

不同激素对金鱼草茎尖组织培养效果初探

李竹英, 钱艳红, 毛绍春

(云南省玉溪农业职业技术学院, 653106)

摘要:通过用MS培养基为基础培养基,附加不同激素种类及浓度组合,探讨了不同激素及水平对金鱼草(*Antirrhinum Majus*)茎尖组织培养的效果。研究表明,将金鱼草的茎尖(一般带有两片小叶约1 cm~1.5 cm长的顶端)接于MS+0.6 mg/L 6-BA+0.1 mg/L NAA的培养基上进行芽的诱导,约15 d便可诱导出大量的丛生芽,一般20 d~25 d可为一个增殖周期,待增殖达到一定(生产需要)的数量时,再将其茎尖转接到1/2MS+0.5 mg/L NAA+0.1 mg/L IBA的生根培养基上进行生根培养,约10 d便可开始生根,经过20 d~25 d的培养,小苗长至10 cm~12 cm左右并形成2 cm左右的粗壮主根系,须根多而不密,幼苗生长健壮,经过炼苗后便可移植到土壤上生长。

关键词:金鱼草;激素水平;组织培养;效果

中图分类号:S603.6;S681.9 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2006)03-0130-02

随着社会主义市场经济的发展和人们生活水平的提高,在切花生产中花朵绚丽、高雅、馨香、花色丰富、花期长已成为人们的追求。金鱼草在园林中的用途极为广泛,除可栽入花坛、花镜和花带,还可用于花丛和花群,观赏价值很高,全草均可入药,具有消热凉血和消肿的功效,外敷可治肿毒和跌打损伤等症^[1]。金鱼草价格低廉,深受消费者喜爱,进行不同激素及水平对金鱼草茎尖组织培养的探析,对满足消费者的市场需求,提高其繁殖系数,具有重要意义。

1 材料和方法

1.1 植物材料

金鱼草(*Antirrhinum Majus*)品种为F₁紫红色四倍体(由7-18与晚杂-1杂交而来)。幼苗的茎尖一般带有两片小叶,1 cm~5 cm长。

1.2 试验方法

1.2.1 培养基的配制及灭菌 用MS培养基为基础培养基,每升中附加6.5 g琼脂,30 g蔗糖,不同激素水平,加热溶解,将pH值调节至5.8,分装于250 ml玻璃瓶中,加膜扎紧封口,然后放入高压锅中,在121℃的温度下灭菌20 min。冷却凝固放置无菌室内5 d。观察无污染状况再使用。

1.2.2 茎尖处理及消毒 首先用自来水浸泡半小时后,再用蒸馏水加少量洗衣粉浸泡5 min,以彻底洗去茎尖上的杂物。之后用蒸馏水冲洗2次,以洗去茎尖上洗衣粉残留物。放在吸水纸上吸去多余的水分后,放入超净工作台用70%~

75%的酒精浸泡5 s,再加1滴“土温80”,用0.1%升汞液浸泡6 min~8 min(升汞液要超过茎尖体积的2/3),用无菌水冲洗3次以后接种。

1.2.3 接种 在无菌条件下,将准备好的金鱼草茎尖接种于玻璃瓶中的培养基。

1.2.4 培养条件 接种后的金鱼草放在温度为22℃±1℃,光照强度1 800 Lx~2 000 Lx的环境条件下培养,每天光照时数14 h~16 h。

2 结果和分析

2.1 不同激素水平对芽的诱导

在植物组织培养中,外植体由于受到切伤后分泌的内源激素和培养基中添加的外源激素共同作用,往往会发生愈伤组织,而芽的产生是由于激素的刺激素促进了腋芽的萌发^[2]。激素的不同浓度和不同组合,对金鱼草茎尖愈伤组织的形成和芽萌发,以及对芽的长势都有较大差异。

经观察本试验中从外植体上长出的小芽多数是起源于腋芽和幼嫩茎组织的不定芽,愈伤组织分化的较少,甚至没有。在培养后期,有部分外植体的叶变为红色,或在叶片长出肿胀、扭曲的突起,并发现两棵坏死苗。

愈伤组织的形态质地往往决定器官发生的部位和能力,结构疏松的愈伤组织缺少有组织的结构,有大量的细胞间隙,一般很难形成生根中心,产生维管组织,坚实致密的愈伤组织,无大的细胞间隙,由管状细胞组成维管等组织,易分化为植物器官的原基。这两种状态可通过调节生长激素的浓度来实现,高浓度形成疏松型,低浓度形成坚实型。如:NAA浓度高时,愈伤组织形成疏松型,NAA浓度低时愈伤组织形成坚实型。而分裂素则相反,如6-BA浓度高时愈伤组织形成坚实型,浓度低时形成疏松型,并且分化的速度慢^[3]。由表1可知:处理1中,芽的分化不清晰,新芽较纤细柔弱;处理2中,芽分化率低,新芽纤细;处理3中,芽的分化率较高,并且分化清晰;处理4中,芽的分化程度高,分化清晰,并且新芽粗壮。经过试验表明,在一定的浓度范围内6-BA的浓度高,则芽的分化率高,但分化不清晰,幼嫩茎过于纤细,柔弱不强壮,但



第一作者简介:李竹英,女,1966年生,讲师,1988年7月毕业于西南农业大学园艺系,2001~2003攻读该校农业推广硕士研究生,2003年11月取得硕士学位,1988年至1995年在云南省玉溪市供销社从事冬早蔬菜生产指导工作,1995年调入

云南省玉溪农业职业技术学院任教至今,主要从事园林、园艺专业的专业课教学及研究工作。

收稿日期:2005-12-06

是若与 0.1 mg/L 的 NAA 组合使用,芽的分化程度高,并且健壮。23 d 左右便可以完成一个增殖周期。因此从芽的诱导来看,最优的处理是 0.6 mg/L 6-BA+0.1 mg/L NAA。

2.2 不同激素水平对根的诱导

表 1 不同激素水平下芽的诱导

处理号	6-BA 浓度 (mg/L)	NAA 浓度 (mg/L)	培养天数 (d)	培养棵数 (棵)	长芽个数 (个)	愈伤组织形态	芽的形状
1	0.6	-	22	50	103	坚实型,黄白色	芽分化不清晰并且较细,柔弱
2	0.4	-	22	50	93	疏松型,淡黄色	芽多而纤细,分化差
3	0.6	0.1	22	50	105	坚实型,黄绿色	芽较多并分化清晰
4	0.4	0.1	22	50	95	疏松型,鲜黄色	芽多而粗壮,分化清晰

表 2 不同激素水平下根的诱导

处理号	MS 用量	NAA 浓度 (mg/L)	IBA 浓度 (mg/L)	培养天数 (d)	培养 棵数	长芽个数 (个)	根分化率 (%)	根生长情况
1	1/2	0.1	-	20	50	20	40	根生长慢,根体纤细不健壮
2	1/2	0.5	-	20	50	46	92	根生长快,主根生长健壮
3	1/2	1.0	-	20	50	49	98	根生长快,但须根多
4	1/2	0.1	0.1	20	50	45	90	根分化率低,主根清晰
5	1/2	0.5	0.1	20	50	47	94	根生长快,主根清晰较粗壮
6	1/2	1.0	0.1	20	50	50	100	根长的很快,但只长须根,布满整个瓶底

从试验诱导根形成的情况看,NAA 浓度在 0.1 mg/L~1 mg/L 之间,根的分化率和 NAA 浓度成正比,NAA 浓度高则根分化的快而多。从表 2 可以看出,当 NAA 的浓度达到 1.0 mg/L、IBA 为 0.1 mg/L 时,生根率达到了 100%,但是所生的根绝大多数为须根,这种须根在移植时,清洗过程中常会脱落,也很难生长成活,难以适应大田栽种。当 NAA 的浓度达到 0.5 mg/L 并且再加上 0.1 mg/L 的 IBA 时,根的分化率达到 94%,并且根分化清晰,主根粗长健壮,经炼苗后很容易适宜土壤栽培,是理想的生产苗。因此从对根的诱导来看,最优的组合是 0.5 mg/L NAA+0.1 mg/L IBA。

3 结论

通过用茎尖对金鱼草进行组织培养试验表明,利用茎尖进行组织培养可以大量繁育金鱼草植株,促进快速繁殖工作的进行。

激素 6-BA(6-苄基氨基嘌呤)和 NAA(萘乙酸)以适当的浓度进行配比组合,能显著促进茎尖诱导芽成功率提高;用植物生长调节素 NAA(萘乙酸)和 IBA(吲哚丁酸)以适当的浓度进行配比组合能显著促进茎尖诱导根成功率提高。本实验中最佳的诱导培养基分别是:芽的诱导基本培养基+0.6 mg/L 6-BA+0.1 mg/L NAA;根的诱导 1/2 ms+0.5 mg/L NAA+0.1 mg/L IBA。

在试验过程中,由于培养时光照时间是人为控制,会使光照时间过长或过短,配制母液的长时间使用,以及接种室和培养室条件限制,消毒灭菌不彻底。所以,虽然接种的试验材料不多,却还是出现了褐变和玻璃化现象。

4 问题与分析

在整个组织培养过程中,经实验观察表明:有少数茎尖和培养液变黑,有的植株长出肿胀、扭曲的小叶片并且整株苗呈半透明状,还有两株死苗。也有少数植株叶片变为红色。经

在芽的诱导率达到一定数量时,把部分新增外植体(茎尖)切下转接到不同激素水平的培养基上进行生根培养,2 d 开始有愈伤组织形成。约 10 d 便可开始生根,以后根尖伸长很快,并长出侧根,形成根系,但整个过程中芽体分化较少。

分析论证,这种现象是出现在花卉组培过程中的褐变现象和玻璃化现象。

在有关报道中指出,组培过程中褐变发生是由于建立外植体无菌系时,切口附近的细胞受伤害,破坏了酚类化合物和多氧化酶的分隔状态,使得酚类化合物的酚氧化酶相遇,酚类化合物氧化形成醌类物质,并进一步与蛋白质结合,从而引起组织代谢活动混乱,导致组织生长停滞,最终衰老死亡^[4]。影响褐变的因素较多,这些因素包括植物品种,植物年龄,部位以及大小,培养基的配方,光照强度等等。控制褐变的方法有:在培养基中加入抗坏血酸,柠檬酸,半胱氨酸,二硫苏糖醇或聚乙烯吡酮等抗氧化剂;将外植体不断的转移到新鲜培养基上;在培养基中加入 1% 左右的活性炭可改善生长和再生,但活性炭也能结合激素和其他代谢物,因而这种方法常影响到茎尖的生长和分化^[5]。

导致玻璃化现象产生的原因有:激素浓度过高,不同激素的比例不当,琼脂浓度过低(小于 6.5 g/L),温度低于植物正常的生长范围,光照时间过长(大于 15 h),通风条件差,培养瓶的封口过于密闭,培养基离子水平不适当。目前很多研究者在控制组培苗玻璃化方面提出了一些具体措施,它包括增加光照强度,提高琼脂浓度,一般由 6.5 g/L 加至 7.0 g/L,同时事先去除琼脂中的杂质,降低培养容器中的相对湿度,使用有透气性的封口膜,降低培养基中 NH₄⁺ 浓度。增加培养瓶中的 CO₂ 浓度,认真调配培养基中激素比例。

参考文献:

- [1] 彭增成. 花卉栽培[M]. 云南科技出版社, 98~99.
- [2] 王海连. 植物组织培养[M]. 中国农业出版社, 47.
- [3] 颜昌敬. 植物组织培养手册[M]. 上海科学技术出版社, 1990, 53~54.
- [4] 四川成都市园林局[M]. 花卉植物组培进展, 2001.
- [5] 王海连. 植物组织培养[M]. 中国农业出版社, 51.