

# 香石竹快速繁殖技术研究

宛淑艳, 包秀凤

(湛江师范学院 生命科学与技术学院, 广东 湛江 524048)

**摘要:**以中花散枝香石竹“红芭芭拉”的茎段为外植体,探讨不同培养基对香石竹的诱芽萌动、继代增殖和生根培养的影响。结果表明:外植体切取部位的诱导芽萌动率从高至低排序为:顶芽>带腋芽的茎段>不带腋芽的茎段;当培养基为 MS+6-BA 1.0 mg/L 时,对香石竹带腋芽的茎段芽萌动最好;在培养基为 1/2 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L 时,继代增殖长芽的效果最好;在培养基为 1/2 MS+6-BA 0.2 mg/L+NAA 0.5 mg/L 时,诱导不定根效果最好。

**关键词:**香石竹;顶芽;带腋芽的茎段;不带腋芽的茎段

**中图分类号:**S 681.503.8 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)06-0114-04

香石竹(*Dianthus caryophyllus*)石竹科石竹属多年生草本植物,又名康乃馨。其花朵绮丽、高雅,花色丰富,单朵花期长,在插花、花束、花篮、花环等中都被广泛应用,观赏价值高,与剑兰、郁金香、非洲菊一齐被誉为世界四大切花<sup>[1]</sup>。我国现已广泛栽培,近年来,随着国外优良品种的引进和栽培技术的逐步掌握,香石竹在中国种植面积成倍增加<sup>[2]</sup>。目前,为避免病毒积累及在短期

内大量生产以满足市场要求,国内外主要采用组织培养进行香石竹的快速繁殖。近年来,多花散枝香石竹正引起人们越来越浓的兴趣,受到消费者的青睐<sup>[3-5]</sup>。现以中花散枝香石竹“红芭芭拉”的茎段为外植体,通过不同种类或不同激素浓度的配比,探讨香石竹的外植体诱芽、继代增殖及生根培养的最适培养基,为短期大量工厂化生产提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试香石竹为中花散枝型品种“红芭芭拉”,购自湛江赤坎区百合鲜花店。供试器材有电子天平、无菌操作台、高压蒸汽灭菌锅等。试剂为 75%酒精、0.1%升汞、

**第一作者简介:**宛淑艳(1968-),女,黑龙江肇东人,博士,副教授,现主要从事植物功能基因及植物组织培养工作。E-mail: yuanwen-2005@163.com。

**基金项目:**湛江师范学院校内博士专项资助项目(ZL 0604)。

**收稿日期:**2011-12-05

[5] 李甯,唐道城,梁顺祥.生长调节剂对万寿菊药培养的影响[J].青海大学学报,2007(2):51-53.

[6] 余义和,李桂荣,王新娟.菊花离体培养体系的优化[J].陕西农业科学,2006(4):36-38.

[7] 刘军,赵兰勇,丰震,等.菊花叶片离体高效再生体系的建立[J].山东农业大学学报,2004,35(2):177-182.

[8] 施波,孙小琴,任甜甜,等.青蒿茎段愈伤组织的诱导及植株再生[J].湖北民族学院学报,2008(6):217-219.

[9] 张妙彬,李安,王小菁.非洲菊愈伤组织诱导和不定芽分化研究[J].广东农业科学,2008(6):53-59.

[10] 付洪伟,马德宝,程广有,等.杂种大花万寿菊试管苗繁殖[J].吉林农业学报,1999,15(1):34-35.

## Study on the Tissue Culture System of *Tagetes erecta* L.

ZHENG Jie, LI Su-qin, HUANG Hong-mei

(College of Oriental Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410128)

**Abstract:** Using leaves and stems as explants of *Tagetes erecta* L., the optimal medium at different stages of the tissue culture was studied to establish the tissue culture system of *Tagetes erecta* L.. The results showed that the leaves were fit for inducing callus. In MS medium with 6-BA 2.0 mg/L and NAA 0.2 mg/L, the callus induction rate was the highest. The optimum medium of the adventitious bud regeneration was MS medium with 6-BA 1.0 mg/L and NAA 0.1 mg/L. In 1/2MS medium with IBA 1.0 mg/L and IAA 0.8 mg/L, the root could be induced easily.

**Key words:** *Tagetes erecta* L.; tissue culture; explant

MS 母液、琼脂、蔗糖、6-BA、NAA 和 IBA。

1.2 试验方法

以 MS 为基本培养基,附加不同种类和浓度的激素,分别配成诱导芽萌发和继代增殖、生根培养基的培养基。每种培养基附加蔗糖浓度 30 g/L,琼脂浓度 6 g/L,pH 为 5.8~6.0,培养温度 15~25℃,光照时间 10~12 h。

1.2.1 初代生芽培养基 分为 5 个参照对比,每种培养基接 12 瓶,每瓶平均 2 株。(1)MS+6-BA 0.5 mg/L;(2)MS+6-BA 1.0 mg/L;(3)MS+6-BA 1.5 mg/L;(4)MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L;(5)MS+6-BA 1.5 mg/L+NAA 0.2 mg/L。

1.2.2 继代增殖培养基 分为 3 个参照对比,每种培养基接 12 瓶,每瓶平均 2 枝。(6)MS+6-BA 0.5 mg/L;(7)1/2MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.2 mg/L;(8)1/2MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L。

1.2.3 生根培养基 分 4 个参照对比,每种培养基接 12 瓶,每瓶平均 1 枝。(9)MS+NAA 0.5 mg/L;(10)1/2MS+NAA 0.5 mg/L;(11)1/2MS+6-BA 0.2 mg/L+NAA 0.5 mg/L;(12)1/2MS+6-BA 0.2 mg/L+IBA 0.5 mg/L。

1.2.4 外植体的选取与处理 选取生长健壮、叶片饱满浓绿、无病虫害的中花散枝型香石竹“红芭巴拉”植株,小心地剥去大叶;切取不同的部位(顶芽、带腋芽的茎节、不带茎节的茎段)剪成 3~5 cm 的茎段。先用洗衣粉

快速冲洗,再用自来水冲洗干净,在操作台上用 75%酒精快速洗刷 1 遍(不超过 30 s),然后用无菌水冲洗净 2~3 次,再浸在 0.1%升汞溶液中 8~10 min,并慢速搅拌,再用无菌水漂洗 4~5 次后,浸泡在无菌水中备用。在已灭菌的操作台上切除材料的两端,切取 0.5~1.0 cm 的茎段分别接种在不同的诱芽培养基上。在适宜的环境下培养 20~25 d;再转移到继代培养基上培养 15~20 d;将长势较好的幼苗接种到生根培养基上培养约 15 d。培养过程均观察并记录。

2 结果与分析

2.1 不同培养基对香石竹带腋芽的茎节诱芽萌动的影响

将“红芭巴拉”的带腋芽茎节接种在不同诱导芽萌动的培养基上,经过一段时间后进行观察并记录。由表 1 可知,培养基(1)、(2)、(3)中单独加入 6-BA,当 6-BA 为 1.0 mg/L 时,芽萌动最快,芽萌动率最高,为 90.9%,长势最强,淡绿色,芽较粗,分化系数约为 3(图 1)。低于或高于该浓度时,分化系数均下降。由培养基(4)、(5)和单加 6-BA 的培养基相比较,在同时加入 6-BA 和 NAA 的培养基下芽萌动数有所降低,长势也略差(图 2)。由此说明香石竹的芽萌动主要受细胞分裂素的影响。但培养基(4)出现较多愈伤,表明该配方可作为愈伤诱导培养。经过筛选,香石竹芽萌动培养基的适宜配方为 MS+6-BA 1.0 mg/L+琼脂 6 g/L+蔗糖 30 g/L。

表 1 不同培养基对香石竹带腋芽的茎节诱芽萌动的影响

初代培养基	接种数/个	成活数/个	污染率/%	诱芽萌动数/个	诱芽萌动率/%	分化系数	生长状况(7 d)	生长状况(20 d)
(1)MS+6-BA 0.5 mg/L	24	16	33.3	4	22.2	1	未出芽,萌动较慢	长势最弱,愈伤少许
(2)MS+6-BA 1.0 mg/L	24	22	8.3	20	90.9	3	出芽最快,淡绿	长势最强,芽较粗,浓绿
(3)MS+6-BA 1.5 mg/L	24	15	37.5	5	33.3	2	出芽较慢,浅绿	长势较弱,浅绿
(4)MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L	24	22	8.3	10	45.4	1	出芽较慢,淡绿,愈伤较多	长势尚可,浅绿
(5)MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.2 mg/L	24	18	25.0	5	27.8	0	未出芽	长势较弱,出芽很少

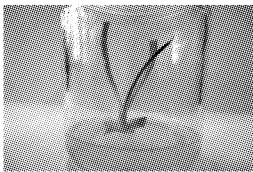


图 1 带腋芽的茎段在培养基 (2)上诱导芽萌动(培养 20 d)

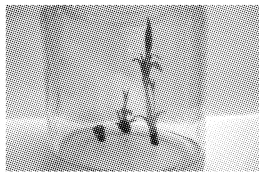


图 2 带腋芽的茎段在培养基 (4)上诱导生芽(培养 20 d)

2.2 香石竹外植体不同切取部位对诱导芽的影响

为充分利用资源及探讨同种植株的不同部位对诱芽萌动的影响,该试验从筛选出诱导芽分化的最适培养基 MS+6-BA 1.0 mg/L+琼脂 6 g/L+蔗糖 30 g/L,再切取同种“红芭巴拉”植株的顶芽、带腋芽的茎节、不带茎节的茎段 3 种不同部位的外植体,分别接种到该最适培养基上培养约 15 d,观察其诱芽结果。

由表 2 可知,顶芽的分化率最高,为 100%,无玻璃化现象(图 3)。顶芽含有大量的分生组织,因而产生的

丛芽数最多,分化能力高。分生组织能减少病毒的侵染<sup>[6]</sup>,因此顶芽为脱毒培育优质品种的好材料。带腋芽的茎段分化率次之(图 4),腋芽内的分生组织处于潜在状态,只有在适宜条件下才活跃起来。而不带腋芽的茎段分化率最低,约为 16.7%,且容易出现玻璃化现象(图 5)。在培养 20 d 后,茎段切口变褐,大部分未经分化而最后死亡。茎段中有木质部和韧皮部起着支持的作用,分生能力弱<sup>[7]</sup>。

表 2 香石竹外植体不同切取部位诱导芽结果

切取部位	接种瓶数/个	玻璃苗瓶数/个	瓶均芽数/个	芽均分化率/%
顶芽	4	0	4	100.0
带腋芽的茎段	4	1	3	75.0
不带腋芽的茎段	4	3	1	16.7

2.3 不同培养基对香石竹带腋芽的茎节获得的丛芽继代培养的影响

经初代培养,将香石竹的带腋芽的茎节诱芽获得的

长势较好芽苗切取下来接种到继代培养基(6)、(7)、(8)上,经过 20 d 的培养。由表 3 可知,培养基(8)上丛芽大量增加,分化效果最好,芽分化率达到 90.9%,植株长势强,且叶片浓绿、厚(图 6)。与其它 2 种培养基相比,培养基(8)中的 6-BA 含量较高,诱导芽分化的效果增强。据报道,芽分化增殖与 6-BA 和 NAA 的浓度比有关<sup>[8-9]</sup>。6-BA 能促进细胞分裂,诱导芽分化,使组织分化出不定芽。在组织内,细胞分裂素起主导作用,促进芽的萌发。



图 3 顶芽在培养基(2)

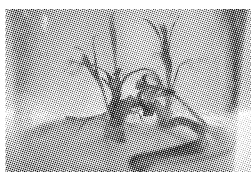


图 4 带腋芽的茎段在培养基(2)

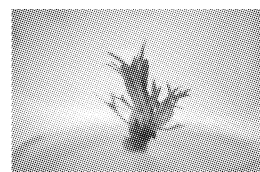


图 5 不带腋芽的茎段在培养基(2)

表 3 不同培养基对香石竹带腋芽的茎节获得的丛芽继代培养的影响

继代培养基	接种数/个	污染数	污染率/%	分化芽数/个	芽分化率/%	生长状况
(6)MS+6-BA 0.5 mg/L	12	1	8.3	24	54.5	幼苗长高但细弱,丛芽分化少,叶片浅绿且薄,较少出现玻璃化苗
(7)1/2MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.2 mg/L	12	0	0	28	83.3	幼苗长高,植株变粗壮,丛芽分化较多,叶色浓绿,玻璃化苗较少
(8)1/2MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L	12	1	8.3	55	90.9	幼苗长高,细长,丛芽大量增加,叶色浓绿,叶片长且厚,出现玻璃化变多

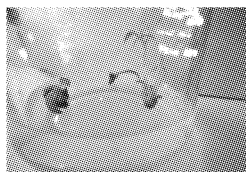


图 6 带腋芽的茎节在培养基(8)

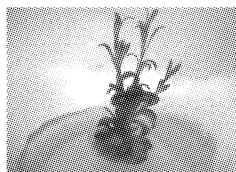


图 7 带腋芽的茎节在培养基(7)



图 8 带腋芽的茎节在培养基(8)

丛芽继代(培养 20 d)

丛芽继代(培养 20 d)

丛芽继代玻璃化(培养 20 d)

#### 2.4 不同培养基配方对继代丛芽生根的影响

将较好的香石竹带腋芽的茎节诱导芽获得的无根芽苗,切除基部的老化或褐变的愈伤部分,分别接种在生根培养基(9)、(10)(图 10)、(11)、(12)上,培养 15 d 并观察记录生长状况。由表 4 可知,NAA 浓度为 0.5 mg/L 单独使用时,生根速度较慢,但根量较多,质量较好。对 MS 培养基和 1/2MS 培养基相比较,前者诱导不定根的效果略差,但差异不显著。在 1/2MS 中,NAA 和 6-BA 同时使用时,生根速度较快,但基部出现少许愈伤,部

但培养基(6)比培养基(7)的芽分化率低,其芽分化率少,仅 54.5%,植株长高但细弱,有玻璃化现象。而培养基(7)由 1/2MS 培养基配合 NAA 共同作用,效果则较好。培养基(7)和培养基(8)比较表明,在特定的培养条件下,适当增加 6-BA 浓度,能增强芽分化的效果,同时玻璃化苗也增多(图 8)。经过筛选,培养基(7)用于壮苗最佳(图 7),培养基(8)则适宜作继代培养。

表 4 不同培养基对继代丛芽生根的影响

生根培养基	接种数	生根时间/d	污染率/%	生根芽数	生根率/%	生根状况
(9)MS+NAA 0.5 mg/L	12	15~20	25.0	4	44.4	根生长慢,根量较多且细,气生根多
(10)1/2MS+NAA 0.5 mg/L	12	12~18	16.7	5	50.0	根生长较慢,根细,多为气生根
(11)1/2MS+6-BA 0.2 mg/L+NAA 0.5 mg/L	12	10~15	16.7	8	80.0	根生长速度快,气生根量最多且粗壮,少许愈伤
(12)1/2MS+6-BA 0.2 mg/L+IBA 0.5 mg/L	12	10~15	8.3	6	54.5	少量气生根生成,根较细,部分形成愈伤组织

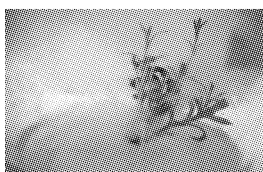


图 9 带腋芽的茎节在培养基(11)丛芽生根(培养 20 d)



图 10 带腋芽的茎节培养基(10)丛芽生根(培养 20 d)

### 3 结论与讨论

通过试验筛选出,在 MS+6-BA 1.0 mg/L+琼脂 6 g/L+蔗糖 30 g/L 时,带腋芽的茎段诱导芽萌动较好;“红芭芭拉”的外植体切取部位的诱导芽萌动率从高至低排序为:顶芽>带腋芽的茎段>不带腋芽的茎段,以顶芽作为外植体,诱导芽萌动率最高;在 1/2MS+



6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L 时,继代增殖长芽的效果最好;在 1/2MS+6-BA 0.2 mg/L+NAA 0.5 mg/L 的培养基上,诱导不定根萌动的效果较佳。从继代增殖与生根培养试验中可知,其它条件一定时,配比 6-BA 和 NAA 的不同浓度,其主要的效果也不同。

刘开辉等<sup>[8]</sup>在香石竹的诱芽萌动和增殖试验中得出,生长调节剂对芽萌发和增殖影响最大,细胞分裂素过高具有抑制作用;但过低,芽分化的效果不好,这与该试验结果基本一致。外植体切取部位对诱芽的影响试验结果,与杨进等<sup>[9]</sup>研究的结果有分歧,其研究认为:腋芽内的分生组织处于潜在状态,只有在适宜条件下才活跃起来;不带腋芽的茎段分化率为零。而该试验结果表明,不带腋芽的茎段分化率为 16.7%。说明在一定的培养条件下,不带腋芽的茎段仍可以诱导芽分化。但考虑到材料的丰富性和节约资源的原则,与分生能力较差的不带腋芽的茎段相比,采用带腋芽的茎段作为组培大规模生产香石竹的材料应是较理想的选择。

在生根培养时,没有达到最佳效果,气生根较多。前人报道 IBA 多用于诱导试管苗生根<sup>[10]</sup>,对 IBA 能否促进试管苗增殖有人持相反意见<sup>[11]</sup>。而该试验表明,IBA 对香石竹组培生不定根有作用,但效果不佳。也有报道表明,NAA 浓度达到 2.0 mg/L 以上,生根率虽不

低,但多数为气生根,使生根有效率降低<sup>[12]</sup>。而该试验使用 NAA 的浓度为 0.5 mg/L,气生根较多,这方面的原因还待进一步探讨与研究。

### 参考文献

- [1] 徐颂军,李娘军. 认识花草[M]. 广州:广东人民出版社,2002.
- [2] 夏宜平. 切花周年生产技术[M]. 北京:中国农业出版社,2000.
- [3] Miller R, Kaul M, Hutchinson J F. Adventitious shoot regeneration in carnation(*Dianthus caryophyllus* L.) from axillary bud explants[J]. Annals of Botany, 1991, 67: 35-42.
- [4] 王磊,张瑞麟. 石竹[M]. 北京:中国林业出版社,2004.
- [5] 周旭红,莫锡君,龙江,等. 多头香石竹组培快速繁殖研究[J]. 北方园艺, 2008(1): 196-197.
- [6] 沈海龙. 植物组织培养[M]. 北京:中国林业出版社,2009.
- [7] 李合生. 现代植物生理学[M]. 北京:高等教育出版社,2002.
- [8] 刘开辉,丁小维. 不同浓度的外源激素对香石竹组织培养的影响[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(19): 5735-5736.
- [9] 杨进,钟丽华. 香石竹组织培养丛芽分化的初步研究[J]. 湖北农业学报, 2004, 24(1): 45-47.
- [10] 李明军,陈明霞,洪森荣,等. NAA、IBA 和 PP<sub>333</sub> 对怀山药试管苗生长发育的影响[J]. 广西植物, 2004, 24(4): 376-379.
- [11] 柴慈江,魏志勇. 晚红葡萄试管苗快速繁殖技术研究[J]. 北方园艺, 2005(1): 61-62.
- [12] 张卫龄,段新玲. 香石竹组织培养快繁技术初探[J]. 塔里木农垦大学学报, 2000, 12(2): 28-31.

## Study on Rapid Propagation Techniques of *Dianthus caryophyllus*

WAN Shu-yan, BAO Xiu-feng

(School of Life Science and Technology, Zhanjiang Normal University, Zhanjiang, Guangdong 524048)

**Abstract:** With the stem of *Dianthus caryophyllus* as explants, the effects of different media on the shoot bud induction, subculture and rooting were investigated. The results showed that the parts of the explants induced shoots sprout rate from high to low order was terminal bud>internode with axillary buds>without internodes of the stem; on the medium MS+6-BA 1.0 mg/L, the internode with axillary buds to sprout was the best; on the medium 1/2MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L, subculture sprouting was the best and on the medium 1/2MS+6-BA 0.2 mg/L+NAA 0.5 mg/L, the induction of adventitious roots was the best.

**Key words:** *Dianthus caryophyllus*; apical bud; internodes with axillary bud; non-internode stem segments