

不同浓度的外源激素对香石竹组织培养的影响

刘开辉, 丁小维, 邓百万, 陈文强, 刘飞虎*

(1. 陕西理工学院陕西省资源生物重点实验室, 陕西汉中 723001; 2. 云南大学生命科学学院, 云南昆明 650091)

摘要 研究了不同浓度的外源激素对香石竹组织培养过程中愈伤组织诱导、芽分化和芽增殖的影响。结果表明, 愈伤组织的诱导与BA与NAA浓度比及KT浓度有关; 芽诱导与BA、KT、NAA均有关; 芽增殖与BA的浓度及BA和NAA的浓度比有关。MS+BA 0.3 ng/L+KT 0.5 ng/L+NAA 1.0 ng/L培养基对愈伤组织诱导效果最好; 最佳的芽分化培养基为MS+BA 0.5 ng/L+KT 0.5 ng/L+NAA 2.0 ng/L, 芽分化率达65%; 芽增殖培养基以MS+BA 0.3 ng/L+NAA 0.1 ng/L为最佳, 增殖芽数最多, 玻璃化率最低。

关键词 香石竹; 组织培养; 激素

中图分类号 S682.1+9 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2007)19-05735-02

Effect of Exogenous Hormone with Different Concentration on Tissue Culture of *Dianthus caryophyllus*

LIU Kai-hui et al (Shaanxi University of Technology, Shaanxi Key Laboratory of Resource Biology, Hanzhong, Shaanxi 723001)

Abstract The analysis on the effects of exogenous hormone with different concentration on callus initiation, bud differentiation and bud multiplication showed that callus initiation had correlation to the concentration ratio of BA and NAA, and KT concentration. The bud initiation related to BA, KT and NAA. The bud multiplication related to the concentration of BA and concentration ratio of BA and NAA. MS medium supplemented with 0.3 ng/L BA, 0.5 ng/L KT and 1.0 ng/L NAA had the best effect on callus initiation. The preferable medium for bud differentiation was MS medium supplemented with 0.5 ng/L BA, 0.5 ng/L KT and 2.0 ng/L NAA, and the preferable medium for bud multiplication was MS medium supplemented with 0.3 ng/L BA and 0.1 ng/L NAA. It had most multiplication buds and the lowest vitrification rate.

Key words *Dianthus caryophyllus*; Tissue culture; Hormone

香石竹(*Dianthus caryophyllus* Linn), 又名康乃馨, 为石竹科石竹属多年宿根性草本植物, 是世界著名四大切花之一。香石竹以其花姿优美、花色艳丽、保鲜期长等特点为人们所喜爱。目前香石竹市场需求量很大, 而常规的扦插繁殖和无性繁殖无法满足市场的需求。组织培养是在短期内大量快速繁殖苗木、满足市场需求的有效途径。目前关于香石竹组织培养方面的研究主要集中在玻璃化问题的解决^[1-2], 而关于激素对香石竹组织培养的影响报道较少^[3]。笔者研究了不同外源激素对香石竹组织培养的影响, 旨在为香石竹快速繁殖及大规模生产提供理论依据。

1 材料与方 法

供试香石竹叶片由云南省农业科学院花卉研究所提供。取香石竹茎上部嫩叶, 经自来水冲洗1 h后, 用滤纸吸干表面水分, 再用75%酒精消毒30 s, 然后用0.1% HgCl₂消毒6 min, 无菌水冲洗5~6次, 横切成0.3~0.5 cm长的叶段。以MS^[4]为基本培养基(附加蔗糖3.0%, 琼脂0.6%), 调节pH值为6.0。在温度(20±2)、光照强度2 000 lx、光照12 h/d的条件下, 研究不同浓度的外源激素对诱导愈伤组织、芽诱导、芽增殖的影响。

2 结果与分析

2.1 不同浓度的外源激素对诱导愈伤组织的影响 表1表明, 在培养基₁、₂上的叶段5 d后出现膨大, 90%以上的叶段边缘开始产生愈伤颗粒, 色浅, 第30天愈伤组织均明显增多; 在培养基₃上的愈伤组织更多, 且结构较致密; 而在培养基₄、₅、₆上的叶段5 d后出现膨大, 但产生愈伤颗粒的叶段只有80%左右, 第30天愈伤组织增多不明显, 有些甚至无变化, 愈伤组织结构较松散。这说明香石竹愈伤组织诱导以₃号培养基MS+BA 0.3 ng/L+KT 0.5 ng/L+NAA 1.0

ng/L的诱导效果较好。

表1还表明, 外植体愈伤组织的诱导与细胞分裂素、生长素的浓度比有关。在附加细胞分裂素BA的培养基中, 愈伤组织随着BA与NAA浓度比的增大而增多; 在附加细胞分裂素BA和KT的培养基中, KT的浓度也影响愈伤组织的诱导。

表1 不同浓度的外源激素对诱导愈伤组织的影响

序号	培养基组成	处理的材料数	5 d后的生长表现	第30天的生长表现
1	MS+BA 0.1 ng/L+NAA 0.5 ng/L	30	23块叶片产生愈伤颗粒	愈伤组织少, 色浅绿, 结构较松散
2	MS+BA 0.3 ng/L+NAA 1.0 ng/L	30	25块叶片产生愈伤颗粒	愈伤组织较多, 色浅绿, 结构较松散
3	MS+BA 0.5 ng/L+NAA 2.0 ng/L	30	28块叶片产生愈伤颗粒	愈伤组织多, 色浅绿, 结构较松散
4	MS+BA 0.1 ng/L+KT 0.5 ng/L+NAA 0.5 ng/L	30	24块叶片产生愈伤颗粒	愈伤组织无变化, 色浅绿, 结构较松散
5	MS+BA 0.3 ng/L+KT 0.5 ng/L+NAA 1.0 ng/L	30	28块叶片产生愈伤颗粒	愈伤组织多, 色浅黄, 结构较致密
6	MS+BA 0.5 ng/L+KT 0.5 ng/L+NAA 2.0 ng/L	30	23块叶片产生愈伤颗粒	愈伤组织较多, 色浅绿, 结构较松散

2.2 不同浓度的外源激素对芽诱导的影响 表2表明, ₃号培养基上芽分化率达到了65%, ₁号培养基上芽分化率最低, 仅为5%, ₂号培养基上芽分化率为18%。而从分化出的芽生长情况来看, 3个培养基上分化芽的生长状态也明显不同。₃号培养基上的芽生长状态最好, 芽生长健壮, 芽叶色绿, 且只有12%的芽玻璃化; ₁号培养基上分化出的芽33%玻璃化, 玻璃化较严重; ₂号培养基上50%的芽畸形、玻璃化, 玻璃化最严重。这说明香石竹芽诱导以₃号培养基MS+BA 0.5 ng/L+KT 0.5 ng/L+NAA 2.0 ng/L的诱导效果较好。

表2还表明, 3种培养基配方均能诱导芽的分化, 但诱导的芽均有不同程度的玻璃化, 且生长状态明显不同。培养基的诱导效果较好, 芽分化率、芽苗平均高度均最高, 而玻璃化率最低。在附加2,4-D和KT培养基上的芽分化率低, 可

基金项目 陕西省教育厅重点科研项目(03JK027)。

作者简介 刘开辉(1979-), 男, 陕西旬阳人, 硕士, 讲师, 从事生物资源的保护、开发与利用工作。* 通讯作者。

收稿日期 2007-03-05

能与在常用细胞分裂素中KT作用最弱有关,而芽畸形、玻璃化严重,可能与2,4-D易引起细胞发生变异及2,4-D较NAA易引起芽玻璃化有关。

表2 不同浓度的外源激素对芽诱导的影响

序号	培养基组成	愈伤芽分		形成芽苗 平均高度 cm	生长性状
		组织 块数	化率 %		
	MS + BA 0.2 ng/L + NAA 0.2 ng/L	25	18	2.0	33%的芽全部玻璃化,其他生长正常,叶片绿
	MS + BA 0.5 ng/L + KT 0.5 ng/L + NAA 2.0 ng/L	25	65	4.5	12%的芽略有玻璃化,其他生长健壮,色绿
	MS + KT 0.5 ng/L + 2,4-D 0.2 ng/L	25	5	1.8	50%的芽玻璃化、畸形,芽叶未张开

2.3 不同浓度的外源激素对芽增殖的影响 表3表明,附加不同浓度的BA、NAA的培养基上芽的增殖率和生长性状明显不同。芽增殖培养基以①号培养基MS + BA 0.3 ng/L + NAA 0.1 ng/L为最佳,每个外植体芽增殖数达到5.4个,且芽苗生长健壮,芽玻璃化最低;而②号培养基MS + BA 0.1 ng/L + NAA 0.5 ng/L上,每个外植体芽增殖数最少,只有3.4个,芽苗生长状态一般,且芽玻璃化率最高,达到76.0%;③号培养基MS + BA 0.5 ng/L + NAA 0.3 ng/L上,每个外植体芽增殖数较少,芽玻璃化率达到69.7%。

表3 不同浓度的外源激素对芽增殖的影响

序号	培养基组成	处理的 材料数	每个外植体芽玻璃化		生长性状
			增殖芽数	率 %	
	MS + BA 0.1 ng/L + NAA 0.5 ng/L	26	3.4	76.0	生长状态一般,茎干明显,叶色浅、不均匀,苗叶宽,不长,有扫把状叶片
①	MS + BA 0.3 ng/L + NAA 0.1 ng/L	26	5.4	60.8	生长健壮,茎干明显,叶色深绿、均匀,叶片光滑,苗叶细,不长
②	MS + BA 0.5 ng/L + NAA 0.3 ng/L	26	4.3	69.7	生长状态一般,叶色浅绿、不均匀,苗叶宽、短,有扫把状叶片
③	MS + BA 0.1 ng/L + KT 0.2 ng/L + NAA 0.3 ng/L	26	3.1	77.2	生长状态一般,叶色浅绿、均匀,苗叶细长,有扫把状叶片
④	MS + BA 0.3 ng/L + KT 0.2 ng/L + NAA 0.5 ng/L	26	4.1	58.7	生长状态较好,叶色绿、均匀,苗叶细长,有扫把状叶片
⑤	MS + BA 0.5 ng/L + KT 0.2 ng/L + NAA 0.1 ng/L	26	3.8	74.6	生长状态一般,叶色绿、不均匀,苗叶宽、短,有扫把状叶片

表3还表明,当BA与NAA浓度比小于3时,芽增殖数随着BA与NAA浓度比的增大而增加;当BA与NAA浓度比大于3时,芽增殖数随着BA与NAA浓度比的增大而减少;当BA与NAA浓度比为3时,每个外植体增殖芽数最多,玻璃化最低。这说明香石竹芽增殖数不仅与BA浓度有关,而且与BA与NAA浓度比有关。

3 小结

(1) 在植物组织培养中,促进植物离体培养物愈伤组织形成的常用外源激素是BA、NAA、KT、2,4-D^[4]。吴林森认为,矮牵牛愈伤组织的增殖与BA的浓度相关性较大^[5]。肖波等通过正交试验表明BA、2,4-D、NAA对芦荟叶片愈伤组织的诱导效果明显,且以BA效果最好^[6]。而该研究发现,愈伤组织的诱导与BA、NAA浓度比有关,同时KT浓度也能影响愈伤组织的诱导。

(2) 促进植物愈伤组织分化芽的常用外源激素是BA、NAA、KT、2,4-D^[4]。张卫芳等认为,芽诱导主要与BA浓度有关^[7]。而该研究发现,芽诱导与BA、KT、NAA浓度均有关,在附加BA、KT和NAA的培养基上芽诱导较附加BA和NAA培养基的效果好,而附加2,4-D和KT培养基上芽不能正常生长。

(3) 香石竹芽增殖除与BA的浓度有关,还与BA和NAA的浓度比有关。当BA浓度为0.3 ng/L,BA与NAA浓度比为3时,增殖芽数最多,玻璃化率也最低。玻璃化现象是香石竹组织培养中一个主要问题^[1]。该研究发现,降低培养室温度,增大琼脂浓度,使用透气性膜均能减轻苗的玻璃化。

参考文献

- [1] 李瑶,王利华,叶鸣明,等.影响香石竹试管苗玻璃化的因素[J].植物生理学通讯,1997,33(4):256-258.
- [2] 黄宇翔,李章汀,张晓耕.香石竹茎尖试管苗继代培养玻璃化现象的研究[J].中国农学通报,2005,21(3):81-83.
- [3] 周菊华,郑晓霞,梁海曼.NAA、BA和KT对麝香石竹不定芽形成的影响[J].上海农业学报,1992,8(3):79-83.
- [4] 曹孜义,刘国民.实用植物组织培养技术教程[M].甘肃:甘肃科学技术出版社,1996:52-53.
- [5] 吴林森.探讨不同浓度的外源激素对矮牵牛组织培养的影响[J].山东林业科技,2005,156(1):9-10.
- [6] 肖波,廖尔华,胡开治,等.植物生长物质诱导芦荟叶片愈伤组织效果的研究[J].中国农学通报,2006,22(1):163-165.
- [7] 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.