维普资讯 http://www.cqvip.com

北方园艺 2007(4):210～212

地被植物尖叶石竹组织培养及再生体系的建立

梁艳萍[1]，孙　彦[1]，杨青川[2]，韩建国[1]，戴忠宪[3]

(1.中国农业大学草地研究所，北京 100094；2.中国农业科学院北京畜牧兽医研究所，北京 100094；3.北京良乡绿景苗木种植中心，100042)

摘　要：以尖叶石竹茎段为外植体，从不同分裂素及其它激素配合使用等方面，初步建立了尖叶石竹离体培养再生技术体系。结果表明：愈伤诱导培养基为 MS＋1.0mg/L 2,4-D＋0.5mg/L 6-BA，分化培养基为 MS＋0.2mg/L 6－BA＋4mg/L KT＋0.02 mg/L IAA，生根培养基为 1/2MS＋1.0mg/L IBA＋0.01mg/L NAA。为尖叶石竹的遗传转化奠定了基础。

关键词：尖叶石竹；茎段；组织培养

中图分类号：S 688.403.6　**文献标识码**：A　**文章编号**：1001－0009(2007)04－0210－03

尖叶石竹，学名 *Dianthus spiculifolius*，为石竹科、石竹属植物，原产西伯利亚高寒地区，多年生草本花卉，植株丛生，茎匍匐状，株高低矮，与其它石竹相比，株高自然控制在 8～10cm 以内，叶茎较其它石竹为细。叶长 5cm、宽 0.2cm，簇生，长线型，端部尖，整体外观感如早熟禾类草坪，一年内单墩生长直径可达 50cm 左右，易于成坪，盛花期花朵可覆盖地面，花很美，粉色，具有很强的观赏性[1]。尖叶石竹适合生长在我国华北、东北、西北等寒冷高寒的地区。适合于大型绿地、公园、地下设施的地面绿化，以及道路两侧、公路两侧和庭院绿化，也适合河道护坡、起伏土丘和山坡的绿化。目前，尖叶石竹的组织培养，尚未见详细报导。尖叶石竹的繁殖方法主要是分株和分蘖，种子繁殖易引起变异，植株增高，影响草坪的观赏性。用组织培养方法繁殖尖叶石竹，可在短期内获得大量种苗，有利于进行工厂化育苗和进行快速繁殖，使尖叶石竹能够进行大规模生产，以供应市场之急需，且具有成本低、效益高的优点。同时利用组织培养方法也可保证尖叶石竹的种质纯正，避免混杂及变异。通过对尖叶石竹进行组织培养也可进行尖叶石竹抗性优良品系的筛选，这可为尖叶石竹优良品种的选育开辟新的途径。如今，国内外关于石竹属植物的研究报道很多，但关于尖叶石竹的研究报道还极少[2,3]。基于此，建立尖叶石竹植株再生体系势在必行。

1　材料与方法

1.1　材料

供试材料尖叶石竹来自北京良乡绿景苗木种植中心。

1.2　培养条件

培养基采用固体培养基，琼脂浓度 6g/L，蔗糖浓度 30g/L，pH 值为 5.8，光照 16h/d，培养温度 25℃。

1.3　方法

1.3.1　无菌苗的获得　取田间种植的尖叶石竹幼嫩枝条在清水中洗净，剪去叶片。在超净工作台上，先用 70%的乙醇浸泡 30s，再用 0.1%$HgCl_2$ 浸泡(1、2、3、4、5)min，最后用无菌水冲洗数次，切成约 1cm 长带节的茎段接种到腋芽增殖{MS＋(0.5、1.0、1.5)mg/L 6－BA＋(0.1、0.5)mg/L NAA}培养基上。4d 后观察消毒效果，2 周后根据腋芽萌发状况找出适宜的腋芽增殖培养基。每个处理 5 瓶，每瓶 5 个重复。

1.3.2　外植体的来源　选取无菌苗幼嫩的叶片、茎段，接种到下述培养基上。

1.3.3　愈伤组织的诱导及其分化　以 MS 为基本培养基，进行不同浓度、不同种类的激素处理(表)。

1.3.4　根的诱导　生根培养基选用 1/2MS 培养基，添加不同浓度的 NAA 和 IBA，共计 10 个处理，每处理 5 瓶，每瓶 5 个重复。

1.3.5　练苗和移栽　当幼苗的根长到一定程度，幼苗形体已显健壮时，将幼苗取出，在清水中洗净附着在根上的培养基(严格洗净，防止烂根)，将洗净的幼苗排好，用清水喷湿，在温度 15℃～25℃，湿度 60%～80%的条件下练苗 12～24h。练苗后，将幼苗移栽入营养土：蛭石为 1：1 的基质中，视幼苗长势移入大田。

2　结果与分析

2.1　无菌苗的获得

用 0.1%的 $HgCl_2$ 分别浸泡(1、2、3、4、5)min，3d 以后经 1min、2min 处理的茎段染菌，而经 3、4、5min 处理的茎段则没有发现污染，考虑到 $HgCl_2$ 对外植体的副作用，试验最终采用 0.1%的 $HgCl_2$ 浸泡 3min 消毒尖叶石竹。将消毒好的茎段切成约 1cm 长带茎节的小段，接入腋芽增殖培养基上。1 周左右，茎节处叶原基萌发，3 周

第一作者简介：梁艳萍(1982-)，女，中国农业大学草地研究所在读硕士，研究方向为草坪与城市绿化。

通讯作者：孙彦，E-mail：cts-china@soho.com。

收稿日期：2006－11－11

维普资讯 http://www.cqvip.com

以后小苗长大,叶展开,茎节开始明显,30d 苗高 5～6cm,据观察记录,用 MS+1.0mg/L 6－BA+0.1mg/L NAA 培养基诱导的腋芽萌发出的小苗茎健壮,茎节明显,为生长状态较好的无菌苗。将无菌苗的茎切成带节的小段,接种于上述培养基,可继代获得大量无菌苗。

2.2 外植体的选取

叶的诱导一般较迟钝,且由于尖叶石竹叶细,切割后伤口小,形成愈伤缓慢,且诱导出的愈伤深绿,较紧实。而从茎节处切伤口诱导出的愈伤生长快,且质地疏松,状态好。因而选取从节处切的茎段为最佳外植体。

2.3 不同植物生长调节剂配比对植株再生的影响

培养基配置表

培养基编号	诱导愈伤 2,4－D (mg/L)	诱导愈伤 6－BA (mg/L)	培养基编号	愈伤分化 6－BA (mg/L)	愈伤分化 KT (mg/L)	愈伤分化 IAA (mg/L)
1	0.5	0	1	0.5	0	0.1
2	0.5	0.1	2	1	0	0.2
3	1	0	3	0	2	0.2
4	1	0.2	4	0	2	0.5
5	1	0.5	5	0	2	1
6	1.5	0.2	6	0.5	4	0.01
7	1.5	0.5	7	0.2	4	0.02
8	1.5	1	8	0.1	4	0.1
9	2	1	9	0.5	6	0.01
10	2	1.5	10	0.2	6	0.02
11	4	1	11	0.1	6	0.1
12	4	2				

2.3.1 愈伤组织的诱导 根据颜色和质地的致密,愈伤组织大致可以分为黄褐色、疏松、透明和碧绿、致密两种类型[4],根据观察记录,15d 以后,用叶片和无节茎段作外植体诱导出的愈伤生长缓慢,颜色深绿、紧实,而从茎节处口形成的愈伤在 MS+1.0mg/L 2,4-D+0.5mg/L 6－BA培养基上愈伤的诱导率达 100%,且生长快,致地疏松,颜色浅绿,这种愈伤有利于分化出芽。另外,观察发现,有些愈伤表面长有似根的毛状体,这种逆向分化会抑制分化苗的出现。

2.3.2 愈伤组织再分化 由 2,4-D 诱导出的愈伤组织,难以自行分化出芽,需要转移到不含 2,4-D 成分的培养基上进行芽的诱导[5]。根据表的诱导分化培养基配置表进行试验,结果表明 KT 浓度为 4 mg/L 时愈伤分化较好,配合其他植物生长调节剂使用,效果更好。另外,组织内细胞分裂素/生长素的比值适宜时,才能诱导出形态及状况较佳的分化苗[6]。本试验得出从节处切口形成的愈伤在 MS+0.2mg/L 6－BA+4mg/L KT+0.02mg/L IAA 培养基上分化率达 42.5%,平均每个外植体形成分化苗 3.2 个,是较为适宜的尖叶石竹离体再生培养体系。

2.3.3 诱导分化苗的生根 待尖叶石竹分化苗高达 2cm 时,转接到不同激素浓度配比的生根培养基上,20d 后,每种处理生根率都达 95%以上,说明尖叶石竹极易生根,其中 1/2MS+1.0mg/L IBA+0.01mg/L NAA 培养基生根效果相对要好。根量适中,根较粗壮。但问题是每种处理的气生根都较严重,使生根有效率降低。这与诱导出的愈伤上出现毛状体的现象相符,这种现象可能与尖叶石竹匍匐茎发达的生长特性有关。

3 讨论

3.1 不同细胞分裂素作用机理各异,因此有许多报道表明不同的细胞分裂素配合使用比单独使用效果好[7,8]。该研究也证明了这一点:在分化培养时添加了少量 IAA 使分化率有所提高。

3.2 在生根培养时,试验没有达到最佳效果,有研究报道,与尖叶石竹同属植物香石竹在激素浓度超过一定量时,生根率虽不很低,但大多数为气生根,使生根有效率降低[9]。这方面还需进一步加强研究。

3.3 在诱导形成的愈伤组织中,有的愈伤表面出现了毛状体,结合诱导生根时气生根较严重的现象,该毛状体为气生根毛,这还需今后进一步的研究证实,并且为提高愈伤分化率需力图避免该现象的发生。

3.4 不同的外植体诱导愈伤的难易程度以及分化产生再生植株的能力不同。从理论上讲,植物细胞具有全能性,所以无论选用植株上哪一部位都能诱导成株.但是研究表明,相同植物的不同组织或者部位在器官发生能力上有相当大的区别,研究结果也验证了以往的一些报道[10,11]。研究发现采用从茎节处切口诱导形成愈伤的方法效果较好,但是叶片在数量上,取材上的方便性是最优的,因此,今后探索以叶片为外植体建立其再生体系也是一个重要的突破点。

3.5 建立再生体系的途径有两种:一是通过诱导愈伤分化,二是直接通过器官发生。研究通过诱导愈伤分化建立了尖叶石竹的再生体系。通过器官发生途径可以缩短培养周期,因而,今后也可致力于该方向的研究。

3.6 尖叶石竹为一种优良的盛花型草坪地被植物,利用植物遗传转化技术可更多的改良其坪用性状和其他生物性状,而在这个操作过程中,植物组织培养体系必须是再生效率高、易于重复、简单快速、适应性广,以及没有基因型的依赖。

目前,国内外还未见有关于建立尖叶石竹再生体系的详细报道,该研究结果初步建立了一个实用的尖叶石竹离体培养再生技术体系。

参考文献:

[1] The Plant Press. Dianthus spiculifolius-Pink[J/OL]. http://www.plantpress.com,

[2] Anca BUTIUC-KEUL, Alexandra SUTEU. Study on the in vitro preservation of dianthus spiculifolius schur.

[3] Victoria CRISTEA, mihai MICLAUS. Influence of hormone balance and in vitro photoautotrophy on dianthus spiculifolius schur miaropropagation.

维普资讯 http://www.cqvip.com

北方园艺 2007(4):212~214

粉红色索尔邦百合的组培快繁技术研究

张伟丽[1,2]，金欣庆[1]

(1.南京大学生命科学学院，江苏南京 210093；2.仲恺农业技术学院生命科学学院，广东广州 510225)

摘　要：研究了以索尔邦百合(*Lilium Sorbonne*)的鳞片叶为外植体的组培和植株离体再生技术，培养基采用MS基本培养基，附加不同的激素组合。分别获得诱导的愈伤组织、芽及根，并遴选出最佳激素组合，以确立索尔邦百合组织培养再生系统。试验结果表明适合的诱导培养基是MS+BA0.5mg/L +NAA 0.2mg/L；继代培养基为MS+2,4-D 1.0mg/L和MS+BA 0.5mg/L +NAA0.2mg/L；生根培养基是1/2MS+IBA0.2mg/L和1/2MS+NAA0.2mg/L。该方法最大增殖倍数达到5.74。

关键词：索尔邦百合；组织培养；快繁

中图分类号：S 682.2+9　**文献标识码**：A　**文章编号**：1001－0009(2007)04－0212－03

百合(*Lilium tenuifolium Fisch*)是百合科(*Liliaceae*)百合属(*Lilium*)植物的统称，是世界著名的观赏花卉，索尔邦百合(*Sorbonne*)属于东方百合杂种系(*The Oriental Hybrids*)，为百合中的名贵品种群，由于其花色艳丽、花形奇特、芳香宜人而深受人们的喜爱，成为近年国内外市场热销的花卉种类之一。东方百合是通过杂交育种选育出来的，种子高度败育，常采用传统的鳞茎球繁殖方法，繁殖速度缓慢，在短期内难以满足市场需求，目前国内主要通过进口种球进行生产，为了降低生产成本，实现种球的自主繁育，进行组织培养与快速繁殖已十分必要，并且在百合的优良品种快速繁殖、脱毒复壮、新品种培育以及应用生物技术进行分子育种中，组织培养都是比较合宜的方法，百合许多器官和组织都

第一作者简介：张伟丽(1969-)，女，讲师，理学博士，主要从事花卉生物技术及遗传工程研究、植物与病原物互作抗病机理的研究，曾在南京大学做博士后研究工作，现在仲恺农业技术学院生命科学学院工作，发表文章7篇，E-mail：zhangweili7218@163.com。

基金项目：江苏省博士后基金资助项目(0208003402)。

收稿日期：2007－01－07

[4] 曹孜义，刘国民.实用植物组织培养技术教程[M].山东：科学技术出版社，1996.

[5] 黄莺，范燕萍.石竹愈伤组织诱导及植株再生[J].华南农业大学学报，2003，2(1)：50-52.

[6] 谭文澄，戴策刚.观赏植物组织培养技术[M].北京：中国林业出版社，1997.60-65.

[7] 王关林，方宏筠，那杰.高活性细胞激动素TDZ在植物组织培养中的应用[J].植物学通报，1997，14(3)：47-53.

[8] 诸葛强，王婕琛，黄敏仁，等.新疆杨植株再生受体系统的建立[J].南京林业大学学报(自然科学版)，2003，27(6)：1-4.

[9] 张卫芳，段新玲.香石竹组织快速繁殖技术初探[J].塔里木农垦大学学报，2000，12(2)：28-31.

[10] 杨其简，周禾，孙彦，等.紫花苜蓿愈伤组织诱导以及组织培养[J].北京农学院学报，2004，14(2)：28-30.

[11] 张明丽，李青.木本观赏植物组织培养以及植株再生的研究进展[J].河北林业科技，2004，23(4)：23-26.

The Establishment System of Tissue Culture and Plant Regeneration of *Dianthus spiculifolius*

LIANG Yan-ping[1], SUN Yan[1], YANG Qing-chuan[2], HAN Jian-guo[1], DAI Zhong-xian[3]

(1. The Institute of Grassland Science of China Agricultural University, Beijing 100094; 2. Institute of Animal Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100094; 3. Beijing Liangxianglvjing Planting Center of Seedling and Wood, Beijing 100042)

Abstract: The regeneration system from stem of Dianthus spiculifolius was established by using different cytokinins combining with other phytohormones. The results indicated that the optional medium for inducing callus was MS+1.0mg/L 2,4-D+0.5mg/L 6－BA, the optional medium for differentiation was MS+0.2mg/L 6－BA+4mg/L KT+0.02 mg/L IAA, and 1/2MS+1.0mg/L IBA+0.01mg/L NAA for the rooting of adventitious buds. The result are suitable for screening gene－transformed Dianthus spiculifolius plants.

Key words: *Dianthus spiculifolius*; Stem; Tissue Culture