

# 香石竹继代培养技术初探

李成锋<sup>1</sup>, 李德权<sup>2</sup>

(1. 青海省海西州农业科学研究所, 德令哈 817000; 2. 青海省大通县农机管理站, 810100)

**摘要:**在大量香石竹初代苗茎尖继代培养过程中: ①可以用 40 g/L 白糖代替 30 g/L 分析纯蔗糖, 但水源以蒸馏水为好; 在 40 g/L 的白糖为碳源的培养基中加入适量活性炭, 可提高培养效果; 在加强试管苗移栽增殖管理的前提下, 可以用广口瓶替代三角瓶。②随世代数增加, 试管苗芽的长势也逐渐变弱, 玻璃化苗出现频率以指数曲线的形式递增。③香石竹试管苗培养适宜继代培养到第 5 代。

**关键词:** 香石竹; 继代培养; 碳源

**中图分类号:** S681.5 **文献标识码:** B **文章编号:** 1001-0009(2006)06-0146-02

香石竹(*Dianthus caryophylluse*)又名康乃馨, 系石竹科宿根草本植物。其花色艳丽, 插花期长, 有很高的观赏价值。本试验对香石竹继代苗茎尖进行继代培养, 探讨继代培养中碳源、水质、活性碳有无、不同培养瓶对继代苗芽增殖的影响, 以期获得最佳的培养基组合, 为今后香石竹试管苗大批量生产降低成本提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

供试材料为香石竹初代培养的试管苗。

### 1.2 方法

以 MS 培养基为基本培养基并作为对照(CK), 用 30、40、50 g/L 白糖代替 30 g/L 分析纯蔗糖; 用自来水代替蒸馏水; 加入 0.4% 的活性碳; 用广口瓶代替三角瓶, 加琼脂 6.5 g/L, 调 pH 到 5.8。

除相应的处理外, 其它条件都尽可能保持一致。在无菌条件下接入初代培养的香石竹苗茎尖进行继代培养。每处理

收稿日期: 2006-06-23

根伸展之后再逐步施肥。移栽后夜晚最低温度应在 12~13℃以上。以后转入正常的管理。当水苔表面略干时, 即予浇水。2~3 个月后, 新芽长出。在 10 月份左右即可长出 2~3 枚叶片, 根系生长良好。2 年后即可开花。

### 2.2 组培苗出瓶移栽技术

出瓶前在适当遮荫的自然光下练苗 15~20 d 取出后在 0.1%~0.2% 高锰酸钾溶液中浸泡 2~3 min, 栽入以砖、木炭、椰糠(4:1:1)为混合基质的穴盘中。放在环境温度 25~30℃, 湿度 75%~80%, 弱光处。管理方法同上。2 周后适当施肥, 80 d 后可以定植上盆, 之后同一般春石斛的栽培管理。

## 3 春石斛繁殖栽培时间流程

春石斛在栽培管理技术到时, 实生苗约需 2~3 年, 扦插苗约 1~2 年, 分株苗仅需 1 年, 组培苗 2~3 年可以达到成

接 5 瓶, 每瓶接 3 个芽。每 10 d 统计芽数, 40 d 后比较分析, 比较其培养效果。

### 1.3 培养条件

白天温度 21~25℃, 夜间 16~20℃, 湿度 78%, 光照 1 400 Lx 左右。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同碳源对继代苗芽增殖的影响

表 1 不同碳源对试管苗芽增殖的影响

培养基成分	分析纯蔗糖		白糖	
	30g/L	30g/L	40g/L	50g/L
MS+BA <sub>1.0</sub> +NAA <sub>0.1</sub>	4.7	3	4.2	2.6
MS+KT <sub>1.0</sub>	4.5	3.3	4	3.2

从降低成本方面考虑, 我们用白糖 30、40、50 g/L 三个浓度来代替 30 g/L 分析纯蔗糖进行试管苗培养。结果表明, 使用白糖的效果都不如分析纯蔗糖好, 但相比较而言 40 g/L 白糖为碳源培养效果较好。这是因为白糖中含有的杂质不仅降低蔗糖的百分含量, 而且还抑制继代苗芽增殖。因此, 在大量

品苗。具体流程如下表所示:

春石斛栽培时段	培育时间(周)
I 从无菌播种到成品苗	37~44
①从授粉杂交到果实成熟	6~8
②播种培养后到出瓶	8~12
③从出瓶到成苗	28~34
II 从茎芽培养到成品苗	46~56
①茎芽培养到出瓶	18~24
②从出瓶到成品苗	28~32
III 从扦插生根到成品苗	32~36
①扦插生根	3
②从小苗生根后上盆到出花	22~24
③从小苗上盆后到茎长到 5~8cm	6~8
④从茎 5~8cm 长到 20~30cm	12
⑤从茎 20~30cm 成熟到出花	4

继代培养过程中, 可以用 40 g/L 白糖代替 30 g/L 分析纯蔗糖。

2.2 不同水源对继代苗芽生长的影响

在同一激素水平的培养基上进行了不同水源(自来水、蒸馏水)的对比试验。经 40 d 培养, 以蒸馏水配制的培养基从 1 个芽可产生 3.5 个芽, 用自来水配制的培养基产生 2.6 个芽, 差异显著( $F=4.90>F_{0.05}=4.30, F_{0.01}=7.94$ )。可能是由于自来水中所含的某些元素超过试管苗生长和分化的需要量, 因而造成试管苗芽分化率降低, 长势也较弱。这种差异培养初期还不太明显, 但培养 20 d 后, 差异逐渐明显<sup>[1, 2]</sup>。因此, 水源以蒸馏水为好。

2.3 活性碳对继代苗芽生长的影响

表 2 活性炭对继代苗芽生长的影响

基本培养基	碳源(g/L)	活性碳有无	芽数(个)
MS+KT <sub>10</sub>	蔗糖	无	4.5
	30	0.4%C	3
	白糖	无	4
	40	0.4%C	4.5
MS+BA <sub>1.0</sub> +NAA <sub>0.1</sub>	蔗糖	无	4.7
	30	0.4%C	2.8
	白糖	无	4.2
	40	0.4%C	4.4

在碳源比较的基础上, 进行活性碳有无对试管苗芽数的影响试验, 结果表明: 以蔗糖为碳源的培养基中加活性碳的较无活性碳的芽数要少, 而以白糖为碳源的培养基中加活性碳的较无活性碳的芽数略多。这是由于适量的活性碳不仅能吸附试管苗生长产生的有害物质<sup>[3]</sup>, 而且会吸附白糖中的有害物质。但活性碳同时会吸附其它营养物质和生长物质, 使得以蔗糖为碳源的培养基中加活性碳的较无活性碳的芽数要少。因此, 在 40 g/L 的白糖为碳源的培养基中加入适量活性碳, 可以提高培养效果<sup>[4]</sup>。

2.4 不同培养瓶对继代苗芽增殖的影响

以往试验采用 100 mL 三角瓶作培养瓶, 但大量生产时, 由于瓶口较小, 不利于操作, 且价格较高, 为此采用 250 mL 广口罐头瓶, 与三角瓶进行试管苗培养比较。经过 40 d 培养, 三角瓶中的 1 个芽可产生 3.5 个芽, 广口瓶中可产生 4.5 个芽, 约增加 1 个芽, 且随时间延长, 广口瓶中的芽数还有继续增加的趋势。这是由于广口瓶空间大, 有利于试管苗生长, 但广口瓶培养的苗长势较三角瓶中的稍弱, 这与广口瓶壁厚、玻璃有色, 对光有过滤作用造成的, 这可以通过后期移栽过程中加强管理来进行试管苗增殖, 并且广口瓶培养中操作方便,

因此, 在大量生产中, 可考虑用广口瓶替代三角瓶<sup>[5]</sup>。

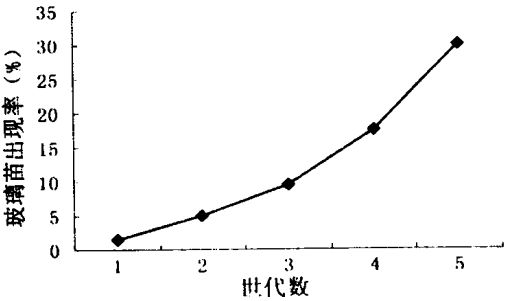


图 1 不同世代香石竹试管苗玻璃化率

2.5 继代增殖中, 芽质量的变化趋势

香石竹茎尖继代培养中, 随世代数增加, 试管苗芽的长势也逐渐变弱, 叶片颜色变浅, 试管苗细弱, 玻璃化苗出现频率也呈现递增的趋势, 表现为以指数曲线的形式增加而不宜于继续继代培养(图 1)。因此, 香石竹试管苗培养适宜继代培养到第 5 代。

3 结论与讨论

在大量香石竹初代苗茎尖继代培养过程中, 可用 40 g/L 白糖代替 30 g/L 分析纯蔗糖, 但水源以蒸馏水为好; 在 40 g/L 的白糖为碳源的培养基中加入适量活性碳, 可提高培养效果, 具体加入活性炭的量多少为宜有待于进一步研究; 由于广口瓶空间大, 有利于试管苗生长, 在加强试管苗移栽增殖管理的前提下, 可以用广口瓶替代三角瓶。

香石竹茎尖继代培养中, 随世代数增加, 试管苗芽的长势也逐渐变弱, 玻璃化苗出现频率以指数曲线的形式递增。可以通过以下两方面途径减少玻璃化苗的出现频率: 通过培养基及其添加成分的筛选, 以期获得高比例的正常苗<sup>[6]</sup>; 对部分玻璃化的苗, 通过促进其正常部位或组织的生长, 以期从中形成正常苗<sup>[7]</sup>。

香石竹试管苗培养适宜继代培养到第 5 代。

参考文献:

[1] 何俊彦, 胡洁莹, 井忠平. 斑叶竹节秋海棠微繁殖的研究[J]. 西北植物学报, 1989, (3): 170—175.  
[2] 戴洪羲. 砂梨茎尖和腋芽的离体培养[J]. 浙江农业大学学报, 1988, 14(4): 447—453.  
[3] 颜昌敬. 植物组织培养手册[M]. 上海: 上海科学技术出版社.  
[4] 唐蓉, 沈宁东, 韦梅琴, 等. 香石竹试管苗瓶内生根试验[J]. 青海大学学报(自然科学版), 2000, 18(5): 10—12.  
[5] 罗士韦, 许智宏. 经济植物组织培养[M]. 科学出版社.  
[6] 李娅莉, 张健, 潘远智. 观赏植物组织培养过程中玻璃化现象与解决措施进展[J]. 四川农业大学学报, 2004, (9): 278—282.  
[7] 郭达初, 柴明良. 培养基对香石竹试管苗生长及其玻璃化的影响[J]. 浙江农业大学学报, 1990, 2(4): 174—180.