 平均分别为 8.9、267 个, 而且生长健壮, 颜色嫩绿, 有一定的适应性。

表 1 大岩桐不定芽诱导形成结果^①

培养基 编号	NAA (mg/L)	6-BA (mg/L)	分化 数 (个)	分化 率 (%)	平均 芽数 (个)	总芽 数 (个)	生长 状况
①	0.05	0.50	30	100	8.9	267	良好
②		0.20	27	90	5.6	168	良好
③		0.10	25	83	5.1	153	一般
④	0.10	0.50	19	63	4.7	141	一般
⑤		0.20	30	100	5.0	150	一般
⑥		0.10	21	70	4.5	135	不良
⑦	0.15	0.50	23	77	5.5	165	良好
⑧		0.20	18	60	4.4	132	不良
⑨		0.10	16	53	3.8	114	不良

①接入外植体数为 30 个。

2.2 不定芽的增殖培养结果

由表 2 可以看出, 丛生芽、增殖倍数随着 6-BA 浓度的增加呈递减趋势, 主要是由于 6-BA 浓度升高时, 易产生愈伤组织, 而丛生芽减少, 生长不良。但丛生芽、增殖倍数随着 NAA 浓度的增加呈抛物线趋势, 当 NAA 浓度为 0.10 mg/L 时, 丛生芽基部产生须根, 随着 6-BA 浓度的增加, 丛生芽呈减少趋势; 以 MS+3.0% 蔗糖+0.5% 琼脂+0.10 mg/L NAA+0.10 mg/L 6-BA 培养基上产生的不定芽最多, 为 293 个, 增殖倍数最大, 为 6.5; 其次 MS+3.0% 蔗糖+0.5% 琼脂+0.10 mg/L NAA+0.50 mg/L 6-BA 培养基不定芽为 219 个, 增殖倍数为

表 2 大岩桐不定芽增殖培养结果

培养基 编号	NAA (mg/L)	6-BA (mg/L)	始接芽数 (个)	丛生芽数 (个)	增殖 倍数
①	0.05	0.10	41	131	3.2
②		0.50	48	163	3.4
③		1.00	39	129	3.3
④	0.10	0.10	45	293	6.5
⑤		0.50	43	219	5.1
⑥		1.00	41	156	3.8
⑦	0.15	0.10	48	115	2.4
⑧		0.50	38	80	2.1
⑨		1.00	42	80	1.9

5.1.

2.3 芽苗生根培养结果

试验结果(表 3)表明, 以 $1/2$ MS+1.5% 蔗糖+0.5% 琼脂+0.10 mg/L NAA 培养基芽苗生长健壮, 生根数最多, 并在苗基部形成绿豆粒大小的球茎, 生根率为 100%; 其次 $1/2$ MS+1.5% 蔗糖+0.5% 琼脂+0.15 mg/L NAA 培养基生根率为 93%。当 NAA 浓度超过 0.15 mg/L 时, NAA 抑制根的形成与生长, 生根数减少, 芽生长弱。可见在大岩桐生根诱导过程中, NAA 是影响根形成的主导因素, 最适浓度为 0.10 mg/L NAA。

表 3 大岩桐芽苗生根培养结果

培养基 编号	NAA (mg/L)	接种数 (个)	生根数 (个)	生根率 (%)
①	0.05	30	21	70
②	0.10	30	30	100
③	0.15	30	28	93
④	0.20	30	26	86

2.4 移栽成活率

炼苗 30 d 后, 幼苗长出 4~6 片新叶、苗高 6 cm 以上时, 即可上盆移栽。一般移栽成活率可达 90% 以上。

3 小结

3.1 大岩桐不定芽诱导适宜培养基为, MS+3.0% 蔗糖+0.5% 琼脂+0.05 mg/L NAA+0.50 mg/L 6-BA, 不定芽的分化率达 100%, 平均芽数为 8.9 个; 在增殖培养阶段, 以 MS+3.0% 蔗糖+0.5% 琼脂+0.10 mg/L 6-BA+0.10 mg/L NAA 培养基, 增殖倍数最大; 在生根培养阶段, $1/2$ MS+1.5% 蔗糖+0.50% 琼脂+0.10 mg/L NAA 的培养基生根率达 100%, 幼苗生长健壮, 有一定适应性。

3.2 移栽过程中基质要保持湿润, 避免阳光直射。

参考文献:

- [1] 谭文澄, 戴策刚. 观赏植物组织培养[M]. 北京: 中国林业出版社, 1997.
- [2] 曹孜义, 刘国民. 实用植物组织培养技术教程[M]. 兰州: 甘肃科学技术出版社, 1999.

(本文责编: 张雪琴)