

竹节秋海棠的组织培养与液培快速繁殖

戴策刚 谭文澄

(四川师范大学生物系, 成都)

摘要 本文叙述竹节秋海棠 (*Begonia President-Carnot*) 的器官培养与植株再生。用幼叶及叶柄切段接种在附加不同浓度的BA及NAA的MS培养基上, 以诱导芽与根的形成, 经6—9周可再生出大量完整植株, 年增殖率很高。幼苗移植成活率约95%。经试验竹节秋海棠的芽增殖与生根两步培养都已采用免去琼脂的液体培养基静置培养。液体培养比固体培养有生长快、出苗多、成本低等优点。

关键词 组织培养; 竹节秋海棠; 液培快速繁殖

目前观赏植物采用组织培养方法作快速繁殖日见普遍^[1,2]。秋海棠是著名的观赏花卉之一, 其中不少还兼具药用功效, 又因栽培简易和形态发生能力较强, 常用于分化和植株再生等研究。自1968年Heide^[17]和Ringe^[21]用于离体培养后, 陆续见有报告^[7,18,20-22]。但对竹节秋海棠 (*Begonia President-Carnot*)^[3,4]快速繁殖的报道却较鲜见。本文叙述竹节秋海棠的组织培养与植株再生, 以及采用液体静置培养的快速繁殖方法。

竹节秋海棠植株较高大, 茎节酷似竹节而得名, 叶长圆形而偏斜, 先端尖, 表面绿色, 有多数白色小斑点, 背面深红色, 叶边缘波状, 花及花梗深红色, 色彩对比强烈, 艳丽动人, 花期长达6—8个月, 栽培得当全年有花, 盆植地栽皆宜, 姿态优雅大方。常以扦插法繁殖, 增殖率较低, 又受季节限制, 扦插苗杆长节稀, 株型欠佳。组织培养方法可克服上述缺点, 并实现快速繁殖, 年增殖率可达数十万倍。现将研究结果报告于后。

一、诱导芽形成

采已平展之幼叶及叶柄, 清洗后切成大块, 在超净台上经0.1%升汞加数滴吐温-20, 作表面灭菌6分钟, 无菌水漂洗8次后, 将叶切成8—12毫米见方或长方形, 叶柄切成5—8毫米小段, 叶腹面向上, 叶柄平放, 接种于MS培养基^[19]上, 按试验要求附加不同激素配比, 共用了三种分化培养基(单位为毫克/升): (1) MS+BA2+NAA 0.2; (2) MS+BA1+NAA 0.1; (3) MS+BA 1+2,4-D 0.5, 以启动细胞分裂和诱导芽形成。接种后放在温度为26—30℃, 光强800—2400 lux, 每天日光灯辅助照明16小时的培养室中培养。3周后, 可见从叶及叶柄切口处长出淡绿色或略带红色的愈伤组织, 叶片长大增厚, 部分叶切块向背面卷曲。三种培养基中以(3)、(2)两种效果较好, (1)的BA用量过高, 外植体生长较慢。4—5周后在愈伤组织及叶表面都可发现大量的小红点, 经解剖镜观察是密集的小红芽。这时将培养物转入新鲜的培养基上继续培养, 较大的培养物再分切。初期全部采用固体培养, 据试验采用液体培养具有更好的效果。

本工作是广西壮族自治区科委资助的“花卉的快速繁殖研究”课题的一部分。

在MS+BA 0.5+NAA 0.1的增殖培养基上, 4周后有一些小芽长成几到十几毫米的小苗, 幼叶展开后逐步变成绿色有小白点的叶, 每块组织上有小苗十几个到几十个之多。用放大镜即可计数。在100毫升三角瓶中小苗多达七、八十到近200个, 这样的材料可继代增殖以获得更多的无根幼苗, 每6周约可增加3—4倍(图版Ⅳ: 1)。

二、诱导生根和移栽

上述一部分15—20毫米以上的大苗, 在继代时切成单苗转移到生根培养基($\frac{1}{2}$ MS+NAA 0.2)上诱导生根, 经4周便长出数条不定根, 形成3—5厘米高的完整再生植株。幼苗先移植于灭过菌的蛭石中, 在荫棚下勤加管护, 成活率在90%—95%以上, 一个月后可定植于盆土中。放置荫蔽处。

从采样接种到出苗移栽, 固体培养需90—120天, 生长周期较长, 琼脂费用较高, 不利于大规模的生产应用, 我们参考甘蔗液培^[6]后, 亦改为液培, 获得了令人满意的效果(图Ⅳ: 2、3)。

三、液体静置培养快速繁殖

液体培养比固体培养生长快, 文献已介绍^[6], 但往往需振摇或旋转, 我们采用浅层液体静置培养, 节省设备投资, 扩大空间利用, 便于推广。液培分两步, (1)芽增殖: 培养基为MS+BA 1+NAA 0.1; (2)生根: 培养基为 $\frac{1}{2}$ MS+NAA 0.2。液体培养基除免加琼脂外, 其余与固体培养基完全相同。设计了液、固培养的对比试验, 灌注等量的培养基, 接种等量的培养物。为保证培养物对通气的要求, 液体加量经预试确定, 200—250毫升三角瓶中为25—28毫升, 使液层保持4—6毫米左右, 液层过深培养物会因通气不良而失绿、发黑, 生长停止以致死亡。一般要求培养物有 $\frac{1}{2}$ 至 $\frac{2}{3}$ 的部分露于液体之上, 即可生长良好。经过一周的培养即可发现无论增殖继代或诱导生根阶段, 液体培养都比固体培养好, 表现在小苗长得格外鲜嫩, 伸枝展叶较快。三周后在远处即可分辨出两者有明显差异。在两种培养基上培养20天后幼苗的株高与瓶苗体积数据见表。

液体与固体培养对竹节秋海棠生长的影响

类别	重 复 项 目	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	平均	%
固体培养	株高(毫米)	7	12	17	9	13	11	8	12	11	10	9.80	100.00
	全瓶苗体积(毫升)	1.73	1.92	2.11	1.85	1.90	1.65	1.76	1.96	1.88	1.84	1.86	100.00
液体培养	株高(毫米)	38	46	45	55	52	55	56	60	54	47	50.80	518.37
	全瓶苗体积(毫升)	16.25	14.37	16.44	18.10	17.35	12.85	16.67	17.92	16.23	14.42	16.06	863.44

每瓶接种3苗, 以最高一株计株高。体积测定是将全瓶苗置入量筒, 用漏斗压住, 用容量瓶加水100.00毫升, 再用移液管吸出超过100.00毫升刻度以上的水, 计出体积, 减去漏斗体积后, 作为全瓶苗体积。

从表列资料可见, 采用液培, 20天后幼苗已获充分生长, 平均苗高可达5厘米, 而固体培养的苗高仅1厘米, 按体积计则液体培养超过固体培养的竟达7倍之多。液培20天的幼苗超过固体培养50—70天的幼苗。竹节秋海棠在液体培养基中生根的效果也良好, 苗粗壮, 根

系发达, 移栽更易成活。

竹节秋海棠在液体培养基中生长快速的原因, 文献^[5]中曾指出, 如养分的吸收面积扩大、养分交流补充快捷, 以及代谢产物分散, 自体抑制效应减弱等等。此外, 我们认为琼脂中可能含有不利于生长的杂质, 致使竹节秋海棠的新陈代谢受到削弱而生长减慢。

液体培养由于培养基用量少, 不能维持较久的生长, 通常需在25—30天内即行继代或转入生根, 已生根的宜及时出瓶种植。如有耐高温无毒塑料压型垫片置瓶内, 或特制异型底部的容器投入应用, 将允许放入较多的液体培养基, 以适应较长久的培养需要。

参 考 文 献

- [1] 罗士韦, 1979: 植物组织培养在花卉上的应用。植物生理学通讯, (3): 1—9。
- [2] 罗士韦1978: 植物组织与细胞培养研究工作的进展及其应用。植物生理学报, 4(1): 91—108。
- [3] 南京中山植物园, 1982: 花卉园艺。315—317, 江苏科技出版社。
- [4] 王意成, 1982: 秋海棠。35—36, 江苏科技出版社。
- [5] 中国科学院上海植物生理研究所细胞室, 1978: 植物组织和细胞培养。上海科技出版社。
- [6] 曾吉恕, 1985: 甘蔗芽器官液体培养工厂育苗新技术的研究, 技术鉴定书。广西壮族自治区科委, (4): 6—11。
- [7] 杨乃博、迟静芬, 1979: 用组织培养方法繁殖十种植物的试验。植物生理学报, 5(4): 369—377。
- [8] 倪德祥等, 1982: 斑叶秋海棠器官培养幼苗。植物杂志, (2): 22。
- [9] 李洲, 1983: 根皮苷对莲叶海棠、月季、雪松器官离体培养的效应。植物生理学通讯, (4): 37—39。
- [10] 黄济明, 1984: 球根海棠的组织培养。植物生理学通讯(2): 38。
- [11] 黄济明, 1984: 几种观叶植物的组织培养。植物生理学通讯, (2): 37。
- [12] 庄承纪等, 1985: 银星秋海棠无性系通过离体两步培养的快速繁殖。云南植物研究, 7(1): 121—124。
- [13] 郑若仙, 1985: 毛叶秋海棠叶片组织培养快速繁殖。云南植物研究, 7(1): 125—127。
- [14] 刘玉贞, 1985: 用组织培养快速繁殖球根海棠。植物生理学通讯, (3): 30。
- [15] 桂耀林, 1985: 竹节海棠(*Begonia coccinea*)叶培养年产小苗百万株。中国花卉盆景, (7): 6。
- [16] Appelgren, M., 1985: Effects of supplementary light to mother plants on adventitious shoot formation in flower peduncle segments of *Begonia x hiemalis* Fotsch in vitro. *Scientia Horticulturae*, 25(1): 77—83。
- [17] Heide, OM., 1968: Auxin level and regeneration of *Begonia* leaves. *Planta*, 81: 153—159。
- [18] Mikkelsen, EP. and Sink, KC., 1978: In vitro propagation of *Rieger Elatior Begonias*, *HortScience* (13): 242—244。
- [19] Murashige, T. and Skoog, F., 1962: A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures, *Physiol. Plant* (15): 473—497。
- [20] Peck, DE. and Cumming, BG., 1984: In vitro Propagation of *Begonia x tuberbybrida* from leaf sections, *HortScience*, 19(3): 395—397。
- [21] Ringe, F. and Nitsch, JP., 1968: Conditions leading to flower formation on excised *Begonia* fragments cultured in vitro. *Plant and Cell Physiol.* (9): 639—652。
- [22] Simmonds, J., 1984: Induction, growth and direct rooting of adventitious shoot of *Begonia x hiemalis*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 3(4): 283—289。

RAPID PROPAGATION OF BEGONIA PRESIDENT-CARNOT BY STATIC LIQUID CULTURE

Dai Ce-gang and Tan Wen-cheng

(Department of Biology, Teachers University of Sichuan, Chengdu, Sichuan, China)

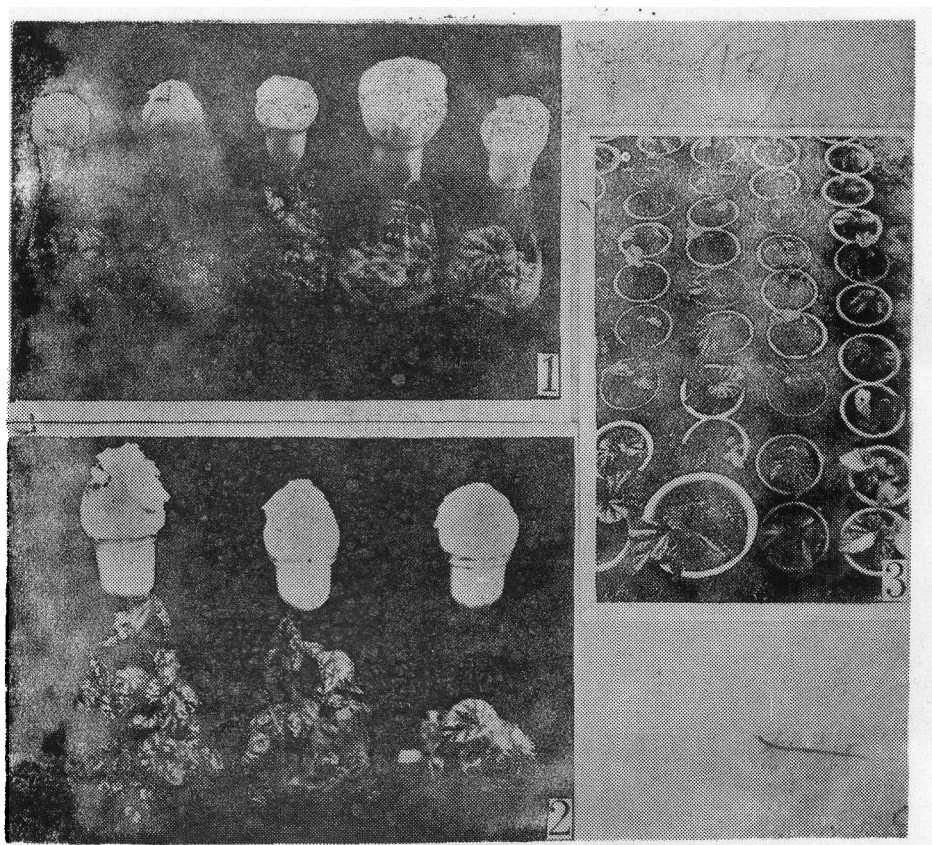
Abstract This paper reports the organ culture and plantlets regeneration of Begonia President-Carnot. Young leaf and petiole segment explants were inoculated on the MS solid medium supplemented with various concentration of 6-benzyladenine and NAA to induced shoots and roots formation, after 6—9 weeks, a lot of complex plantlets were regenerated. Plantlets have been transplanted into vermiculite and soil, viable rate about ninety-five percentage. Experiments indicated that solid medium can be replaced by liquid one for shoots multiplication and rooting of Begonia President-Carnot. The advantages of liquid culture are the growth of plantlets more rapid than that by means of solid culture, shoot regenerated more than solid culture, and decrease in cost etc.

Key words Static liquid culture; Begonia President-Carnot; Rapid propagation

戴策刚等：竹节秋海棠的组织培养与液培快速繁殖

Dai Ce-gang et al. Rapid propagation of Begonia Presidet-Carnot by static liquid culture

图版 IV
Plate IV



1. 竹节秋海棠增殖阶段，第 1、3、5 瓶为液体培养基，第 2、4 瓶为固体培养基
2. 竹节秋海棠生根阶段，左、中为液体培养基，右为固体培养基
3. 竹节秋海棠试管苗种植成活已移栽到土壤中