

矮牵牛愈伤组织的诱导及植株再生研究

范小峰¹, 赵国栋², 徐均泉¹

(1. 陇东学院 生命科学系 甘肃 庆阳 745000; 2. 黄河上中游管理局 陕西 西安 710021)

摘要:以矮牵牛无菌苗为材料, 研究不同激素配比对其不同外植体愈伤组织的诱导、不定芽的分化和生根诱导的影响。结果表明: 叶柄为诱导愈伤组织的最佳器官。最佳愈伤组织诱导培养基为 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 2.0 mg/L, 最佳愈伤组织分化培养基为 MS+6-BA 0.5 mg/L+IBA 0.1 mg/L, 最佳生根培养基为 1/2MS+IBA 0.5 mg/L, 生根率可达 100%, 生根后移栽成活, 获得再生植株。

关键词:矮牵牛; 愈伤组织; 诱导; 植株再生

中图分类号:S 681.603.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2009)06-0094-03

矮牵牛(*Petunia hybrida*), 又名洋牡丹、碧冬茄, 为茄科矮牵牛属多年生草本。原产南美阿根廷、巴西等国, 各国现在广泛栽培, 均为杂交种, 喜光照, 不耐阴, 喜温畏寒^[1]。矮牵牛花期长, 6~10月整个夏、秋季节花开不断, 是现代城市美化、庭院布置的常用花卉, 也可盆栽室内观赏。矮牵牛多播种繁殖, 也可扦插繁殖, 但由于杂交种结实率低, 且用种子繁殖易引起后代性状的分离退化, 扦插繁殖又受到材料的限制, 所以组织培养是解决繁殖材料供不应求的最有效途径。该试验以矮牵牛为材料, 探讨不同种激素组合对叶、叶柄、茎段3种外植

体愈伤组织的诱导、分化及生根的影响。筛选出适合矮牵牛愈伤组织诱导及植株再生的最佳配方, 为其快繁提供技术参考。

1 材料与方法

1.1 材料

以矮牵牛无菌苗为材料, 取其幼嫩叶块、叶柄和茎段进行试验。

1.2 方法

将茎段和叶柄切成 0.5 cm 左右的小段, 叶片切成 0.5 cm×0.5 cm 的叶块接入启动培养基上, 观察不同植物激素对愈伤组织诱导及分化的影响; 将诱导产生的愈伤组织接种于愈伤组织分化培养基上诱导不定芽产生; 将分化产生的不定芽转入生根培养基中, 获得完整的再生植株。生根苗采用“二步法”移栽, 练苗 1 周后, 洗净生根苗根部培养基, 均匀移入珍珠岩苗床, 搭设塑料棚, 并

第一作者简介:范小峰(1966-), 女, 甘肃西峰人, 副教授, 现主要从事植物生理学和植物组织培养研究工作。E-mail: qyszxf@126.com.

收稿日期: 2008-12-27

[8] 李建革, 刘敏, 王磊. 蟛蜞秋海棠快速繁殖的研究[J]. 山东农业科学, 2006(5): 26-28.

[9] 赵术珍, 阮圆, 王宝山. 盐地碱蓬幼嫩花序的组织培养及植株再生[J]. 植物学通报, 2006, 23(1): 52-55.

Study on Tissue Culture and Plantlet Regeneration of *Begonia palmata* D. Don

CHEN Gang¹, LIANG Jing-long¹, CHEN Xiong-wei¹, JIN Hong²

(1. Faculty of Life Science, Zhaoqing University, Zhaoqing, Guangdong 526061, China; 2. Department of Science and Technology, Shenzhen Fairy Lake Botanical Garden, Shenzhen, Guangdong 518004, China)

Abstract: Using tissue culture methods, different set of hormone concentration of medium cleft leaf begonia (*Begonia palmata* D. Don) leaves were studied. Results showed that MS+6-BA 2.0 mg/L and MS+4-PU 0.5 mg/L induced leaf explants of adventitious buds produced the best results induction, induction rate was 100%, Bud were 150/cm², and 120/cm²; one of three strength MS was the best medium for rooting, and rooting rate reached 100% after two weeks.

Key words: Cleft leaf begonia; Tissue culture; Regeneration

加遮阳网,使棚内光强在 10 000 lx 以下,保持湿度 85% 以上,温度 35℃以下,严格管理约 4~5 周,成活后即可常规管理。

1.3 培养基及培养条件

愈伤组织诱导与分化培养基为一定浓度 6-BA、NAA 和 IBA(单位:mg/L)配合的 1/2 MS 或 MS 培养基,生根培养基为一定浓度 NAA、IBA 和 IAA 配合的 1/2MS培养基。所有培养基均加 3%的蔗糖,用 0.4 % 琼脂固化,pH 调至 5.8。培养条件:培养温度为 (25±2)℃,光照强度为 1 500~2 000 lx,光照时间 14 h/d。

2 结果与分析

2.1 愈伤组织的诱导

2.1.1 不同外植体对愈伤组织诱导的影响 3 种外植体均可高频产生愈伤组织,愈伤组织诱导率平均分别为 89.5%、88%和 85.2%。其中叶柄愈伤化最早,接种 7 d 切口膨大,2 周后切口处产生大量绿色颗粒状愈伤组织;茎段愈伤化较迟,10 d 左右整体膨大,切口两端产生少量愈伤组织,随后愈伤化程度增加;叶块整体膨大、增厚、卷曲,叶脉处愈伤化明显。筛选出叶柄为愈伤组织诱导最佳外植体。

2.1.2 不同激素组合对愈伤组织诱导的影响 将茎段、叶柄、叶块分别接种于 6-BA (0.2~1.0 mg/L)与 NAA (0.2~2.0 mg/L)或 IBA(0.5~1.0 mg/L)组合的愈伤组织诱导培养基上,不同外植体均可不同程度产生愈伤组织。6-BA 和 NAA 组合诱导效应:较低浓度的 6-BA (0.2 mg/L)与 NAA (0.2~0.5 mg/L)组合,愈伤化较迟,愈伤组织诱导率相对较低;随着 6-BA (0.5~1.0 mg/L)与

NAA (0.5~2.0 mg/L)浓度的提高,愈伤化提前,诱导率提高,在 6-BA (1.0 mg/L)与 NAA (2.0 mg/L)组合中,叶柄、茎段和叶块的愈伤组织诱导率分别达到 100%、99.1%和 99.1%,而且有利于不定芽产生。6-BA 和 IBA 组合诱导效应:0.5 mg/L 6-BA 与一定浓度 IBA 0.5~1.0 mg/L 组合,随着 IBA 浓度增加,IBA/6-BA 提高,愈伤化时间提前,1 周时,各外植体明显愈伤化,且程度增加;0.5 mg/L 6-BA 与 IBA 0.5 mg/L 组合,3 种外植体愈伤组织诱导率普遍较高,平均为 89.9%,随着激素水平的提高(IBA 1.0+6-BA 1.0),诱导率略有下降,平均为 87.5%,愈伤化提前,且较早(20 d)分化产生不定芽。结果表明,6-BA+NAA 和 6-BA+IBA 对愈伤组织的诱导都有一定促进作用,其中较高浓度 6-BA 1.0 mg/L+NAA 2.0 mg/L 对胚性愈伤组织的产生效果明显;6-BA+IBA 组合对不定芽产生效果明显。筛选出矮牵牛愈伤组织诱导最佳培养基为 MS+6-BA 1.0+NAA 2.0。

2.2 愈伤组织的分化

将诱导产生的愈伤组织切成小块,分别接种在愈伤组织分化培养基上(基本培养基为 MS),结果见表 1。

2.2.1 6-BA 和 NAA 组合诱导效应 6-BA (0.5~2.0 mg/L)和 NAA (0.05~0.1 mg/L)的不同组合中,第 1 周各愈伤块没有明显变化,2 周左右都分化出大量不定芽。6-BA 与 NAA 浓度均较低,且比值较大(0.5/0.05)时,产生的不定芽数多,并且生长健壮;随着 6-BA 和 NAA 浓度的增大,分化出的不定芽数多而小,且生长缓慢。说明低浓度的 6-BA 与 NAA 组合,对愈伤组织的分化更有利。

表 1 不同激素组合对矮牵牛愈伤组织分化的影响

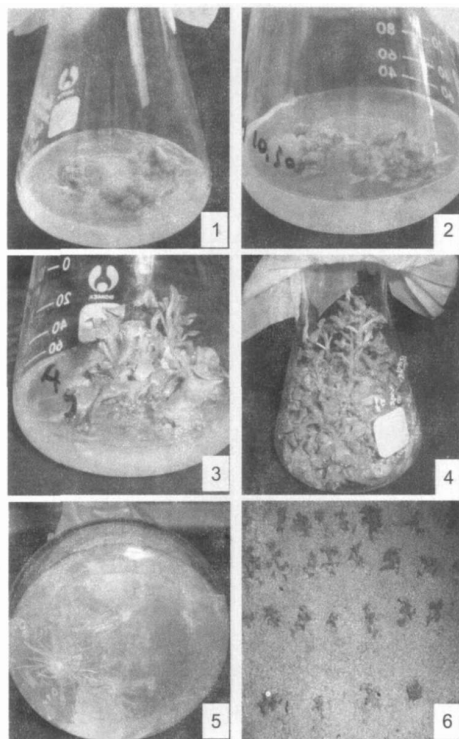
编号	植物生长调节剂/mg·L ⁻¹			接种数	分化数	分化率/%	生长情况
	6-BA	NAA	IBA				
1	0.5	0.05		32	28	87.5	分化出大量不定芽,且芽茁壮
2	0.5	0.1		32	24	75.0	分化出大量不定芽,但芽较小
3	1.0	0.1		31	22	71.0	分化出大量不定芽,生长缓慢,且较弱小
4	2.0	0.1		30	19	63.3	有不定芽分化产生,均为小芽点,且较迟
5	0.5		0.1	32	32	100	产生的不定芽茁壮,叶片大而厚,深绿色
6	0.5		0.3	33	30	90.9	分化出大量不定芽,生长茁壮
7	1.0		0.3	32	29	90.6	分化出大量不定芽,但芽弱小

2.2.2 6-BA 和 IBA 组合诱导效应 在 6-BA (0.5~2.0 mg/L)和 IBA(0.1~0.3 mg/L)的组合中,在第 1 周已有不定芽分化出现,其中在低浓度 6-BA 0.5 mg/L 和低浓度 IBA 0.1 mg/L 的组合中,不定芽分化率最高,随着 IBA 浓度的不断升高,分化率反而降低。由此说明低浓度 6-BA 和 IBA 组合有利愈伤组织分化。从愈伤组织分化率及产生的不定芽生长情况综合分析发现,6-BA+IBA 比 6-BA+NAA 的效果更明显。筛选出愈伤组织最佳分化培养基为 MS+6-BA 0.5+IBA 0.1。

2.3 不定根的诱导

将生长良好、高度大于 3 cm 的不定芽切割成单芽,接入生根培养基中生根培养(基本培养基为 1/2MS),观察并统计无菌苗生根情况。结果显示,矮牵牛增殖芽生根较容易,在不添加任何生长素的 1/2MS0 培养基上,可 100%生根,每株可产生约 10~25 条根,但根细长,移栽后成活率低。附加不同浓度 IAA、IBA、NAA 可不同程度产生不定根。单独附加 0.2~1.0 mg/L IAA,随着 IAA 浓度的提高,每株产生的根数及长度都有所增加,而且根也不断加粗;单独附加 0.2~1.0 mg/L IBA,随着 IBA 浓度的提高,不定芽切口愈伤化程度增加,生根率

有先升后降的趋势, 其中, 附加 0.5 mg/L 的 IBA, 可 100% 生根, 根粗壮, 每株产生 10~18 条不定根, 效果最好; 单独附加 0.1~0.3 mg/L NAA, NAA 浓度为 0.1 mg/L 时, 每株仅产生 2~4 条根, 且切口愈伤化明显, 随着 NAA 浓度的提高 (0.3 mg/L), 不定芽切口强烈愈伤化, 生根率为 0%, 说明 NAA 对矮牵牛不定根的诱导有一定抑制作用, 而对愈伤化有强烈的促进作用。筛选出最佳生根培养基为 1/2MS+IBA 0.5。



图版说明: 1. 叶柄诱导的愈伤组织; 2. 愈伤组织产生的芽点及不定根; 3. 愈伤组织产生的不定根; 4. 产生的丛生芽; 5. 生根的试管苗; 6. 移栽成活的试管苗。

3 讨论

根据植物细胞全能性理论, 任何活组织在适宜的条

件下都能发育成完整的植株。但是不同生长状况, 发育阶段, 生长环境和不同部位的外植体存在一定的生理生化差异, 因此, 选择不同的外植体可影响组织培养的形态发生^[3]。有试验证明: 以叶片、茎尖、茎段为外植体对矮牵牛进行培养, 培养前期愈伤组织分化差别不大, 但是后期茎尖先分化, 出苗率最高, 茎段次之, 叶片分化出芽时间最长^[3]。该试验以矮牵牛叶片、叶柄、茎段为材料进行愈伤组织诱导, 发现叶柄愈伤化最快, 茎段次之, 叶片最慢。

前人^[4,5] 研究认为培养物愈伤组织的产生与 BA 的浓度成正比。高浓度的 BA 可以直接从茎和叶上诱导出愈伤组织, 由愈伤组织形式不定芽。用 BA 或 6-BA+NAA 组合来诱导愈伤组织的产生, 取得良好的效果, 该试验中采用 6-BA 与 NAA, 6-BA 与 IBA 2 种组合, 比较发现 6-BA 0.5+IBA 0.1 组合更有利愈伤组织产生和不定芽的分化。

该试验采用 1/2MS 基本培养基, 并分别添加 IAA、IBA、NAA 进行不定根诱导。结果发现: 附加 0.5 mg/L IBA, 可 100% 生根, 根粗壮, 效果最好; 附加 0.1~0.3 mg/L 的 NAA, 对矮牵牛不定根的诱导有一定抑制作用, 而对愈伤化有强烈的促进作用。与吴林森^[6] 以 1/2MS 为基本培养基, 添加 NAA 1.0 mg/L 有助于矮牵牛生根, 生根率为 100% 的结论不同。

参考文献

- [1] 吴亚芹, 赵东升, 陈秀莉. 花卉栽培生产技术[M]. 北京: 化学工业出版社 2006.
- [2] 赵琛. 矮牵牛组织培养研究进展[J]. 现代农业科技, 2007(2): 9-10.
- [3] 佟风琴, 栾岚, 胡春霞. 矮牵牛的组织培养及快速繁殖的研究[J]. 辽宁师专学报, 2001, 4(3): 90-91.
- [4] 瞿素萍. 矮牵牛的组织培养研究[J]. 西南农业大学学报, 2001, 23(5): 447-448.
- [5] 张颖, 罗凤霞, 曾会明. 3 个香型矮牵牛品种的组织培养再生体系[J]. 沈阳农业大学学报, 2005, 36(4): 424-427.
- [6] 吴林森. 不同浓度的外源激素对矮牵牛组织培养的影响[J]. 林业建设, 2004(3): 25-27.

Study on Callus Induction and Plant Regeneration of *Petunia hybrida*

FAN Xiao-feng¹, ZHAO Guo-dong², XU Jun-quan¹

(1. Department of Life Science, Longdong University, Qingyang, Gansu 745000, China; 2. Yellow River Upper and Middle Reaches Administrative Bureau, Xian, Shanxi 710021, China)

Abstract: Different explants from the sterile seedling of *Petunia hybrida* were used to investigate callus induction, differentiation and rooting in the compounding proportions of different hormones. Our results showed that the petiole was the best organ. The optimal medium for callus induction was MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 2.0 mg/L. The optimal differentiation medium was MS+6-BA 0.5 mg/L+IBA 0.1 mg/L. The optimal medium for rooting was 1/2MS+IBA 0.5 mg/L, the ratio of rooting was 100%, and intact plants were regenerated.

Key words: *Petunia hybrida*; Callus; Induction; Plant regeneration