

蒲包花种子组织培养的研究

熊英 (沈阳三和绿化工程有限公司, 辽宁沈阳 110015)

摘要 [目的]摸索蒲包花种子组织培养技术,解决蒲包花种子播种繁殖率低的问题。[方法]以蒲包花种子为外植体,采用不同的消毒方式、培养基和基质,研究了蒲包花的组织培养。[结果]经浓度 70% 酒精消毒 30 s,蒲包花种子污染率较低,为 18.7%,萌发率高,达 62.5%。蒲包花不定芽的最佳培养基为 MS+BA 1.0 ml/L+IAA 0.1 ml/L,增殖系数达 5.0,丛生芽多,且生长健壮;蛭石+珍珠岩基质对植株的扦插最好,成活率达到 63.0%;不经生根培养的试管苗的扦插成活率较高,可达 60.0%,经生根培养的试管苗的扦插成活率为 48.0%。[结论]IAA 对蒲包花不定芽增殖的作用很明显,蒲包花试管苗可不经生根培养直接扦插。

关键词 蒲包花;种子;组织培养

中图分类号 Q943.1 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2007)32-10346-02

Study on the Tissue Culture of *Calceolaria crenatiflora* Seeds

XIONG Ying (Shenyang Shanhe Greening Engineering Co., Ltd, Shenyang, Liaoning 110161)

Abstract [Objective] The study aimed to grope the tissue culture techniques of *Calceolaria crenatiflora* seeds so as to solve the problem of low sowing propagation rate of *C. crenatiflora*. [Method] With *C. crenatiflora* seeds as explants, the tissue culture of *C. crenatiflora* was studied with different sterilization methods, media and stroma. [Result] Through sterilizing with 70% alcohol for 30 s, the contamination rate was lower, being 18.7% and the germination rate was higher, being 62.5%. The optimum medium for *C. crenatiflora* adventitious buds was MS + BA 1.0 ml/L + IAA 0.1 ml/L. The multiplication coefficient was up to 5.0. The plantlets grew vigorously with abundant cluster buds. The stroma of vermiculite + perlite was best for the cutting of plantlet, with the survival rate up to 63.0%. The tube plantlets through no rooting culture had higher cutting survival rate, reaching 60.0%, and that through rooting culture had cutting survival rate of 48.0%. [Conclusion] IAA had very obvious effect on the multiplication of *C. crenatiflora* adventitious buds. The tube plantlets of *C. crenatiflora* could be made for direct cutting through no rooting culture.

Key words *Calceolaria crenatiflora*; Seeds; Tissue culture

蒲包花(*Calceolaria herbeohybrida* Voss.),别名荷包花,为玄参科(Scrophulariaceae)蒲包花属(*Calceolaria*)2年生草本花卉,原产墨西哥、秘鲁、智利等地区。蒲包花花形奇特,花色丰富,是重要的春夏季盆栽花卉。蒲包花主要采用种子繁殖,但自然授粉结实较为困难,需进行人工授粉,种子价格较昂贵,另外,由于蒲包花种子细小,易失去生活力,常规播种的成苗率极低,且苗期极易出现猝倒病,导致蒲包花育苗困难。组织培养为繁殖困难的园艺作物提供了一条新途径。目前,有关蒲包花的组织培养研究很少,仅续武梅、赵秀芳、龙云铭对蒲包花的茎尖、叶柄、嫩叶和侧芽等器官的组织培养进行过报道^[1-3]。该试验对蒲包花种子的组织培养进行了初步研究,旨在摸索蒲包花种子组织培养技术,解决蒲包花种子播种繁殖率低的问题。

1 材料与方法

1.1 试验材料 蒲包花种子从泛美花卉公司购进,品种为黄金球(Gold Bunch)。

1.2 试验方法

1.2.1 培养基和培养条件。采用 MS 培养基为基本培养基,蔗糖 30 g/L,琼脂 6 g/L,pH 值为 5.8。温度 23℃±3℃,光照时数 14 h/d,光照强度 1 000~2 000 lx。

1.2.2 外植体消毒。采用 4 种消毒方法:只用无菌水浸泡(M1);浓度 70%酒精消毒 30 s(M2);浓度 2%新洁尔灭消毒 15 s(M3);浓度 0.1%升汞消毒 10 min(M4)。最后用无菌水冲洗 4 遍。

1.2.3 初代培养。将消毒后的蒲包花种子置于 MS 培养基中培养 30 d 后,记录种子成活率。

1.2.4 增殖培养。将初代培养基中培养 1 个月后生长出的

幼小植株转接到增殖培养基中。设计 7 种增殖培养基,培养 90 d 后统计不定芽增殖情况。

1.2.5 生根培养 将株高达 4 cm 的试管苗接种到生根培养基上,设计 6 种生根培养基,30 d 后调查生根率、根系长度、颜色等。

1.2.6 炼苗移栽。组培苗生根培养 30 d 后进行炼苗移栽,扦插基质分别为细河沙、蛭石、蛭石+珍珠岩(1:1)和草炭。并选生根和未经生根培养的试管苗各 50 株扦插到蛭石+珍珠岩(1:1)中比较扦插成活率。

2 结果与分析

2.1 不同消毒方法对种子发芽的影响 表 1 表明,不同消毒方法对接种污染率和种子萌发的影响不同。不经消毒直接用无菌水浸泡的方法种子死亡率低,为 10.8%,但污染率较高,为 35.8%;其他消毒试剂对种子都有不同程度杀伤,但污染率明显降低。其中用升汞处理的污染率最低为 0,但对种子的伤害也最大。浓度 70%酒精消毒 30 s,死亡率较低,萌发率最高达 62.5%,效果最好。

表 1 不同消毒方法对蒲包花种子接种污染和萌发的影响

消毒方法	接种数 粒	污染数 粒	污染率 %	萌发数 粒	萌发率 %	死亡数 粒	死亡率 %
无菌水浸泡	120	43	35.8	64	53.3	13	10.8
70%酒精 30 s	80	15	18.7	50	62.5	15	18.7
2%新洁尔灭 15 s	120	12	10.0	46	38.3	62	51.6
0.1%升汞 10 min	80	0	0	39	48.7	41	51.2

2.2 不同激素浓度对蒲包花不定芽增殖的影响 不定芽转入增殖培养基中 10 d 后开始迅速生长,25 d 后生成较多丛生芽,90 d 后,调查不同激素浓度对蒲包花增殖的影响(表 2)。BA 和 IAA 对蒲包花不定芽的生长作用不同,BA 浓度越大,植株长势越好,在培养基 MS+BA 0.25 上,蒲包花长势较弱,植株节间长,叶片少,叶色浅,而在培养基 MS+BA 0.5 上生长健壮,叶色深,叶片肥厚。同时可观察到 BA 对蒲

作者简介 熊英(1980-),女,辽宁辽阳人,助理工程师,从事花卉栽培与园林绿化方面的工作。

收稿日期 2007-06-22

表 2 不同激素浓度对蒲包花不定芽增殖的影响

培养基//mg/L	平均株高//cm	增殖系数//PQ	生长状况
MS+BA 0.25	3.2	1.6	长势较弱
MS+BA 0.5	4.2	1.9	芽少,弱
MS+BA 1.0	4.9	2.3	苗壮,芽少
MS+BA 2.0	4.7	2.4	苗壮,芽少
MS+BA 1.0+IAA 0.1	5.3	5.0	苗壮,芽多
MS+BA 1.0+IAA 0.5	5.1	5.5	苗壮,芽多
MS+BA 1.0+IAA 1.0	5.5	5.8	苗壮,芽多

包花芽的增殖没有明显作用,两个处理的芽都很少。在培养基 MS+BA 1.0+IAA 0.1~1.0 中,不定芽增殖较多,分别为5.0,5.5和 5.8。可见,IAA 对蒲包花不定芽增殖的作用很明显,且随 IAA 浓度增加,丛生芽与腋芽分化都增多,但由于丛生芽过多,导致不定芽生长缓慢且节间较短,转接操作不方便,且幼嫩组织生活力较差。所以,蒲包花不定芽增殖的最佳培养基为 MS+BA 1.0+IAA 0.1(图 1)。

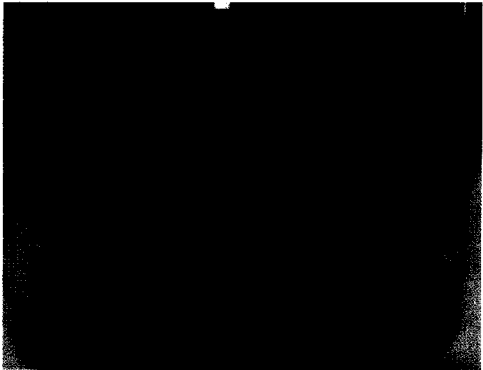


图 1 蒲包花试管苗在 MS+BA 1.0+IAA 0.1 上的生长情况

2.3 生根培养 蒲包花试管苗根的分化较难,NAA、IBA 浓度大小对生根效果作用不明显,在 MS+IBA 0.5 培养基中生根相对较好生根数达最多,为 3.9 条,且植株生长较高,但叶片有黄化现象(表 3)。

表 3 不同激素浓度对蒲包花试管苗生根的影响

培养基//mg/L	生根条数	植株生长状况
MS+NAA 0.5	1.5	苗高、叶黄
MS+NAA 1.0	2.5	苗高、叶黄
MS+NAA 3.0	2.2	苗较壮
MS+IBA 0.5	3.9	苗高、叶黄
MS+IBA 1.0	1.5	苗较高
MS+IBA 3.0	3.6	苗壮

2.4 不同基质对试管苗扦插的影响 细河沙、蛭石、蛭石+珍珠岩(1:1)和草炭 4 种基质对组培苗扦插成活有一定影

响。由表 4 可见,蛭石+珍珠岩对植株的扦插最好,成活率达到 63.0 %。在蒲包花增殖培养过程中,观察到有气生根生成。选长势健壮的植株直接用于扦插,与经过生根培养的植株作对比发现,不经生根培养的试管苗扦插成活率较高,可达 60.0 %,经生根培养的试管苗扦插成活率为 48.0 %,所以,蒲包花试管苗可不经生根培养直接扦插。

表 4 不同基质对蒲包花组培苗扦插成活率的影响

基质	扦插植株数	成活植株数	成活率//%
细河沙	50	24	48.0
蛭石	100	55	55.0
蛭石+珍珠岩 1:1	100	63	63.0
草炭	100	41	41.0

3 讨论

3.1 外植体的选择和消毒 叶片、茎尖等是组织培养最常见的外植体,但在蒲包花的叶片、茎尖等外植体基部在培养初期易发生褐化现象。该试验选取蒲包花的种子作为外植体,试验结果很好。由于种子的萌发对激素不敏感,对培养基的要求也不高,一般在不加激素的培养基上即可萌发、生长,蒲包花种子带菌不多,且种子很小,组织培养时萌发率可高达 62.5 %。另外,试验中还发现,种子的萌发也与种子保存时间的长短有关。当年采收的种子接种后萌发状况良好,而保存第 2 年的种子接种后则全部未能萌发,可能是因为寿命短,第 2 年接种时已失去生活力,所以应该及时组培。

3.2 组织培养法与常规播种法的经济效益比较 蒲包花种子市场售价为 35 元/5 000 粒,但常规播种的蒲包花出苗率仅为 2 %,折算下来每粒的实际价格为 0.35 元/粒,同时蒲包花幼苗易患猝倒病,加上出芽率降低,每盆花的成本就更高了。而组织培养可以提高萌芽率,增殖培养可使一个种子大量扩繁产生新植株,生产成本大大降低。组织培养的萌芽率为 62.5 %,增殖系数为 5.0,除去前期初代培养时间,一年内如果增殖转接 6 次,一年时间每粒种子可获得植株 1 万余株,可大大提高经济效益。

参考文献

[1] 裘文达.园艺植物组织培养[M].上海:上海科学技术出版社,1986.
[2] 赵兰勇.商品花卉生产与经营[M].北京:中国林业出版社,1999.
[3] 续武梅.蒲包花快速繁殖技术的研究[J].山西大学学报:自然科学版,2002,25(3):254-257.
[4] 赵秀芳.荷包花的组织培养技术[J].林业实用技术,2005(1):40-41.
[5] 龙云铭,李洪林,杨波.荷包花的组织培养[J].植物生理学通讯,2004,40(1):58.

GB/T 7714-2005

著录用符号

(1)著录用符号为前置符。参考文献中的第一个著录项目,如主要责任者、析出文献主要责任者、专利申请者或所有者前不使用任何标志符号(按顺序编码制组织的参考文献表中的各篇文献序号可用方括号,如:[1].[2]……)。

(2)参考文献使用下列规定的标志符号:

·用于题名项、析出文献题名项、题名、其他责任者、析出文献其他责任者、连续出版物的“卷、期、年、月或其他标志”项、版本项、出处项、专利文献的“公告日期或公开日期”项、获取和访问路径以及“著者-出版年”制中的出版年前。每一条参考文献的结尾可用“.”等。

:用于其他题名信息、出版者、引文页码、析出文献的页码、专利国别前。

,用于同一著作方式的责任者、“等”或“译”字样、出版年、期刊年卷期标志中的年或卷号、专利号、科技报告号前。

;用于期刊后续的年卷标志与页码以及同一责任者的合订题名前。

//用于专著中的析出文献的出处项前。

()用于期刊年卷期标志中的期号、报纸的版次、电子文献更新或修改日期以及非公元纪年。

[]用于文献序号、文献类型标志、电子文献的引用日期以及自拟的信息。

/用于合期的期号间以及文献载体标志前。

-用于起讫序号和起讫页码间。