

红斑秋海棠的组织培养和植株再生

鲁元学¹, 神户敏成², 管开云^{1,*}, 李宏哲¹

¹中国科学院昆明植物研究所, 昆明 650204; ²日本国富山县中央植物园, 日本富山 939-2713

Tissue Culture and Plantlet Regeneration of *Begonia rubropunctata* S. H. Huang et Shui

LU Yuan-Xue¹, GODO Toshinari², GUAN Kai-Yun^{1,*}, LI Hong-Zhe¹

¹Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650204, China; ²Botanic Gardens of Toyama, Toyama 939-2713, Japan

1 植物名称 红斑秋海棠(*Begonia rubropunctata* S. H. Huang et Shui)。

2 材料类别 初展幼叶、叶柄切段。

3 培养条件 丛芽和愈伤组织诱导培养基: (1) MS+6-BA 0.5 mg·L⁻¹ (单位下同); (2) MS+6-BA 0.5+NAA 0.5; (3) MS+6-BA 2.0+NAA 0.5; (4) MS+6-BA 2.0+NAA 2.0; (5) MS+6-BA 5.0+NAA 0.5。增殖培养基: (6) MS+ 苯基噻二唑基脲(TDZ) 0.2+NAA 0.5。生根培养基: (7) 1/2MS+NAA 0.5。以上培养基均附加3% 蔗糖和0.75% 琼脂, pH 5.8。培养温度(22±3) °C, 光照时间12 h·d⁻¹, 光照强度40 μmol·m⁻²·s⁻¹。

4 生长与分化情况

4.1 材料的无菌处理 取带叶柄的初展幼叶, 边用自来水冲洗边用软毛刷蘸洗洁精溶液轻轻刷洗, 再用自来水冲洗干净。将外植体置于超净工作台上, 用滤纸吸干表面水分后, 剪开叶柄和叶片, 分次进行消毒, 用75% 的酒精表面消毒30 s, 无菌水冲洗4~5次, 用消毒滤纸吸干表面水分, 以1% 的次氯酸钠(NaOCl)溶液消毒10 min, 消毒时滴入吐温(Tween-20) 1~2滴, 再用无菌水冲洗4~5次。将消毒好的叶片切成大小约1 cm×1 cm, 叶柄切成长0.5~1 cm的切块, 接种到启动培养基(1)~(5)上进行培养。

4.2 丛芽和愈伤组织的分化情况 叶片和叶柄分别接种到培养基(1)~(5)上。40 d后统计诱导率说明, 培养基(4)为丛芽和愈伤组织分化的最适培养基, 其中, 丛芽分化率可达100%; 愈伤组织分化率达60%~70%。在培养基(1)和(2)上, 叶片能产生绿色的丛芽, 但不能产生愈伤组织, 丛芽分

化率较低(仅20~40%); 而叶柄既不能产生的丛芽, 也不能产生愈伤组织。在培养基(3)上的丛芽分化率达80%~90%, 均不产生愈伤组织。在培养基(5)上, 愈伤组织分化率达80%~100%, 而不能产生丛芽。在培养基(4)中, 叶柄培养10 d后, 表面产生很多的淡黄绿色愈伤组织突起(图1-a), 渐变为绿色, 40 d后分化出芽丛(图1-c); 叶片在培养基(2)中培养40 d时不形成愈伤组织而是直接产生丛芽(图1-b), 在培养基(5)上, 叶片和叶柄都只能产生愈伤组织, 为黄白色, 最终变褐死亡, 均未能产生芽苗, 说明过高浓度的6-BA对愈伤组织分化成芽苗极为不利。

4.3 增殖培养 40 d后将芽苗转接到培养基(6)上进行增殖培养。结果表明, 10~15 d后开始分化为丛芽(图1-d), 增殖系数达6.5; 培养至20 d时, 芽苗高为1.5~2.0 cm; 40 d时, 芽苗高达为5~8 cm, 丛芽健壮, 芽苗生长较快。说明TDZ有利于红斑秋海棠试管苗增殖。

4.4 生根诱导 将丛生芽切成单个芽, 移入培养基(7)中培养30 d后, 在芽苗基部长出很多黄白色的根, 完成植株再生(图2), 生根率为100%。

4.5 试管苗移栽 将生根的试管苗在培养室中开瓶炼苗2~3 d后, 取出幼苗并洗净基部培养基, 移栽到装有栽培基质(蛭石:河沙=1:1)的塑料盆中, 在盆口盖上一张有小孔的塑料膜, 以保持一定的

收稿 2007-08-29 修定 2007-10-30

资助 中国科学院知识创新工程重要方向项目(KSCX2-YW-Z-032)。

* 通讯作者(E-mail: guanky@mail.kib.ac.cn; Tel: 0871-5223090)。

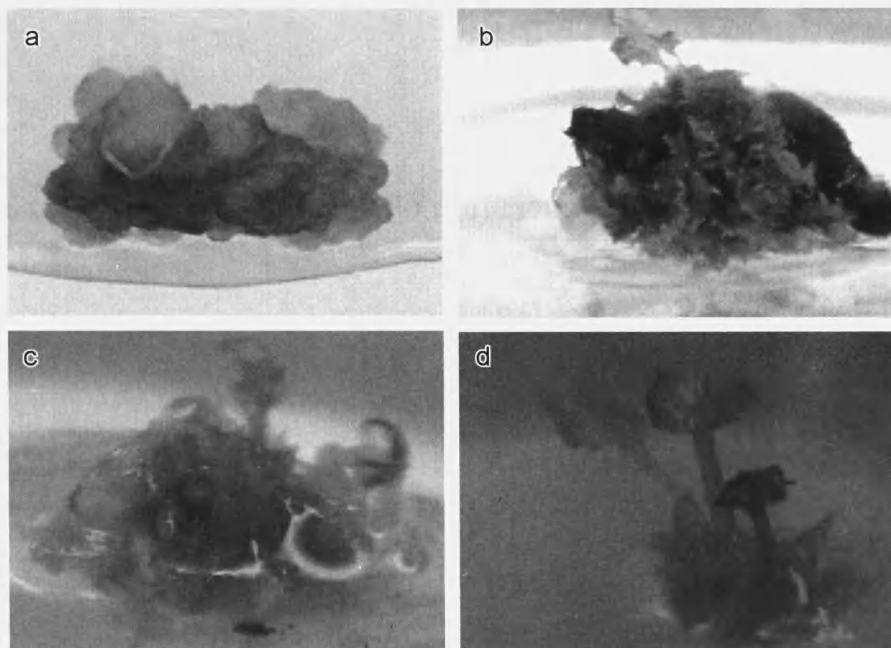


图1 红斑秋海棠外植体的丛芽与愈伤组织分化

a: 叶柄愈伤组织诱导; b: 叶片丛芽诱导; c: 叶柄愈伤组织分化出丛芽; d: 丛芽增殖。



图2 红斑秋海棠的生根再生植株

湿度。等小苗长出新叶时,可揭开塑料膜,移栽成活率70%左右。

5 意义与进展 红斑秋海棠为秋海棠属多年生球茎类草本植物,叶片2~3回掌状深裂,叶表面褐绿色,叶脉绿白斑纹清晰;叶柄带紫红色斑点,观赏价值极高。仅分布于我国云南南部(勐腊县青龙寨)海拔1100 m的石灰岩山地局部山头,不仅在野外的自然分布范围非常狭窄、资源蓄有量极少,处于濒危状态。而且,在昆明植物园栽培多年的开花植株从未获得过成熟种子,不能完成

从种子到种子的生活周期。红斑秋海棠易于栽培,但单靠分株繁殖速度缓慢,显然,采用组织培养技术有可能解决这一问题,也为种质资源迁地保护和开发利用提供更多材料。秋海棠属植物一些种类的组织培养已有研究报道(司徒琳莉等2007;李景秀等2000;Nakano等1999;Simmonds和Nelson 1989;Pierik和Tetteroo 1987),而红斑秋海棠的组织培养和植株再生尚未见报道。

参考文献

- 李景秀,管开云,孔繁才(2000).长翅秋海棠的叶片培养和快速繁殖.植物生理学通讯,36(5):439~440
- 司徒琳莉,张小军,宗宪春,任如意(2007).帝王秋海棠愈伤组织的诱导和植株再生.植物生理学通讯,43(1):117
- Nakano M, Niimi Y, Kobayashi D, Watanabe A (1999). Adventitious shoot regeneration and micropropagation of hybrid tuberous begonia (*Begonia x tuberhybrida* Voss). *Sci Hortic*, 79: 245~251
- Pierik RLM, Tetteroo FAA (1987). Vegetative propagation of *Begonia venosa* Skan *in vitro* from inflorescence explants. *Plant Cell Tis Org Cul*, 10: 135~142
- Simmonds JA, Nelson SD (1989). Improved micropropagation of *Begonia x hiemalis* by maintaining donor plants in long-day conditions. *HortScience*, 24(5): 831~832