

# 矮牵牛花药培养的研究

庞海峰<sup>1</sup>, 王平<sup>2</sup>, 姜策<sup>3</sup>

(1. 沈阳农业大学园艺学院 110161; 2. 辽宁省农业科学院, 沈阳 110161; 3. 辽宁省植物保护站, 沈阳 110034)

**摘要:** 研究了不同材料消毒方式、不同种类和浓度的激素对矮牵牛花药培养的影响。结果表明: 1mol/L HCL 1min + 75%酒精 30s + 0.1%升汞 8min 的消毒方式效果最佳; Nitsch + 2, 4-D 0.2 + NAA 0.5 + BA 0.2 的愈伤组织诱导率最高; 分化培养基中只有 MS + NAA 0.1 + BA 2.0 形成了不定芽, 且分化率较低, 为 23.8%, 针对这一问题需要做更为深入的研究。

**关键词:** 矮牵牛; 花药培养; 愈伤组织

**中图分类号:** S 681.603.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2007)05-0196-02

矮牵牛 (*Petunia hybrida* Vilm), 又名碧冬茄、灵芝牡丹, 属茄科矮牵牛属的多年生草本植物<sup>[1,2]</sup>。矮牵牛花色丰富且花期长, 是装饰花坛、街道的理想花卉<sup>[3]</sup>。近年来随着经济的发展, 国内市场上对矮牵牛的需求增加, 品种更新的速度也在加快。通过花药培养可诱导花粉发育形成单倍体, 快速获得纯系, 缩短育种周期<sup>[4]</sup>; 有利于诱导花粉形成隐性突变体, 提高选择效率<sup>[5]</sup>。此外, 还可利用花培技术进行减数分裂机制、遗传连锁分析等基础理论研究<sup>[6]</sup>。但由于影响花药培养的因素很多, 不同作物, 即使是同一作物不同品种之间在培养技术上也存在很大差异。矮牵牛的花药和花粉培养虽已有一定的研究基础, 但远不如在禾本科作物特别是水稻、小麦中的研究深入<sup>[7,8]</sup>, 矮牵牛花药培养技术仍是制约矮牵牛单倍体育种的主要因素。

## 1 材料与方法

### 1.1 植物材料

以辽宁省农科院花卉所辽农 I 型日光温室内, 用常规方法进行栽培管理获得的紫色带网纹的矮牵牛品种为材料。于上午 9:00 左右取处于双核期的花蕾, 用湿纱布包好置于 4℃冰箱中进行低温预处理 48h。

### 1.2 供试材料的消毒处理

将经过低温预处理的花蕾剥去花萼, 采用 4 种消毒方法: (1) 75%酒精 1 min + 0.1%升汞 8min; (2) 3mol/L HCL 30s + 75%酒精 30s + 0.1%升汞 8min; (3) 1mol/L HCL 30s + 75%酒精 30s + 0.1%升汞 8min; (4) 1mol/L HCL 1min + 75%酒精 30s + 0.1%升汞 8min。然后用无

菌水冲洗 4~5 遍, 置于无菌滤纸上吸干水分, 用镊子剥出花药, 去净花丝。

### 1.3 培养基及培养条件

**诱导培养基:** 以 Nitsch 为基本培养基, 以 9%蔗糖为碳源, 琼脂 6g/L, pH 值 5.8 附加不同种类和浓度的激素: (1) NAA 1.0 + BA 2.0; (2) NAA 1.0 + BA 0.5; (3) 2, 4-D 0.5 + KT 1.0; (4) 2, 4-D 0.5 + KT 0.5; (5) 2, 4-D 0.2 + NAA 0.5 + BA 0.2; (6) 2, 4-D 0.2 + NAA 0.5 + BA 0.2。

**分化培养基:** 以 MS 为基本培养基, 其中蔗糖 3% 琼脂 6g/L, 附加不同种类和浓度激素: (7) NAA 0.1 + BA 2.0; (8) NAA 0.3 + BA 1.5; (9) NAA 0.1 + BA 1.0 (10) NAA 0.5 + BA 1.0。

**培养条件:** 花药接种后于培养箱中暗培养, 温度为 25±1℃; 长出愈伤后转入分化培养基进行光培养, 光照强度 1500Lx, 12h/d。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同的材料消毒方式对矮牵牛花药培养的影响

表 1 不同消毒条件对矮牵牛花药消毒的效果

消毒方式编号	花药个数	污染个数	污染率	褐化个数	褐化率	成活率
(1)	500	267	53.4%	37	7.4%	39.2%
(2)	500	32	6.4%	146	29.2%	64.4%
(3)	500	172	34.4%	39	7.8%	57.8%
(4)	500	43	8.6%	44	8.8%	82.6%

矮牵牛叶片及花蕾表面多绒毛且分泌粘液, 易吸滞大量飘尘及细菌, 因此用常规的消毒方式污染率高。本试验采用 4 种消毒方式, 从表 1 可以看出, 方法 (2) 污染率最低, 但较高浓度的 HCL 处理, 会使花蕾变红, 花药褐化率提高, 而方法 (4) 污染率和褐化率都较低, 为最佳的材料消毒方式。另外, 污染率与矮牵牛品种也有一定关系。花蕾闭合程度高、分泌粘液少的品种污染率较低。

### 2.2 不同诱导培养基对矮牵牛花药培养诱导率的影响

**第一作者简介:** 庞海峰 (1981-), 女, 沈阳农业大学园艺学院硕士, 从事观赏植物遗传育种研究, E-mail: panghaifeng1981814@126.com。

收稿日期: 2006-12-13

培养基是影响花药培养的重要因素之一。将花药接种于培养基中培养 15~20d 后, 部分花药裂开产生花粉愈伤组织, 但也有些愈伤组织是从药壁组织、药隔细胞产生的。

表 2 不同激素对矮牵牛花药培养诱导率的影响

培养基编号	接种花药个数	诱导出愈伤的花药个数	诱导率
(1)	112	5	4.46%
(2)	98	2	0.02%
(3)	96	8	8.33%
(4)	114	4	3.51%
(5)	116	65	56.03%
(6)	107	48	44.86%

由表 2 看出, 培养基(5)诱导率最高, 达56.03%, 培养基(6)其次, 两种培养基均可用于诱导矮牵牛花药培养。同时, 我们还可以发现 2,4-D、NAA 与 BA 配合使用效果要优于 2,4-D 与 KT 或 NAA 与 BA 配合使用, 说明生长素类在诱导矮牵牛花药培养过程中起着重要作用。

2.3 不同分化培养基对愈伤组织分化的影响

表 3 不同分化培养基对愈伤组织分化的影响

培养基编号	接种愈伤组织个数	分化个数	分化率(%)	备注
(7)	21	5	23.8	愈伤组织膨大, 致密 有芽丛生成
(8)	32	0	0.0	愈伤组织迅速膨大, 不致密, 有根生成
(9)	26	0	0.0	愈伤组织膨大, 致密 没有芽或根生成
(10)	20	0	0.0	愈伤组织逐渐变褐

将诱导形成的乳白色、颗粒状愈伤组织接入分化培养基中发现, 培养基(7)中愈伤组织逐渐由白变黄, 再由黄转绿, 在继代 2~3 次后有芽丛生成; 培养基(8)中的愈伤组织生长迅速但不致密, 有根生成而无芽的分化; 培养基(9)中的愈伤组织生长健壮, 但没有根或芽的生成; 培养基(10)中的愈伤组织逐渐褐化、死亡。由表 3 可以

看出, 只有培养基(7)适合愈伤组织分化成苗, 但分化率仅为 23.8%, 仍需继续筛选效果更佳的分化培养基。

3 结论与讨论

3.1 矮牵牛花蕾表面多绒毛且分泌粘液, 用常规的消毒方式污染率高。用 1mol/L HCL1min + 75% 酒精 30s + 0.1% 升汞 8min 则可有效控制其污染率。

3.2 在以 Nitsch 为基本培养基诱导愈伤组织的形成过程中, 生长素类物质起了关键作用, 所设 6 种培养基中以 2,4-D 0.2 + NAA0.5 + BA0.2 的愈伤组织形成率最高。

3.3 在矮牵牛花药培养获得愈伤组织后, 我们作了进一步的诱导, 但在所设 4 种培养基中, 只有 MS + NAA 0.1 + BA 2.0 形成了不定芽, 且分化率较低, 为 23.8%。在下一步的试验中我们将针对这一问题做更为深入的研究。

参考文献:

[1] 程广有. 矮牵牛 F<sub>1</sub> 代快速繁殖技术的研究[J]. 吉林林业科技, 2000 (29), 5-7.

[2] 岳艳玲, 冯辉, 李小明. 矮牵牛的离体再生与快速繁殖[J]. 辽宁农业科学 2005(3), 21-25.

[3] 张树军, 李元, 韩冰. 矮牵牛的组织培养与快繁[J]. 内蒙古农业科技 2001(4), 5-6.

[4] 河南省花粉单倍体育种编写组编. 植物单倍体育种[M]. 郑州: 河南人民出版社 1978, 12-15.

[5] 胡道芬. 植物花培育种进展[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 1996 3-4.

[6] 宋振能. 我国花药培养和单倍体育种研究的成就[J]. 中国科学院院刊, 1988, 3: 26-27.

[7] 周延清, 张书玉, 张栩, 等. 水稻花药培养再生植株[J]. 河南农业科学, 1999, 10: 7-8.

[8] 温书敏, 郎明林, 陈荣敏, 等. 小麦幼穗提取液对小麦花药培养的影响[J]. 河南农业大学学报, 1999(22)3: 5-7.

Research on Anther Culture of Petunia

PANG Hai-feng<sup>1</sup>, WANG Ping<sup>2</sup>, JIANG Ce<sup>3</sup>

(1. Horticulture Academy of Shenyang Agricultural University, 110161; 2. Liaoning Academy of Agricultural Sciences Shenyang 110161; 3. Liaoning Plant Protection Station, Shenyang 110034)

**Abstract:** This paper evaluated the effects of different ways of explant sterilization, different kinds and different concentrations of hormone on anther culture of Petunia. The results were as follows: the most optimal method of sterilization was 1mol/L HCL1min + 75% alcohol 30sec + 0.1% HgCl<sub>2</sub> 8min; Nitsch + 2,4-D 0.2 + NAA0.5 + BA0.2 was the best induced medium; among all division mediums, only MS + NAA 0.1 + BA 2.0 formed shoots, but the rate of division was low, we still need further evaluation.

**Key words:** Petunia; Anther culture; Callus