

非洲堇无根苗的试管内外生根研究

邢朝斌, 代久凤, 高艳草 (华北煤炭医学院生物科学系, 河北唐山 063000)

摘要 以非洲堇的无根苗为试材, 研究了其试管内和试管外的生根情况。结果表明, 试管内生根以 1/2 MS+0.20 mg/L NAA 处理的生根情况最好, 生根率为 100%, 平均生根数量 35 条, 平均根长 16.4 mm; 试管外的生根率为 98%, 平均根长为 15~20 mm, 平均生根 27 条。

关键词 非洲堇; 不定根; 组培苗

中图分类号 Q943.1 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2007)32-10245-01

Research on Rooting of *Saintpaulia ionantha* in Vitro and in Vivo

XING Zhao-bin et al (Department of Biology, North China Coal Medical College, Tangshan, Hebei 063000)

Abstract Taking rootless seedlings of *Saintpaulia ionantha* as materials, the rooting of *Saintpaulia ionantha* in vitro and in vivo was researched. The results indicated that the rooting of *Saintpaulia ionantha* in vitro was best when treated with 1/2 MS+0.2 mg/L NAA. In this condition, the rate of rooting was 100%, the average number of roots was 35, and the average length was 16.4 mm. while the rate of rooting in vivo was 98%, the average length of roots was 15~20 mm, and the average number of roots was 27.

Key words *Saintpaulia ionantha*; Adventitious root; Microplants

非洲堇(*Saintpaulia ionantha*)属苦苣苔科非洲堇属多年生草本花卉^[1]。原产于非洲东部的坦桑尼亚, 观赏价值及商品价值高, 现有 2 000 多个品种, 在世界各地广泛栽培。其常规繁殖采用叶片扦插, 每张叶片在 2~3 个月内仅长出 3~5 个小植株, 繁殖系数低^[2]。组织培养是快速繁殖非洲堇的有效途径, 具有再生植株完整、生根率高等优点。关于非洲堇的组织培养与离体再生技术已有报道^[1-2], 但是通过组织培养途径再生的小植株过于密集, 不易分化成根。为此, 笔者在前人工作的基础上, 比较了非洲堇无根苗的试管内和试管外的生根条件, 以期建立适应园艺生产的非洲堇无根苗的生根技术体系。

1 材料与方法

1.1 材料 选取生长健壮、洁净植株的新成长叶, 从近中心处叶柄基部切断, 用细毛刷轻轻刷洗叶片表面茸毛, 去掉叶柄的嫩叶叶片。经流水冲洗 30 min 后, 沥净水分, 在超净工作台上用浓度 75% 的酒精浸润 30 s, 再用浓度为 0.1% 的升汞溶液消毒 7~8 min, 经无菌水冲洗 5~6 次, 充分去除残留的升汞。将消毒好的叶片切成 0.5~1.0 cm 的小块接种在 MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L+0.3% 活性炭+琼脂 0.7%+蔗糖 3.0% 的培养基上, 放在温度为(25±1)℃的培养室里培养 30 d, 产生不定芽后, 将丛生芽分割转入 MS+NAA 0.1 mg/L 的培养基中培养 20 d, 获得无根苗备用。

1.2 方法

1.2.1 试管内生根试验。在无菌操作台上, 将获得的无根苗自基部从愈伤组织上切下后, 垂直接种入生根培养基 0.2 mm, 培养 30 d 后调查生根情况。

生根培养基设置有: 1/2 MS (对照); 1/2 MS+0.2% 活性炭; 1/2 MS+椰汁 50 ml/L; 1/2 MS+NAA 0.02 mg/L; 1/2 MS+NAA 0.05 mg/L; 1/2 MS+NAA 0.20 mg/L; 1/2 MS+NAA 0.50 mg/L 等不同组合, 各组合均重复 6 次。采用 100 ml 三角瓶, 每瓶 40 ml 培养基, 每处理 20 瓶, 每瓶 5~6 个外植体、蔗糖 3%、琼脂 0.5%, pH 值 5.8。光培养 12 h/d, 温度(25±1)℃, 光照强度 1 500~2 000 lx。

作者简介 邢朝斌(1975-), 男, 河北定州人, 讲师, 从事药用植物细胞工程的研究。

收稿日期 2007-06-21

1.2.2 试管外生根试验。取生长健壮无畸形的无根苗, 无须炼苗直接出瓶后剪去坏死叶片及愈伤组织, 保留 4~5 片叶子, 再用清水洗净无根苗黏附的培养基, 扦插入 1% 百菌清处理的珍珠岩中, 其上覆盖塑料薄膜, 保持 85% 的空气湿度和 70% 的基质湿度。

2 结果与分析

2.1 试管内生根试验结果(表 1) 由表 1 可知, 非洲堇在试管内非常容易生根, 在没有添加任何激素和其他物质的 1/2 MS 培养基中, 所有的无根苗均能产生较多数量的不定根(16 条), 但平均根长较短(2.5 mm), 且根细弱, 移栽后成活率低。培养基中附加活性炭和椰汁后, 生根情况也未显著提高。当培养基中添加不同浓度的 NAA 后可显著提高无根苗的不定根数量和长度。其中添加 0.2、0.5 mg/L NAA 处理的不定根数量和长度均显著高于对照和其他组合($P < 0.01$), 但 0.5 mg/L NAA 处理的非洲堇幼苗和新产生的不定根均有不同程度的畸形。因此, 添加 0.2 mg/L NAA 处理最有利于非洲堇的试管内生根。

表 1 不同培养基对非洲堇试管内生根的影响

培养基	生根率 %	生根数量 条	平均根长 mm	根的生长势
1/2 MS	100	16	2.5	弱
1/2 MS+活性炭 0.2 %	100	15	2.4	弱
1/2 MS+椰汁 50 mg/L	100	18	3.2	弱
1/2 MS+NAA 0.02 mg/L	100	17	9.8*	较好
1/2 MS+NAA 0.05 mg/L	100	19	11.6**	较好
1/2 MS+NAA 0.20 mg/L	100	35**	16.4**	良好
1/2 MS+NAA 0.50 mg/L	100	32**	18.2**	畸形

2.2 直接出瓶培养生根试验结果 出瓶 15 d 后, 97% 的无根苗自基部切口处产生乳白色的不定根, 在 30 d 时不定根的平均根长为 15~20 mm, 平均产生不定根 27 条, 且植株较试管内的无菌苗更为健壮, 叶色墨绿, 有光泽, 苗高(4.2 cm)也略高于试管内的无菌苗(3.7 cm)。

3 结论与讨论

非洲堇在试管内和试管外均可产生不定根。其中 1/2 MS+NAA 0.20 mg/L 有利于无根苗在试管内生根。试管内的生根率略高于试管外的生根率, 但两者无统计学上的差异。试管外生根的幼苗个体健壮, 长势明显优于试管内的植株。

(下转第 10247 页)

表 1

2,4-D 浓度对甘蔗外植体愈伤组织诱导的影响

培养基号	2,4-D 浓度//mg/L	诱导率//%	愈伤组织生长状况//%				愈伤组织生长类型//%		
			0 级	1 级	2 级	3 级	紫红紧密	淡黄紧密	半透明淡灰色
1	1.5	86.8	13.2	43.4	20.0	23.4	13.1	53.8	33.1
2	2.0	96.4	3.1	6.8	36.8	53.3	18.7	65.6	15.7
3	2.5	100.0	0	3.2	23.7	73.1	26.7	66.7	6.6
4	3.0	100.0	0	3.3	40.0	56.7	23.3	70.0	6.7
5	3.5	100.0	0	3.6	29.7	66.7	23.0	66.7	10.3
6	4.0	93.6	6.3	16.4	40.5	36.8	12.1	51.5	36.4
7	4.5	86.8	13.1	23.1	30.3	33.5	10.2	20.5	40.3
8	5.0	76.7	23.2	28.5	39.7	8.6	6.7	23.3	66.7

注:0 级为有一点生长,没利用价值;1 级为愈伤组织块<0.5 cm,长势一般;2 级为愈伤组织块 0.5~1.0 cm,长势较好;3 级为愈伤组织块大于 1.0 cm,长势好。

3.0、3.5 mg/L 3 个处理的愈伤组织块长势较好(2 级)和长势好(3 级)的合计比例相近,没有明显的差异,但是在 2.5 mg/L 的处理中,愈伤组织块长势好的(3 级)比例是 73.1%,高于 3.0、3.5 mg/L 两个处理。

2.1.3 2,4-D 浓度对愈伤组织质量的影响。表 1 表明,愈伤组织在 2,4-D 浓度为 2.5、3.0、3.5 mg/L 3 个处理的培养基中生长质量比较好,大部分愈伤组织呈淡黄色、颗粒状、质地紧密,有少量愈伤组织还是紫红色、颗粒状、质地致密的,分别占 26.7%、23.3%、23.0%;而在 2,4-D 为 1.5、2.0、4.0、4.5 和 5.0 mg/L 的 5 个处理中,虽然也有紫红色的愈伤组织,所占比例分别为 13.1%、18.7%、12.1%、10.2%、6.7%,但是出现易老化、粘化的半透明、淡灰色光滑型愈伤组织的比例较高,分别是 33.1%、15.7%、36.4%、40.3%和 66.7%。

2.2 愈伤组织的分化 将不同浓度 2,4-D 的 8 个处理所产生的愈伤组织块(30 块)转入愈伤组织分化培养基(KT 1.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L+IBA 0.5 mg/L)中,7 d 后愈伤组织表面出现绿色芽点,2 周左右有部分绿色芽点发育成芽,3 周后芽发育成叶片。试验结果(表 2)表明,2,4-D 浓度为 2.5、3.0、3.5 mg/L 3 个处理所产生的愈伤组织块在分化培养基中的分化率都比较高,尤其以 2.5 mg/L 的处理分化率最高,达到 100%。

表 2 甘蔗愈伤组织分化的基本情况

培养基号	2,4-D 浓度//mg/L	有芽分化出的愈伤组织块数	分化率//%
1	1.5	16	53.3
2	2.0	23	76.7
3	2.5	30	100.0
4	3.0	28	93.3
5	3.5	27	90.0
6	4.0	22	73.3
7	4.5	15	50.0
8	5.0	10	33.3

据有关报道,紫红色紧密状的甘蔗愈伤组织绿苗分化率高^[1]。这与试验所得结果相符,在愈伤组织分化培养中观察到,凡是呈半透明淡灰色光滑型的愈伤组织,容易出现老化、粘化以及不正常分化现象;紫红色紧密状和淡黄色紧密状愈伤组织比较容易出现绿芽分化。所以,2,4-D 浓度对甘蔗心叶愈伤组织的诱导、愈伤组织生长和质量都有很大影响,2.5 mg/L 2,4-D 比较适合粤糖 95-168 号心叶愈伤组织的

(上接第 10245 页)

组培苗应用于生长过程中除了技术上的考虑以外,还应从生产成本的角度节约开支,降低成本。该试验表明,相对于试管内诱导生根而言,直接出瓶试管外生根由于减少了试管内的培养时间和驯化步骤,更符合工业化大规模生产的要求。

生长。

2.3 愈伤组织分化苗的生根培养结果 选取健壮的甘蔗绿苗从基部切断后插入生根培养基中培养,7 d 后可以看到有白色的根长出,20 d 后根已长得很健壮,成为完整的再生植株。表 3 表明,在没有添加 NAA 的培养基中,幼苗生根不明显,而在添加 NAA 的培养基中,幼苗生根现象非常明显,可见 NAA 对甘蔗幼苗生根有十分重要的作用。另外,丰富的营养不利于甘蔗幼苗生根,所以在选择生根培养基时以 1/2 MS 作为基本培养基。从 10 种培养基的处理中可以看出,1/2 MS+NAA 1.0 mg/L+AC 0.05% 的培养基有利于诱导甘蔗幼苗生根。

表 3 甘蔗幼苗生根的基本情况

培养基号	基本培养基+AC0.05%	NAA mg/L	接种数株	生根率%
1	MS	0	30	0
2	MS	0.5	30	40
3	MS	1.0	30	80
4	MS	2.0	30	70
5	MS	3.0	30	50
6	1/2MS	0	30	20
7	1/2MS	0.5	30	80
8	1/2MS	1.0	30	100
9	1/2MS	2.0	30	90
10	1/2MS	3.0	30	70

3 结论与讨论

试验结果表明,诱导粤糖 95-168 号心叶产生愈伤组织,使用 2,4-D 浓度以 2.5 mg/L 为佳,其诱导的愈伤组织增殖快,色紫红或淡黄,质地致密,质量好,在分化培养过程中分化率高。另外,试验中发现生根培养基中不添加外源激素处理的甘蔗幼苗几乎不生根,可能是内源激素水平低,不能对根原基产生足够的诱导,但是高浓度外源激素也会抑制生根。所以,在植物组织培养工作、科研和实践中,要充分考虑到植物的内源激素水平,以获得理想的效果。

参考文献

- [1] 广西壮族自治区甘蔗组织培养育苗协作组.甘蔗组织培养育苗试验[J].广西农业科学,1980(8):32.
- [2] 陈彪,梁钾贤,陈伟栋,等.甘蔗组织培养配方中不同激素效应的研究[J].华南农业大学学报,2001,2(1):60-62.
- [3] 罗素兰,陈如凯.甘蔗组织培养中的培养基的优化[J].海南大学学报:自然科学版,2002(6):120-124.
- [4] 黄诚梅,李杨瑞,叶燕萍.甘蔗组织培养与快速繁殖[J].作物杂志,2005(4):25-26.

参考文献

- [1] 张晓军.非洲紫罗兰组织离体培养及快速繁殖[J].东北林业大学学报,2004,32(2):107-108.
- [2] 曹秀敏,刘宏敏,张明,等.非洲紫罗兰的组织培养和离体再生[J].河南大学学报:自然科学版,2005,35(2):61-62,66.