

# 不同时期及部位的外植体对香石竹芽形成的影响

苏 江, 岑 忠 用, 路 艺 聪

(河池学院 化学与生命科学系, 广西 宜州 546300)

**摘 要:**在春、冬季取香石竹的顶芽、茎段芽进行离体培养, 研究不同采集季节及部位的外植体对香石竹芽形成的影响。结果表明:在春季取顶芽做外植体采用 70% 酒精 30 s+0.1% 升汞 6 min 消毒处理可获得较好的试管苗。70% 酒精 30 s+0.1% 升汞 6 min 较适宜于外植体消毒, 在春季取材, 顶芽分化优于茎段芽, 在冬季取材, 茎段芽分化优于顶芽。

**关键词:**香石竹; 外植体; 芽分化

**中图分类号:**S 681.503.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)02-0129-03

香石竹(*Dianthus caryophyllus*)属石竹科多年生草本, 别名麝香石竹、康乃馨, 其茎叶清秀, 花朵富丽高雅,

**第一作者简介:**苏江(1980-), 女, 壮族, 广西宁明人, 硕士, 讲师, 现主要从事植物组织培养及相关的生物技术研究工作。E-mail:supersuijiang@sina.com。

**基金项目:**河池学院院级 A 类科研课题资助项目(2009A-N003); 广西高校重点建设实验室桂西北特色资源研究与开发实验室资助项目(桂教科研[2006]4 号)。

**收稿日期:**2011-11-07

色彩绚丽娇艳, 观赏价值极高, 而且单朵花期长, 宜制作花束、花篮, 是当今风行全球的名花之一, 也是世界著名的四大切花之一<sup>[1]</sup>。香石竹种子很小, 自然萌发率低, 且靠种子繁殖易产生品种间杂交, 造成花色混乱, 不能保持亲本的优良品质, 因此不宜用种子繁殖。常规的生产栽培主要靠掰取其侧芽扦插来扩大繁殖, 然而扦插往往由于插穗来源不足, 繁殖系数低, 速度慢。而且长期的扦插繁殖容易使植株遭受病毒的危害, 一旦发生病毒感染, 会导致切花质量变劣, 产花量降低, 极大影响香石

- [5] 马惠英. 一品红组培苗炼苗试验研究[J]. 甘肃科技, 2010, 26(11): 156-158.  
[6] 任凝辉, 武荣花, 王献, 等. 矮生一品红苞片外植体组织培养技术研究[J]. 河南农业大学学报, 2001(9): 239-240, 248.  
[7] 陈利萍, 王炳良, 张明方. 一品红离体组织培养诱导体细胞胚的研究[J]. 植物生理学通讯, 1999, 35(6): 463-465.  
[8] 蒋小满, 柏新富, 毕可华, 等. 六种矮生一品红的离体组织培养研究

- [J]. 北方园艺, 2002(3): 62-63.  
[9] 李红旭. 一品红组培苗试管外生根技术研究[J]. 甘肃农业科技, 2000(11): 46-47.  
[10] 中国科学院上海植物生理研究所细胞室. 植物组织和细胞培养[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1978.  
[11] 江明艳, 潘远智. 不同光质对盆栽一品红光合特性及生长的影响[J]. 园艺学报, 2006, 33(2): 338-343.

## Study on the Tissue Culture Technology of the Seedling Propagation in *Euphorbia pulcherrima* Wild

SHAO Yuan-jian<sup>1,2</sup>, ZHOU Jiang-chen<sup>1</sup>

(1. Nantong Agricultural Vocational Technology College, Nantong, Jiangsu 226007; 2. Nantong Key Laboratory of Agricultural Biotechnology, Nantong, Jiangsu 226007)

**Abstract:** Using leaf and stem with axilla bud of *Euphorbia pulcherrima* Wild as the explant respectively, effects on the callus induction, the shoot differentiation and propagation, and the root differentiation of different phytohormone combination in MS basic medium were studied. The results showed that the best medium for callus induction was MS+BA 0.2 mg/L+NAA 0.5 mg/L, and the differentiation rate reached 92.5%; The medium MS+BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L was the most suitable for shoot induction than others, and the differentiation rate reached 83.3%; The medium with MS+BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L was the best one for shoot propagation, the propagation rate was 10.8%; Whereas, the best medium for root differentiation was 1/2 MS+BA 0.2 mg/L+NAA 0.5 mg/L, and the average root number per shoot was 3.5. This result would be beneficial to culture the *Euphorbia pulcherrima* Wild seedlings industrially.

**Key words:** *Euphorbia pulcherrima* Wild; MS medium; phytohormone; differentiation

竹的优良品质特征和商品价值,按照常规生产种苗的方法不能满足当前市场的大量需求。为了满足市场需要,采用组织培养繁殖是很有必要的,目前已有大量文献报道有关香石竹组培快繁技术,但他们的研究主要以盆栽苗作为材料。该试验在前期研究的基础上,以市场上出售的切花为材料,取其顶芽<sup>[2-3]</sup>、茎段<sup>[3-5]</sup>作为外植体,观察它们在离体培养中的反应,研究不同的取材时间、取材部位分化形成苗的情况,以期提出采用切花材料作为外植体的适宜采集时间及消毒处理时间。由于切花取材方便经济,研究结果可为利用切花作为外植体进行快速繁殖提供一定的理论基础和试验基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

从花卉店购买健康、长势良好且花色优美的香石竹花枝作为试验材料。

### 1.2 试验方法

1.2.1 选择最佳的取材时间 分别在春、冬两季在同一个花店选购由同一家种苗公司提供的香石竹切花。

1.2.2 选择最佳的消毒方法 前期处理:用刀片削取花枝的顶芽或带腋芽的茎段,认真洗刷并在自来水下流水冲洗 3 h,洗衣粉浸泡 10~15 min,之后用流水洗净残留的洗衣粉。后期处理:在超净工作台上转入无菌的广口瓶中,采用 5 种消毒时间处理,即(1)70%酒精 20 s+0.1%升汞 5 min;(2)70%酒精 20 s+0.1%升汞 6 min;(3)70%酒精 30 s+0.1%升汞 6 min;(4)70%酒精 30 s+0.1%升汞 7 min;(5)70%酒精 20 s+0.1%升汞 8 min。每个处理中经酒精浸泡后均用无菌水冲洗 2 次,每次 1 min,经升汞消毒后用无菌水冲洗 5~6 次,每次 1 min,处理期间不断摇晃广口瓶,使外植体与消毒剂充分接触,

表 1 不同的消毒时间对外植体污染率及成活率的影响

消毒处理	外植体	瓶数/瓶		污染数/瓶		污染率/%		成活数/瓶		成活率/%	
		冬季	春季	冬季	春季	冬季	春季	冬季	春季	冬季	春季
70%酒精浸泡 20 s+0.1%升汞 5 min	顶芽	14	16	10	14	71.4	87.5	4	2	28.6	12.5
	茎段芽	10	14	9	12	90.0	85.7	1	2	10.0	14.3
70%酒精浸泡 20 s+0.1%升汞 6 min	顶芽	15	15	6	7	40.0	42.0	9	8	60.0	53.3
	茎段芽	16	18	5	6	30.0	33.3	11	12	68.8	66.7
70%酒精浸泡 30 s+0.1%升汞 6 min	顶芽	16	14	2	2	12.5	14.3	13	12	81.3	85.7
	茎段芽	15	18	3	4	20.0	22.2	13	15	86.7	83.3
70%酒精浸泡 30 s+0.1%升汞 7 min	顶芽	15	18	4	6	26.7	33.3	10	10	66.7	55.6
	茎段芽	13	15	6	8	46.2	53.3	5	6	38.5	40.0
70%酒精浸泡 20 s+0.1%升汞 8 min	顶芽	15	15	3	2	20.0	13.3	7	8	46.7	53.3
	茎段芽	15	20	3	2	20.0	10.0	8	13	53.3	40.0

### 2.2 不同季节取材对外植体离体培养成活率及芽诱导率的影响

在相同培养基上进行离体培养不同季节取材的顶芽和茎段芽,其芽诱导率见表 2,对于冬季取材来说,茎段芽萌发的瓶数较顶芽的多,茎段芽诱导率为 86.7%,顶芽为 81.3%,引起该结果的原因可能是由于顶芽比茎段的腋芽较早形成,此时正值气候寒冷,再加上霜冻等诸多不良天气因素造成顶芽的生理状态比不上茎段芽,

接种到 MS+6-BA 1.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L 培养基中,观察外植体存活及污染情况以找出适合最佳消毒方法。

1.2.3 选择最佳的外植体部位 分别在冬、春季的花枝上选取生长健壮、饱满的顶芽和茎段芽,即从顶端数起前 2 个芽记为顶芽,其余为茎段芽。在无菌条件下切成 1.0~1.5 cm 左右长度,经消毒后接种于 MS+6-BA 1.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L 中,培养时光强 1 400 lx,每天光照 12 h,温度(25±2)℃。主要观察对比春、冬季材料顶芽和茎段芽的萌发效果,培养 7 d 后统计污染数(率)、死亡数(率)、萌发数(率)和继代后的增殖数(率)。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同的消毒时间对外植体成活率及污染率的影响

由表 1 可知,在 5 个消毒处理中,不论是对顶芽还是茎段芽,以处理(3)70%酒精 30 s+0.1%升汞 6 min 的消毒时间萌发率最高,均在 80%以上,处理(1)的萌发率最低,不到 30%;处理(2)、(4)、(5)的萌发率偏低,在 38.5%~68.8%,从经济方面考虑,既浪费植物材料又消耗成本,达不到组培的萌发要求,因此不宜作为最佳的消毒处理。而且处理(2)在接种后 15~25 d,茎段芽死亡率达 85%以上,而顶芽死亡率接近 100%。这可能与消毒时间过长,随着培养时间的延长污染进一步显现,处理(4)、(5)在接种 20 d 内也出现生长不良现象,这可能与消毒时间过长,对外植体已经造成一定伤害,随着培养时间的延长伤害逐渐表现出来。笔者认为该试验的成活率还比较低,据报道,在使用培养基一致的情况下,香石竹的诱导率可达 100%<sup>[6]</sup>,所以在后续的研究中还有待增加更多的消毒处理以便提高成活率及控制污染率。

相反地,在春季顶芽的诱导率(85.7%)和成活率高于茎段芽的诱导率(83.3%),分析原因认为春季气温回暖顶芽的生长势优于茎段的腋芽。

表 2 不同季节取材对外植体离体培养萌发率及芽诱导率的影响

外植体	瓶数/瓶		死亡数/瓶		萌发数/瓶		诱导率/%	
	冬季	春季	冬季	春季	冬季	春季	冬季	春季
顶芽	16	14	3	2	13	12	81.3	85.7
茎段芽	15	18	2	3	13	15	86.7	83.3

### 2.3 各外植体取植部位在离体培养中的反应

接种后萌发的顶芽、茎段芽在培养基 MS+6-BA 1.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L 中的生长情况如下。

2.3.1 顶芽 接种后 7 d, 开始有些小芽渐渐冒出来, 芽呈绿色。接种后经过 4 周培养约 80% 以上的顶芽可分化形成 1~3 个芽, 长约 2 cm 左右。在以后的 3 代继代培养中, 增殖明显, 生根效果较好, 丛生芽生长状况好(图 1)。

2.3.2 茎段芽 茎段芽从上面数起第 3 个芽往下的芽。茎段经过 7 d 的光照培养, 大部分不带腋芽或紧接茎尖的切段部位逐渐变黄而死亡, 存活下来的少, 但成活下来的培养 4 周后, 其叶片体积变大, 并在培养基上开始萌动, 开始进一步分化 1~2 个、甚至 3 个以上的小芽, 但芽细长, 叶片呈黄绿色, 生长力不旺盛, 萌发速度较顶芽的慢, 几次转瓶培养后, 叶片呈丛片状, 茎叶透明, 有玻璃化趋势(图 2), 分析原因可能与在取材过程中的受损程度、培养基不适合、培养条件有关。



图 1 顶芽的增殖培养

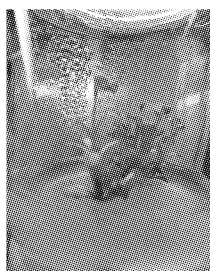


图 2 茎段芽的继代培养

### 3 结论与讨论

植物材料的表面往往带有多种微生物, 在把植物材料接种到培养基之前必须对其进行彻底的消毒, 以防止污染。但需要注意, 消毒剂在杀死多种微生物的同时对植物材料也是有毒的, 应当正确选择消毒剂的种类、浓度和时间, 保证植物材料在不被毒死的情况下达到最适的消毒效果。组培中最常用的消毒剂组合为 70% 酒精 30 s+0.1% 升汞。该研究表明, 70% 酒精 30 s 与 0.1%

升汞 6 min 的组合效果明显好于 70% 酒精 20 s 与 0.1% 升汞其它时间组合, 分析认为酒精不仅有表面消毒的作用, 还有浸润植物组织的作用, 相当于一把打开植物表面组织的钥匙, 让 0.1% 升汞更容易进入植物内部起进一步消毒的作用。在外植体的消毒过程中, 0.1% 升汞起着关键作用, 时间长短直接影响到外植体存活率, 时间太短起不到消毒的效果, 时间太长会毒害到外植体, 酒精 30 s 比酒精 20 s 的浸润时间多 10 s, 这更有利于 0.1% 升汞更快、更均匀进入组织内部, 所以 6 min 0.1% 升汞比 7、8 min 的消毒效果要好, 但试验的成活率还比较低, 70% 酒精 30 s+0.1% 升汞 6 min 还不是最佳的组合方法。还需进行更多的试验组合提高成活率。

对于取材时间, 要根据当时的季节合理取材, 才能保证其成活率。该研究认为在冬季取材应取茎段芽, 茎段作为培养材料易获得且数量相对顶芽多, 取材方便经济, 组培工作容易进行。在春季取材应取顶芽, 大部分植物在春季的生理状态最好, 香石竹的顶芽作为组培中常用的外植体在春季的萌发速度及在后续的培养中效果最好, 因此提倡采用切花为材料时宜在春季取顶芽做外植体, 这样可对继代培养及生根培养奠定较好的试验材料基础。

### 参考文献

- [1] 曹汝义, 刘国民. 实用植物组织培养技术教程 [M]. 修订本. 兰州: 甘肃科学技术出版社, 2000.
- [2] 周丹丽. 香石竹的茎尖培养及快速繁殖 [J]. 西南园艺, 2001, 29 (3): 41.
- [3] 张卫芳, 段新玲, 段黄金, 等. 香石竹组织培养快速繁殖技术初探 [J]. 塔里木农垦大学学报, 2000, 12 (2): 28-30.
- [4] 刘翠平, 金国良, 宋晶媛, 等. 香石竹茎段无性系的建立 [J]. 湖南文理学院学报 (自然科学版), 2003, 15 (4): 29-31.
- [5] 杨进, 钟利华. 香石竹组织培养丛生芽分化的初步研究 [J]. 湖北农学院学报, 2004, 24 (1): 45-47.
- [6] 杨艳洲. 香石竹离体组织培养特性的研究 [J]. 种子, 2005, 24 (8): 23-25.
- [7] 周丹丽. 香石竹的茎尖培养及快速繁殖 [J]. 西南园艺, 2001, 29 (3): 41.

## Effects of Different Season and Explants on the Forming of Bud Initiation of *Dianthus caryophyllus*

SU Jiang, CEN Zhong-yong, LU Yi-cong

(Department of Chemistry and Life Science, Hechi University, Yizhou, Guangxi 546300)

**Abstract:** Terminal buds and stem buds of *Dianthus caryophyllus* were used as materials for tissue culture in spring and winter, the effects of different season and explants on the forming of bud initiation of *Dianthus caryophyllus* were studied. The results showed that terminal buds used as explants in spring, which was disinfected by 70% alcohol 30 s with 0.1% HgCl<sub>2</sub> 6 min could obtain best plantlets. The best disinfection effect for explants was 70% alcohol 30 s with 0.1% HgCl<sub>2</sub> 6 min, terminal bud initiation was superior to stem buds initiation in spring, however, stem buds initiation was superior to terminal bud initiation in winter.

**Key words:** *Dianthus caryophyllus*; explants; bud initiation