

# 不同外植体对香石竹试管培养中芽形成的影响

李宗仁, 唐 蓉, 司剑华

(青海大学农牧学院, 西宁 810003)

**摘 要:**用组织培养的方法,对香石竹茎尖、茎段、叶片进行培养,结果表明:茎尖、茎段、叶片在离体培养中,外植体大小、部位、取材时间直接影响香石竹组织培养中芽的分化。茎段培养中,以中上部茎段芽分化效果最佳。在MS培养基中添加BA0.05 mg/L~0.5 mg/L(毫克/升),KT0.1 mg/L~1 mg/L(毫克/升)可显著提高芽的诱导率,BA1 mg/L(毫克/升)与NAA0.1 mg/L(毫克/升)配合使用芽分化率最高,可达100%。茎尖诱导中培养基中添加BA0.01 mg/L~0.5 mg/L(毫克/升)可增加芽分化率,以BA0.5 mg/L(毫克/升)和KT1 mg/L(毫克/升)最优,芽分化率分别为80%、76%,而叶片培养中芽诱导率较低。

**关键词:**香石竹;芽分化;外植体;组织培养

**中图分类号:**S603.6;S681.5 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2004)05-0066-02

组织培养中,外植体的种类、取材时间、部位及大小都会影响培养结果,如何确定合适的外植体用于离体培养,这关系到能否建立起外植体的无菌系的关键所在,是植物组织培养最初要研究的问题,是组织培养工作的第一步。近年来,关于香石竹繁殖的报道较多<sup>[1~4]</sup>,但大多集中在生长调节剂影响的研究上,分别以茎尖、茎段、幼叶作为最初的培养材料,观察它们在离体培养中的反应,研究取材时间、材料大小、生长调节剂对其分化形成器官的影响,提出适宜的组织培养外植体材料,筛选出了最优的培养基配方,现将试验结果报告如下。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

香石竹(*Dianthus caryophyllus*)重瓣栽培品种。

### 1.2 方法

从生长健壮的香石竹植株上,分别在无菌条件下切取0.2 mm~0.5 mm(毫米)左右茎尖,0.5 mm(毫米)左右茎段,3.5 mm<sup>2</sup>(平方毫米)叶片经消毒后接种于以ms为基本培养基,添加0.01 mg/L~2 mg/L(毫克/升)浓度及配比的生长调节剂6-BA、KT、NAA的培养基中进行培养,培养时光强1400 Lx(勒克斯),每天光照12 h(小时),24℃±2℃。

## 2 结果与分析

### 2.1 各外植体在离体培养中的反应

2.1.1 茎尖 茎尖接种后,在培养基中的反应大约有以下几种情况:茎尖接种后经6周培养可形成2 cm~3 cm(厘米)左右1~3个芽,这部分外植体占54%;茎尖接种后,一周

能转绿,但在以后的培养中增长不明显,甚至培养8周后长度不足1 cm(厘米),需几次转移,方可形成有利用价值的芽占32%;茎尖培养4周后能形成较多的芽,它呈丛片状,茎叶透明,组织疏松,无进一步继代的价值,占14%,这可能与茎尖剥制过程中受损伤程度、培养环境、条件、取材时间、部位有关。茎尖大小也直接影响到外植体的成活及芽的诱导效果。茎尖大于0.3 mm(毫米)成活率较高,且芽诱导率也较高,而茎尖较小,则芽的诱导率也较小。

2.1.2 茎段 茎段经过7 d(天)的暗培养,取出后培养1周观察,大部分不带腋芽的和紧接茎尖的切段死亡,存活下来的很少,这些茎段培养4周后,其体积膨大,可达接种时的3倍,并在切口处产生结构疏松呈水浸状的愈伤组织,进一步培养可形成1~2个芽。茎尖下1 cm~2 cm(厘米)处带几个以上的腋芽的茎段,经暗培养后再培养1周,培养基上腋芽开始萌动,萌芽率达95%,转换到NAA与6-BA配合的且6-BA量比NAA高的培养基上,可形成1~4个不定芽,而在NAA量较6-BA高的培养基上,形成少量愈伤组织,分化形成2~3条根。

2.1.3 幼叶 幼叶外植体接种后,经7 d(天)暗培养,再经1周光照后观察,约72%材料死亡,其中位于叶片的尖部和中部,叶片基部死亡率较低。在MS+6-BA1 mg/L(毫克/升)+NAA0.1 mg/L(毫克/升)培养基上经5周培养,多数膨大肿状,产生愈伤组织,但很少能分化形成芽,在NAA1 mg/L(毫克/升),6-BA0.1 mg/L(毫克/升),生长调节剂的配比下,有16%材料可分化形成根。

### 2.2 取材时间对各外植体离体培养成活率及芽诱导率的影响

香石竹植株生长势很强,在生长期内都有新芽的发生,可随时取材,经不同时期取材试验表明,在4月到5月间取材,各材料的成活率及芽诱导率较高,比其它月份取材有一定的优越性(见表1)。

### 2.3 生长调节剂对外植体器官分化的影响

无论是茎尖还是茎段,其对生长调节剂的反应有相同之处,既当培养基中含有6-BA或KT时,外植体均可形成不



**第一作者简介:**李宗仁,1963年生,本科,青海大学农学系主任,副教授,1983年7月毕业于青海大学农学系,同年留校任教至今,任青海农学会常务理事、中国农学会耕作分会理事。主持和参加科研项目7项,其中一项获农牧渔业部“丰收奖”二等奖,发表论文近20篇,参加高等学校试用教材《耕作学》的编写工作。

收稿日期:2004-05-10

表 1 不同时期取材对芽诱导率的影响

| 项 目 | 芽诱导率(%) |       |        |        |
|-----|---------|-------|--------|--------|
|     | 4月~5月   | 6月~8月 | 9月~11月 | 12月~3月 |
| 外植体 |         |       |        |        |
| 芽尖  | 92.5    | 35.7  | 50.2   | 72.5   |
| 芽段  | 78.2    | 60.6  | 55.3   | 68.7   |
| 叶片  | 4.0     | 3.5   | 3.2    | 2.3    |

定芽,当培养基中只含有生长素及数量高于 6—BA 或 KT 时,外植体可形成不定根,一般在 NAA 与 6—BA 用量近似相等时,可以诱导形成少量愈伤组织,但其质地疏松,呈水浸状,以后很少能分化成芽,即使产生也呈玻璃化状。茎尖在 6—BA 和 KT 的浓度分别在 0.01 mg/L~0.5 mg/L(毫克/升)、0.01 mg/L~1 mg/L(毫克/升)范围内随浓度升高,诱导茎尖形成不定芽的效应也不断增强,当浓度分别超过 0.5 mg/L(毫克/升),1 mg/L(毫克/升),则表现出对芽形成的抑制作用,但两者在同一浓度下 6—BA 效果优于 KT,这结论与曾孜义<sup>[3]</sup>和王冬梅<sup>[6]</sup>等报道一致。NAA 与 6—BA 或与 KT 配合使用,当比值大于 1,特别是比值为 5 或 10 时,可分化成根,在比值小于 1 时,利于芽的形成,其效果优于 6—BA 或 KT 单独使用,以 NAA0.5 mg/L(毫克/升),6—BA1 mg/L(毫克/升)配合使用对芽的形成最为有利,芽诱导率为 100%,经 6 周培养约形成芽 5 个(见表 2)。对茎尖下 1 cm~2 cm(厘米)处带一个以上腋芽的茎段,在 6—BA 和 KT 为 0.01 mg/L~1 mg/L(毫克/升),0.01~2 mg/L(毫克/升)浓度范围内可分化形成不定芽,但效果比它与用量低的 NAA 配合使用时差,在 NAA0.1 mg/L(毫克/升)、6—BA mg/L(毫克/升)的生长调节剂配比下,茎段的萌芽率及产生不定芽的数量最高(表 2)。

表 2 6—BA 和 KT 对茎尖诱导形成芽的影响 (42 天结果)

| 浓度 mg/L   | 0.01 | 0.05 | 0.1  | 0.5  | 1    | 2    |
|-----------|------|------|------|------|------|------|
| 项 目       |      |      |      |      |      |      |
| 接种数 BA    | 30   | 30   | 30   | 30   | 30   | 30   |
| (个) KT    | 30   | 30   | 30   | 30   | 30   | 30   |
| (个) KT    | 11   | 14   | 18   | 20.4 | 22.8 | 10   |
| 芽诱导率(%)BA | 43.3 | 50.0 | 72.0 | 80.0 | 36.0 | 20.0 |
| KT        | 36.7 | 46.7 | 60.0 | 68.0 | 76.0 | 33.3 |
| 芽数/外植体 6B | 1.2  | 1.4  | 2.2  | 2.9  | 1.3  | 1.0  |
| (个) KT    | 1.0  | 1.1  | 1.6  | 2.0  | 2.3  | 1.2  |

表 3 NAA 与 6—BA 对茎段培养形成芽的影响(接种后 35 天)

| 生长调节剂 mg/ L |      | 接种数 | 萌芽数 | 萌芽率  | 芽数/ 外植体 |
|-------------|------|-----|-----|------|---------|
| NAA         | 6—BA | (个) | (个) | (%)  | (个)     |
| 0           | 0.1  | 30  | 22  | 91.7 | 2.7     |
| 0           | 0.5  | 30  | 22  | 91.7 | 3.5     |
| 0           | 1    | 30  | 21  | 87.5 | 4.6     |
| 0           | 2    | 30  | 20  | 83.3 | 3.0     |
| 0.01        | 1    | 30  | 19  | 95.0 | 4.2     |
| 0.1         | 1    | 30  | 16  | 100  | 5.3     |
| 0.5         | 1    | 30  | 20  | 100  | 4.7     |
| 1           | 1    | 30  | 23  | 95.8 | 3.2     |
| 2           | 1    | 30  | 23  | 95.8 | 2.6     |

3 讨论

茎尖因其形态已基本建成,生长速度快,遗传性稳定,作

培养材料最为理想,也是获得无病毒的途径,但茎尖剥制大小往往影响脱毒的效果,为使脱毒效果增强可采用剥尖的方法。

茎段作为培养材料易获得,取茎尖 1 cm~2 cm(厘米)处的茎节作初代培养效果较好,可用于快繁,香石竹在试管内依靠分割不定芽进行大量的增殖,使外植体分化形成根在初代培养中没有什么意义,但可为芽继代增殖后的生根培养提供依据。

生长调节剂对茎尖、茎段与不同外植体芽及分化的最化现象有不同,但均表现出在较低浓度下起促进作用。

参考文献:

[1] 张健如等. 无病毒香石竹母本园的建立[J]. 上海农学报, 1986 (3): 185~190.

[2] 赵敏. 组织培养法快速繁殖香石竹的研究[J]. 辽宁农业科学, 1990. (11)15.

[3] 包荣瑞. 香石竹快速繁殖技术实验研究[J]. 甘肃农业科技, 1990 (2): 38.

[4] 姚连芳等. 香石竹茎尖培养优质苗实验研究[J]. 河南农业科学, 1993(7): 30~32.

[5] 曾孜义. 实用植物组织培养技术教程[M]. 兰州: 甘肃科学技术出版社, 1996. 14~15.

[6] 王冬梅等. 细胞分裂素类物质在植物组织培养中的作用机制[J]. 植物生理学通讯, 1996. 32(5): 373~377.

鲜切花是这样保养的

1. 保持水质清洁, 每天换水, 每天剪根露新茬, 泡水的地方去掉多余的叶子。
  2. 剖烧烫法: 剖: 对木本植物, 可在花脚部位剖十字、米字或劈、砸, 以扩大吸水面积。烧: 一品红等剪后切口流白浆, 如不止住, 花很快会腐败, 应在火中烧一下, 防止营养物质倒流, 月季、梅花、牡丹、丁香等也适宜此法。烫: 花枝浸泡于热水中一会儿, 利于吸水和杀菌、防腐。一般在 80 度水中烫 30 秒左右。剑兰、晚香玉、大丽花、菊花、非洲菊、香石竹等适宜。
  3. 水中剪切法(又名深水急救法): 把脱水花枝在水中剪一下根, 利用深水水压高及在水中导管不被空气堵塞原理, 使脱水花枝得以恢复。注: 剪枝后要让花枝在水中吸足水 15 min~20 min(分钟), 才可拿出水面。
  4. 杀菌法: 在水中放入酒精、KNO<sub>3</sub>、樟脑、硼酸、柠檬酸、盐、明矾等都可以起到杀菌用, 只有水不腐烂, 植物才能吸水保鲜。注: 一定配成溶液后再用, 不可未经溶解直接放入水中, 用盐时注意浓度不可太大。
  5. 营养法: 鲜花从母体上剪切后, 就失去了营养源, 可加入糖、啤酒、阿司匹林、维生素 C 等各类营养物质。
  6. 喷、注射法: 对于许多茎中空的花卉, 可把花脚部位放在水龙头下强行灌水。
  7. 远离催热剂、乙烯: 远离蔬菜和水果, 因为它们会释放大量乙烯, 导致鲜花衰败, 同时, 已败落的花果及时清理。
  8. 摆放位置: 夏天远离阳光直射, 冬天远离风口。
  9. 保鲜温度: 普通花卉在 5 度左右, 热带花卉在 10~12 度左右。
- (金波, 江苏省宝应县东门大街 25 号雨露兰阁, 225800)