【实验技术研究】

虎斑海棠的组织培养和快速繁殖

栾舒雅, 张沙艳

(抚顺师专, 辽宁抚顺 113006)

摘要: 实验以虎斑海棠叶片为外植体, 探讨了生长调节物质对外植体诱导分化、生根的影响。结果表明: $MS + (6-BA)_{1mg/L} + NAA_{0.2mg/L}$ 和 $MS + (6-BA)_{2mg/L} + NAA_{0.2mg/L}$ 是虎斑海棠离体叶片不定芽产生的适宜培养基, 在 $MS + NAA_{0.5mg/L}$ 上的生根率达 90%, 长成完整的再生植株, 达到快速繁殖的目的。

关键词: 虎斑海棠; 组织培养; 快速繁殖; 诱导分化; 生根培养

中图分类号: Q949.759.7

文献标识码: A

文章编号: 1008-5688(2007)02-0100-02

虎斑海棠 (*Begonia laciniata* Roxb), 又名红孩儿、裂叶秋海棠, 为秋海棠科秋海棠属多年生常绿草本植物, 高 15~60 cm, 根茎粗长, 地上茎直立或匍匐状, 多少被褐色绵毛, 叶膜质, 叶片广心脏卵形, 呈多角状或不规则的 5~7 裂, 边缘有小锯齿及睫毛, 上面绿色, 略被柔毛, 下面淡绿色或淡紫色, 被褐色绵毛, 雌雄同株, 花淡红色, 花期 6~8 月, 其叶片斑斓, 株形紧凑, 是优良的观叶植物^[1]。虎斑海棠还具有药用价值, 其全株入药, 《广西药植名录》记载: “全株: 治风湿骨痛, 肚痛, 消化不良。根: 治吐血。”《陆川本草》记载: “叶: 消炎解毒、治疗疮, 痈肿, 小便淋沥, 蛇咬伤”^[2]。

近年来, 虽然对秋海棠科观赏植物的组织培养和快繁技术多有报道^[3,4], 但本品种的组织培养和快繁却鲜有报道, 本实验用组织培养方法对虎斑海棠叶片进行诱导增殖, 直接生成不定芽, 并使不定芽增殖, 达到快速繁殖的研究目的, 希望能为这一品种试管苗的快繁和大规模工厂化生产提供参考。

1 材料和方法

1.1 材料

2002 年 9 月, 采摘自抚顺师专生化系花窖中刚伸展开、无病虫害的虎斑海棠叶片做为实验材料。

1.2 实验方法

将采摘的虎斑海棠叶片简单处理后流水冲洗 30 min, 置于超净工作台上, 用 75% 酒精浸泡 30 s, 0.1% 的升汞浸泡 7 min, 并用无菌蒸馏水冲洗 3~5 遍, 用无菌纱布或无菌滤纸吸干水分, 将其剪裁成 0.5~0.8 cm² 小块。

以 MS 培养基做为基本培养基, 添加浓度为 1~3 mg/L 的 (6-BA)、浓度为 0.2 mg/L 的 NAA 作为诱导增殖培养基。各培养基均附加 30 g/L 蔗糖、7 g/L 琼脂, pH5.8。所有培养基均在 121 ℃、108 MPa 高温高压下灭菌 20 min。

将剪裁好的叶片小块分别接种在上述培养基上, 每瓶接 4 块, 重复 3 次, 放入培养温度为 20~25 ℃、每天光照 12~14 h、光照强度为 1 500~2 000 lx 的培养室内, 随时观察生长分化状态, 统计结果。

增殖的不定芽转入相应的增殖培养基中继代培养, 当分化出约 2 cm 的无根苗时, 转入生根培养基, 以 MS 为基本培养基, 添加 NAA 浓度为 0.5 mg/L, 每瓶接 7~10 株, 观察记录生根情况^[5]。

2 实验结果

2.1 诱导分化培养

将外植体接种到诱导增殖培养基上 1 周后, 即可看到组块增厚、皱曲, 切口处粗糙, 1 个月后逐渐在切口处出现不定芽。不同的培养基诱导分化效果略有不同, 见表 1 (见 101 页)。结果显示: $MS + (6-BA)_{1mg/L} + NAA_{0.2mg/L}$ 和 $MS + (6-BA)_{2mg/L} + NAA_{0.2mg/L}$ 两种培养基是虎斑海棠离体叶片产生不定芽的适宜培养基; (6-BA) 为 0.5 mg/L 时叶片产生不定芽, 但发生率低, 再生不定芽数量少, (6-BA) 为 3

收稿日期: 2005-05-20

作者简介: 栾舒雅 (1963-), 女, 辽宁抚顺市人, 副教授, 主要从事植物组织培养和植物生理方面研究。

mg/L 时叶片不定芽发生率亦略有降低。

2.2 继代培养

将得到的不定芽及组织块分切, 转接到 MS+ (6-BA)_{1mg/L} + NAA_{0.2mg/L} 和 MS+ (6-BA)_{2mg/L} + NAA_{0.2mg/L} 培养基中继代培养, 可得到越来越多的不定芽, 每块培养物可长出十几个到几十个小苗芽。最初每 4~6 周能增殖 3~4 倍, 当继代数次之后, 每 4~6 周可扩大增殖 6~10 倍。

2.3 生根培养

在继代培养过程中, 随着培养时间的增长, 在不定芽的根部可以生出不定根, 利用一步生根途径即可得到完整的再生植株, 但所得根系较弱。

不定芽的产生是不同步的, 同一块外植体上可以观察到大小不等的芽。选取继代培养基中生长分化出 2~3 片真叶时的芽, 将其切割成单芽, 转接到生根培养基 MS+ NAA_{0.5mg/L} 上诱导生根, 3 周后可长出数条不定根, 苗高约 3 cm, 成为健壮的完整植株, 生根率达 90%。

2.4 驯化和移栽

试管苗生根后, 连瓶苗一起放入温室中, 以适当光照、温度、湿度炼苗 3~5 d 后, 打开封口膜, 小心取出分化苗, 洗掉根部的培养基, 注意防止幼苗折断、伤根, 移栽到灭菌土壤或蛭石中, 罩薄膜保湿, 防杂菌感染, 放在散射光下, 注意通风, 保持环境温度在 20~25 ℃、相对湿度 75% 左右, 后期逐渐加大通风时间和次数, 增加自然光照, 防止有害菌类的污染, 幼苗移栽成活率达 75%~85%。

3 讨论

通过组织培养, 经过不定芽直接培育成再生植株, 繁殖速度快, 繁殖系数高, 遗传性状稳定^[6], 从实验结果可以看出, 虎斑海棠叶片接种在适宜的培养基上经过诱导分化和增殖培养, 出苗速度较快, 出苗率高, 该方法可为虎斑海棠的快速繁殖提供一条新途径。

参考文献:

- [1] 中国科学院植物研究所. 中国高等植物图鉴 [M]. 北京: 科学出版社, 1972.
- [2] 江苏新医学院. 中药大词典 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1986.
- [3] 黄济明. 球根秋海棠的组织培养 [J]. 植物生理学通讯, 1984, 20(2):38.
- [4] 刘玉贞. 用组织培养快速繁殖球根海棠 [J]. 植物生理学通讯, 1985, 21(3):30.
- [5] 王清连. 植物组织培养 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2002. 7.
- [6] 谭文澄, 戴策刚. 观赏植物组织培养技术 [M]. 北京: 中国林业出版社, 1997. 8.

(责任编辑 刘守华, 于海)

(上接 3 页)

例 设 $A = \begin{bmatrix} 1 & 2 & 2 \\ 2 & 1 & 2 \\ 2 & 2 & 1 \end{bmatrix}$, 因为 $\lambda_1 E - A = \begin{bmatrix} 4 & -2 & -2 \\ -2 & 4 & -2 \\ -2 & -2 & 4 \end{bmatrix}$ 和 $\lambda_2 E - A = \begin{bmatrix} -2 & -2 & -2 \\ -2 & -2 & -2 \\ -2 & -2 & -2 \end{bmatrix}$ 的秩分别为

2 与 1, 故 A 可对角化, 其中 $\lambda_1 = 5$, $\lambda_2 = -1$ (二重) 为 A 的特征根. 又因可以选取 $\begin{bmatrix} 2 \\ -1 \\ -1 \end{bmatrix}$ 和 $\begin{bmatrix} 1 \\ -2 \\ 1 \end{bmatrix}$ 为

$\lambda_1 E - A$ 的列空间的一个基, 故这两个向量是属于 λ_2 的线性无关的特征向量, 同理, $\begin{bmatrix} 1 \\ 1 \\ 1 \end{bmatrix}$ 是属于 λ_1 的特

征向量.

(责任编辑 任冬, 于海)