

提高大岩桐组织培养和栽培技术措施的探索

周爱芳 李家洲

(广东轻工职业技术学院 食品与生物工程系 广东 广州 510300)

摘 要:以大岩桐幼嫩叶片为外植体,通过0.1%氯化汞消毒后进行组织培养,适宜条件为:(1)诱导培养基为MS + BA2.0mg · L⁻¹(以下单位同) + NAA0.2;(2)继代培养基为MS + BA1.0 + NAA0.5;(3)生根培养基1/2MS + IBA1.0 + 活性炭1.0g · L⁻¹。大岩桐在适合的条件下移栽生长良好,具有很高的经济效益。

关键词:大岩桐;组织培养;移栽

中图分类号:S 792 **文献标识码:**A **文章编号:**1672-1950(2006)03-0024-03

大岩桐(*Sinningia speciosa*)属苦苣苔科苦苣苔属植物,有扁平球形的地下茎,地上茎极短,为多年生宿根草本植物,大岩桐叶色翠绿,花大而艳丽,花色有红色、粉色、紫色、白色及复色,是人们喜爱的室内观赏花卉。

大岩桐可采用种子播种,叶片扦插或分球繁殖,但是大岩桐自交不孕,很难得到种子,而扦插速度慢,繁殖效率低,因此,现在市面上已流行运用组织培养的方法,对大岩桐进行快速繁殖,但大岩桐的组织培养技术较难掌握,如:叶片肥厚及有毛消毒很难彻底,污染高;生长激素不同对大岩桐的繁殖有一定的影响;移栽时对移栽时间、所用基质要求严格等问题都要急待解决,本试验针对大岩桐组培技术出现的关键问题进行了进一步的研究,目的在于提高大岩桐组织培养技术和栽培技术,达到快速繁殖的要求。

1 材料与方 法

1.1 供试材料

在广州芳村区花卉市场购回大岩桐的优良品种。

1.2 试验方法

1.2.1 消毒灭菌

取大岩桐的嫩叶,先用自来水认真的冲洗,再用1.0%中性洗衣粉溶液轻轻搅拌漂洗10min,用自来水把洗衣粉冲洗干净后,在超静工作台上用75%酒

精表面消毒10s,分别采用以下四种消毒方法对叶片进行消毒后,再用无菌水冲洗4次,在无菌状态下切成约1cm²左右的小块,置于培养基上,在25℃,每日光照12h条件下培养,各种消毒方法如下:

A. 用10%次氯酸钠溶液消毒8min,进行试验;

B. 用1%硝酸银溶液消毒8min,进行试验;

C. 用0.1%氯化汞消毒7-8min,进行试验;

D. 用0.1%氯化汞消毒7-8min,接种到加有先锋6号抗生素的培养基(0.5g · L⁻¹)上进行试验,具体操作是先把培养基灭菌后,待培养基冷却45℃左右,在超净工作台上以每升0.5g的量加入先锋6号抗生素摇匀,迅速倒进已灭菌的培养瓶中,凝固后待用。

1.2.2 诱导和分化

取已消毒的大岩桐叶片在无菌条件下接种到不同的培养基上,在25℃,每日光照12h条件下进行培养。

1.2.3 继代培养

将愈伤组织块上分化出的幼芽切下,转入继代培养基上,培养条件如上。

1.2.4 生根培养

将继代培养中苗高达2cm,有3-4片完整叶片的小植株,转移到不同生根培养基上,培养条件如上。

1.2.5 炼苗与移栽

取培养瓶中长到3cm左右,根长1cm的小苗,将培养瓶打开,放置3天,然后用镊子将试管苗夹出,用水洗净基部的培养基,分别插在3种不同基质的塑料盆内,移栽20天后开始调查成活率、根系生

收稿日期:2006-03-06

作者简介:周爱芳(1971-),女,实验师。

长情况、植株生长情况等。

2 结果与讨论

2.1 消毒剂对外植体消毒效果的影响

由于大岩桐的叶片表面覆盖着很多绒毛,特别难消毒,尤其在春季,霉菌的滋生比较旺盛,直接影响外植体消毒的效果,因此选择适合大岩桐叶片消毒的消毒剂是关键。本试验选择了四种的消毒剂对叶片进行消毒,经四种消毒剂消毒的叶片在无菌条件下切成 1 cm^2 ,分别接种25片到同一愈伤组织诱导培养基上,每瓶接种5片,在 25°C ,每日光照12h条件下进行培养。经过培养,可得出以下结果,如表1,用10%次氯酸钠灭菌效果最差,污染率最高,而且容易破坏叶片组织,不应采纳;用1%硝酸银灭菌效果较差,污染率较高,而且容易杀死叶片,褐化现象明显;用0.1%氯化汞消毒效果较好,污染率比较低,愈伤成活率高,可以采纳;用0.1%氯化汞消毒后,再放入先锋6的培养基中效果最好,污染率最低,但先锋6只对细菌有抑制作用,对霉菌不起作用,而且使用先锋6增加了成本,对愈伤组织的正常产生也有一定的影响,所以在叶片污染严重的情况下可以采用,一般情况不采用。结论得出,大岩桐的叶片最好的消毒方法是经75%酒精表面消毒10s用无菌水冲洗后,再用0.1%氯化汞消毒7-8min。还要说明一点是,实验证明叶片消毒时间的控制,必须根据叶片的大小、厚薄、季节及栽培地点等条件进行调整,在操作时还必须严格无菌条件及无菌操作,尽可能降低污染,提高愈伤组织的成活率。

表1 不同消毒剂对叶片消毒效果的影响

消毒剂	接种叶片	污染叶片	污染率/%
A. 10% 次氯酸钠	25	19	76
B. 1% 硝酸银	25	11	44
C. 0.1% 氯化汞	25	4	16
D. 0.1% 氯化汞加先锋6号 (0.5g·L ⁻¹) 抗生素	25	2	8%

2.2 愈伤组织诱导和芽分化

试验选用的诱导培养基有:(1)MS + BA1.0 + NAA0.2;(2)MS + BA2.0 + NAA0.2;(3)MS + BA3.0 + NAA0.2,将消毒后切分好的外植体分别接种到(1)、(2)、(3)3种培养基上,30天后观察,(2)号培养基上开始分化出小叶片,36天后(3)号培养基上分化出小叶片,40天后(1)号培养基上才开始分化出小叶片,经60天培养,不同培养基激素组合对诱导不定芽的分析如表2,由此看出,(2)号培养

基诱导丛生芽效果最好,(3)号培养基次之,(1)号培养基最差。结果证明,BA的量为 $2.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 是最合适叶片的诱导。

表2 BA浓度对愈伤组织诱导、生长及芽分化的影响

培养基配方	有效 外植体	形成愈 伤组织数	愈伤组 织生长 速度	产芽量
(1)MS + BA1.0 + NAA0.2	25	5	+	+
(2)MS + BA2.0 + NAA0.2	25	25	+++	+++
(3)MS + BA3.0 + NAA0.2	25	19	+++	++

2.3 芽继代培养和增殖

把诱导的丛生芽的愈伤组织块接到培养基MS + BA1.0 + NAA0.5进行增殖培养,发现原有的愈伤组织不再生长,而丛生芽却长大了,在培养过程中有少数接触到培养基的叶片也产生丛生芽,25-32天可继代1次,繁殖增长快速,每瓶有效苗高达30-40株,完全可满足快速繁殖的需要。

2.4 生根培养

组培的生根培养广泛使用IBA和NAA两种激素,现用不同的IBA浓度作为试验,再加活性炭 $1.0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$,进行生根对比,把小植株生长到2cm左右高的,转入不同生根培养基中,15天后,小植株已形成完整的根系(见表3),从表中可表明,小苗接种到 $1/2\text{MS} + \text{IBA}1.0 + \text{活性炭 } 1.0\text{ mg/L}$ 的生根培养基上生根最好,平均诱导根数5-7条,根为白色、肉质、呈辐射状。3周后根生长1-1.5cm,生根率100%。

表3 不同生长素用量对根诱导的影响

培养基	接种 苗数	生根 苗数	生根 率/%
$1/2\text{MS} + \text{IBA}0.5 + \text{活性炭 } 1.0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$	50	25	50
$1/2\text{MS} + \text{IBA}1.0 + \text{活性炭 } 1.0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$	50	48	96
$1/2\text{MS} + \text{IBA}2.0 + \text{活性炭 } 1.0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$	50	30	60

2.5 炼苗与移栽

取培养瓶中长到3cm左右高,根长1cm的小苗,在培养室打开瓶盖,如果室内空气干燥,可在瓶内适量加一些水,炼苗3-4天后,用镊子把小苗夹出来,用水把残留的培养基冲洗掉,再移栽到不同基质的栽培。温室全年使用塑料膜覆盖,以免淋雨,夏天使用70%遮阳网,冬天用50%遮阳网,温度保持在 $20-25^\circ\text{C}$,夏天用换气扇降温,冬天用热风机加温,移栽之后前10天浇清水,基质见干见湿,10天之后每周浇一次 $1/2\text{MS}$ 大量元素培养液,每周喷一次杀菌药,两个月后,移栽上盆经不同基质的移栽试验如表4,从中表明,珍珠岩做基质效果最好,珍珠岩30% + 椰糠70%次之,以河沙为基质效果最差。

这是由于珍珠岩容重小,吸水量大,且含有丰富的矿物质,而且质地轻,适于根毛的生长,而河沙大量元素的含量低,保持的水分不足,苗成活率最低,珍珠岩+椰糠的搭配成活率也很高,椰糠吸水力也比较强,基质疏松有利于根系的生长,而且成本低,很适合大批量生产用做基质。

表4 不同基质移栽效果的比较

基质	移栽数	成活数	成活率/%
珍珠岩	30	28	93
河沙	30	15	50
30%珍珠岩+70%椰糠	30	26	87

3 移栽后的栽培技术要点

3.1 温度

大岩桐喜欢温暖、潮湿地方,不耐寒冷很适合南方栽培,其适宜的生长温度1-10月份为18-25℃;10-12月份为10-12℃,冬季温度应保持10℃以上,并且需要充足的阳光,如果温度较低,叶片会逐渐枯死而进入休眠期,此时盆土应保持稍干燥些,否则会引起块茎腐烂。

3.2 湿度

苗移好后,需浇透水,宜用喷雾,避免水流太大将苗冲倒,浇完水后查看是否有倒伏的小苗,及时予以扶正固定,并加盖薄膜保湿,10天后待小苗挺立,可揭开薄膜。因此在小苗移栽的前期,要保持80%以上的空气湿度,可用喷雾加湿,在小苗成活后,浇水必须均匀,保持盆土湿润,不可过干或过湿,盆土过干引起植株生长不良,叶片发黄;盆土过湿,不仅容易引起徒长,花茎软垂,不开花或花蕾枯落,而且由于盆土长期积水,容易发生冠腐病,即块茎顶部发生腐烂,使叶片自叶柄基部一片片凋落。大岩桐花叶上生有绒毛,一旦沾上水滴,极易腐烂,为防止从

上面浇水水珠溅到叶片上,最好使用浸水法,使水分由盆底排水孔吸入盆内,再被植株吸收利用。花期还要防止雨淋,保证花期延长,提高观赏价值。

3.3 施肥

在生长期每半月可施肥一次,以防止花茎无力抽出,促进花芽分化和开花有力,施肥时可用盆花专用肥,对大岩桐生长发育极有利,当形成花苞后,再增施磷钾肥1-2次,施肥时注意不要沾污有毛的叶面,以免引起叶片焦枯腐烂。

4 结论

经过对大岩桐组织培养和栽培技术方法进行了一系列的试验,得出以大岩桐幼嫩叶片为外殖体,通过0.1%氯化汞消毒后进行组织培养,适宜条件为诱导培养基为MS+BA2.0mg·L⁻¹+NAA0.2mg·L⁻¹,继代培养基为MS+BA1.0mg·L⁻¹+NAA0.5mg·L⁻¹,生根培养为1/2MS+IBA1.0mg·L⁻¹+活性炭1.0g·L⁻¹,移栽使用珍珠岩和椰糠的搭配最为适合。大岩桐在适合的条件下可快速繁殖,节约了生产成本,适应市场化大生产的需求,可取得显著的经济效益。

参考文献:

- [1] 李浚明. 植物组织培养教程[M]. 北京:中国农业出版社,1992.
- [2] 曹孜义,刘国民. 实用植物组织培养技术[M]. 甘肃科学技术出版社,1996.
- [3] 吴纲. 利用重瓣大岩桐叶片诱导再生植株试验[J]. 江苏林业科技,2002,29(3):23-24.

责任编辑:张贇霞

Research of Improvement of Sinningia Speciosa Tissue Culture and Transplanting Technology

ZHOU Aifang LI Jiazhou

(Department of Food and Biology Engineering, Guangdong Industry Technical College, Guangzhou 510300, China)

Abstract: Using sinningia speciosa leaves as explant treated with 0.1% mercuric chloride, the optimum conditions for tissue culture are: (1) inducing culture is MS+BA2.0+NAA0.2; (2) successive transfer culture medium is MS+BA1.0+NAA0.5; (3) shoots rooting medium is 1/2MS+IBA1.0+activated carbon 1.0. Under those optimum conditions, the transplanting living is very well and economic benefit is very high.

Key words: sinningia speciosa; tissue culture; transplanting