

重瓣矮牵牛的组织培养

李 瑛 (哈尔滨学院, 黑龙江 哈尔滨 150040)

摘要:重瓣矮牵牛色泽艳丽, 观赏性强, 是重要的彩化花卉品种, 但由于其不能正常结实, 繁殖成活率低, 扦插也不易成活, 所以采用组织培养的方法进行繁殖; 利用基本培养基 MS、细胞分裂素 (6-BA)、生长素 IBA, 以植株叶片为材料, 在一定条件下采用不同的浓度配比, 观察植物叶片经过消毒—发芽—生根—开花的生长过程, 选出最佳的植物繁殖配比浓度; 在短期达到快速繁殖的目的。

关键词:重瓣矮牵牛; 基本培养基 MS; 细胞分裂素 (6-BA); 生长素 IBA; 成活率

Double petunia common petunia's tissue culture

LI Ying (Harbin University, Harbin 150040, China)

Abstract: Double petunia with its bright color has very strong attraction as an unusual ornamental plant. For this reason, it becomes an indispensable kind of flower and greenery which are used in colorful plant decoration. But it can't fructify normally and has a low survival rate of propagation. Meanwhile, it is difficult for it to live by the way of cutting propagation. As a result double petunia is usually propagated by the method of tissue culture. In the experiments, with the plant leaves as materials and under certain conditions, basic culture medium MS, cytokinin 6-BA and growth factor IBA are used at various concentration ratio to make double petunia propagate. Through the observation of the plant leaves' growth process of disinfection, sprouting, rooting and blooming, the best concentration ratio of plant propagation is selected. This method can be used to achieve the goal of rapid propagation in short period and to create economic benefit for the development of the flower and greenery market.

Key words: Double petunia; basic culture medium MS; cytokinin 6-BA; growth factor IBA; survival rate

矮牵牛 (*Petunia hybrida*) 是茄科矮牵牛属的多年生观赏草本花卉, 可作一、二年生栽培。该植物原产南美洲, 喜冷凉, 不耐寒, 冬季可在温室越冬, 在我国各地均可栽培。重瓣矮牵牛可进行播种繁殖, 但因雌、雄蕊瓣化, 不能正常受精, 种子小而发芽率低。扦插繁殖成活率仅为 10%, 因此, 本研究采用组织培养方法, 以保持品种的优良性状, 扩大繁殖系数。

1 材料及方法

1.1 取材与消毒

本实验所用的材料采用进口杂种一代矮牵牛播种苗。选用其中的 1 号、2 号、3 号、4 号及 5 号, 5 个不同品种的叶片作外植体。这 5 个品种的生长状况良好, 花色艳丽, 枝叶繁茂, 无病虫害。剪取其顶端上的第 2~4 个叶片, 将叶片用 70% 酒精轻轻擦去表面灰尘, 用自来水冲洗 20~30 min, 亦可用温水加少许的肥皂浸 3~5 min, 然后再用自来水冲洗干净; 在无菌条件下先用 70% 酒精浸 10~15 s, 再用 5% 的安替福民溶液浸 10 min, 后, 换一次再浸 5 min, 再用 3% 的安替福民溶液重复一遍, 进行消毒; 在此过程中, 不断地摇动, 用无菌水冲洗 2~3 次。然后将叶片切成小块 (1 mm² 左右) 接种于培养基中。

1.2 培养基的选择

以 MS 为基本培养基, 分化培养中添加细胞分裂素 6-BA 0.1~2 mg/L, 生长素分别为 IBA 或 NAA 0.2 mg/L, 共设 6 组处理。以添加 NAA 0.1, 0.2 mg/L 的培养基中, 分别加入 1.5%, 3% 蔗糖, 共 4 个处理 (见表 1)。

1.3 培养条件及方法

培养基在接种前用高压锅灭菌 (在 1.1 kg/cm² 条件下 15 min), 22±2℃, 光照 12 h/d, 光强 1200 Lux 下培养。待苗高达 1.5~5 cm 时, 转到生根培养基中, 1 周后生出正常的根, 形成完全植株。移植前将瓶口打开 1~2 d 后, 将小苗由试管中取出, 用温水把根部及叶基部附着的培养基冲洗干净, 移入蛭石基质中。罩上

玻璃或塑料薄膜保持温度, 待苗长出新的叶片后去掉覆盖物。叶色深绿时移入培养土中, 即可在自然条件下正常生长。

2 结果及分析

2.1 不同激素对不同材料分化生长的影响

2.1.1 细胞分裂素 (6-BA) 的作用

6-BA 在对愈伤组织的细胞分裂具有明显的作用 (见表 2), 从表 2 中可见, 不加激素的培养基 A0 中的愈伤组织及芽萌动晚。生长极不整齐, 生长速度慢。待培养 3~4 周后, 已展开的叶片变黄, 生长停止, 平均愈伤率为 28.4% 在 A1 中平均愈伤率为 82.92%, A1 比 A0 高出 54.52%, 说明了细胞分裂素 6-BA 能引起细胞数目增加, 对愈伤组织及芽的生长增殖起促进作用。

表 1 培养基的组合成份 mg/L

编号	基本培养基	附加物浓度			糖浓度	琼脂含量	pH
		6-BA	NAA	IBA			
A0	MS	0	0	0	3%	0.9%	5.8
A1	MS	0.5	0	0	3%	0.9%	5.8
A2	MS	0.5	0	0.2	3%	0.9%	5.8
A3	MS	0.1	0	0.2	3%	0.9%	5.8
A4	MS	0.5	0.2	0	3%	0.9%	5.8
A5	MS	2	0.2	0	3%	0.9%	5.8
B1	MS	0	0.2	0	3%	0.9%	5.8
B2	MS	0	0.2	0	1.5%	0.9%	5.8
B3	MS	0	0.1	0	1.5%	0.9%	5.8
B4	MS	0	0.1	0	3%	0.9%	5.8

表 2 6-BA 的作用

材料	A0				A1			
	接种 叶片数	愈伤 叶片数	愈伤率 (%)	最早愈 伤天数	接种 叶片数	愈伤 叶片数	愈伤率 (%)	最早愈 伤天数
1	10	2	20	7	10	10	100	4
2	9	1	11	6	9	6	66.6	6
3	10	5	50	7	10	10	100	5
4	10	4	40	8	14	11	78.8	3
5	10	2	20	8	10	7	70	3
平均			28.40				82.92	

2.1.2 不同 6-BA 浓度对各材料的影响

在 0.1~0.2mg/L 的范围内,植物的生长状况的影响有一定差异(见表 3)。在相同 NAA 浓度(0.2mg/L)的情况下,不同 6-BA 浓度对各材料的影响不同,2mg/L 处理比 0.5mg/L 愈伤效果好,A5 组中平均愈伤率比 A4 组高出 7.1%,证明较高浓度的激素有利于形成愈伤组织及分化成芽。从愈伤的早晚时间也可看出 A5 组中各品种均在 3~4d 即可形成愈伤组织,而且愈伤量最多。而 A4 组中虽也有第 3d 出现愈伤组织的,但愈伤量少。在 IBA 相同、6-BA 含量分别为 0.5mg/l 和 0.1mg/L 的培养基中所得到的结果也说明了这一点。

2.1.3 不同生长素种类对各材料的影响

选用相同 6-BA 浓度(0.5mg/L)、相同生长素浓度(0.2mg/L),但生长素种类不同的两组培养基 A2 和 A4。A2 中的生长素为 IBA, A4 为 NAA。从表 3 可见,除 2 号、6 号之外,其余 4 份材料均表现为 A4 比 A2 组愈伤好,愈伤率高出 5.5%,说明虽然 IBA\NAA 都能促进愈伤分化,但 NAA 的诱导效果较 IBA 好,IBA 仅引起有限的愈伤组织生长,而 NAA 诱导的效果好、速度快。

2.1.4 细胞分裂素及生长素的不同配比对各试材的影响

选用 A3\A4\A5 组培养基,所得结果如表 4。其中芽丛的分化量都比较高,而以 A5 各品种芽丛的分化量为最多,A4 次之,A3 最少。苗平均高度 A5 为 0.96cm, A4 为 0.8 cm, A3 为 0.5cm。它们的生长分化过程符合一般植物的生长规律,A5 中细胞分裂素与生长素的比为 10.0, A4 为 2.5, A 为 0.5, 比值越大其愈伤分化的效果就越好。在培养基中所加的细胞分裂素与生长素之比大时,利于形成芽,反之则利于形成根。

表 3 6-BA 对不同品种愈伤状况的影响

试材	愈伤状况	培 养 基			
		A2	A3	A4	A5
1	接种叶片数	9	9	9	24
	愈伤叶片数	6	6	6	24
	愈伤率(%)	66.6	66.6	66.6	100
	最早愈伤天数(d)	4	5	5	4
2	接种叶片数	10	10	10	10
	愈伤叶片数	10	9	9	10
	愈伤率(%)	100	90	190	100
	最早愈伤天数(d)	4	5	3	3
3	接种叶片数	14	14	14	14
	愈伤叶片数	11	10	12	14
	愈伤率(%)	78.6	71.2	85.7	100
	最早愈伤天数(d)	4	4	5	4
4	接种叶片数	10	10	10	10
	愈伤叶片数	7	5	10	9
	愈伤率(%)	70	50	100	90
	最早愈伤天数(d)	3	5	3	3
5	接种叶片数	10	10	10	10
	愈伤叶片数	10	10	8	9
	愈伤率(%)	100	90	80	90
	最早愈伤天数(d)	4	6	6	4
平均	愈伤率(%)	83.4	73.3	88.9	96

2.1.5 同一培养基中各材料的差异

重瓣矮牵牛的愈伤能力及芽的生长能力很强,较易培养成功,保持品种优良性状,但不同品种间也有差异。实验表明,以 MS+(6-BA)2mg/l+NAA0.22mg/l 一组培养基上的生长状况好。进一步以 A5 为培养基对 5 个品种进行培养,其结果见表 5。

从表 5 中可见,不同材料愈伤组织的出现时间早晚不一致,

表 4 生长素和细胞分裂素对各材料培养结果的影响

材料	A3			A4			A5		
	芽丛数	苗高(cm)	叶色	芽丛数	苗高(cm)	叶色	芽丛数	苗高(cm)	叶色
1	少	0.5	黄绿	中	0.8	绿	多	1.0	绿
2	少	0.4	淡绿	少	0.4	绿	多	0.7	绿
3	中	0.6	绿	中	0.7	绿	多	0.6	深绿
4	中	0.5	绿	中	0.8	绿	多	0.9	深绿
5	少	0.6	绿	多	0.7	深绿	中	0.6	深绿

注:多——全瓶满;中——1/2 瓶;少——少于 1/2 瓶。

表 5 A5 培养基对各材料培养结果的影响

材料	2 周后的愈伤情况				培养 4 周时			叶片平均大小	
	接种块数	愈伤块数	愈伤率(%)	最少愈伤天数	芽丛数	苗高(cm)	叶色	叶长(cm)	叶宽(cm)
1	16	9	56.0	5	中	2.0	淡绿	0.2	0.1
2	16	8	50.0	4	少	1.5	绿	0.3	0.1
3	16	13	81.0	4	中	2.0	深绿	6.0	4.0
4	16	14	87.5	3	多	4.0	深绿	5.0	5.0
5	16	12	75.0	3	多	3.0	深绿	6.0	5.0

从愈伤率来看,4 号最高。4 号不定芽最多。4 号和 6 号叶片相对要大些。材料间的差异经统计未达到显著性差异。在 5 份材料中,4 号和 6 号在其他培养基组合中生长情况也较好。不同材料植株仅在花色上有较大差异。这是由矮牵牛本身的遗传特性决定的。

2.2 诱导生根

2.2.1 不同生长素浓度对生根的影响

生根培养基用 0.2mg/L, 0.1mg/L 的 NAA(B1 和 B4) 培养基,蔗糖浓度均为 3%(如表 6)。2 号材料在 B4 中生根率比 B1 中高 8.3%;从总体看 B4 还是比 B1 上在 3 号生根量高,根粗壮。B4 中生根最早的在第 3d 出现,而 B1 较 B4 晚 1~2d。说明高浓度生长素会抑制根的生长,低浓度生长素促进生长。

B4 培养基对不同品种生根的影响结果如表 7。不同材料的生根率不同,以 1 号生根率最高,3 号最低;根的平均长度,3 号最长,但 1 号根的生长状况好。第 4 周观察,根的分布状况以 1 号和 2 号最多,3 号最少;苗的株高以 6 号最高。结果表明,它们之间的差异不显著。这说明虽然品种不同,但决定其特征的遗传基因相同,因而表现出差异小。

2.2.2 不同浓度的蔗糖对生根的影响

如表 6,在 NAA 浓度相同条件下,蔗糖减半对绿肥产生了明

表 6 在不同培养基中各材料的生根情况

材料	B1			B2			B3			B4		
	生根率(%)	生根天数	根长(cm)	生根率(%)	生根天数	根长(cm)	生根率(%)	生根天数	根长(cm)	生根率(%)	生根天数	根长(cm)
1	66.7	4	1.75	42.0	5	0.25	17.0	4	0.25	83.0	4	1.85
2	66.7	5	0.75	58.3	5	0.25	42.0	4	0.50	75.0	3	1.05
3	66.7	4	2.25	50.0	5	2.50	25.0	5	2.50	58.0	4	3.00
4	66.7	4	2.50	25.0	5	1.40	25.0	6	1.84	75.0	4	3.00
5	58.0	4	1.40	42.0	5	1.60	50.0	4	1.10	66.0	3	1.00

显的抑制作用。从表 1 和表 6 可看出,蔗糖减半不利于诱导生根。由于糖的浓度能改变培养基的渗透压,在较低的蔗糖浓度(1.5%)情况下,会使培养基的渗透压降低,使根部组织吸收的营养成份减少,因而造成根量减少。

2.3 小苗出瓶

各培养条件下的小苗出瓶结果。试管苗不论由试管移入蛭

薛荔在室内光照适应范围的研究

施佳¹,周德祥²,关学瑞² (1. 黑龙江省森林植物园, 黑龙江 哈尔滨 150040; 2. 东北林业大学)

摘要:研究了薛荔的绿叶(*Ficus pumila*)及花叶(*Ficus pumila* 'Sunny White')品种的室内光照适应范围问题;根据室内光的分布,选择房间内具有代表性的光区进行栽培试验;在16~28℃,RH30%~64%条件下;经栽培82天后,用LI-6400测定其不同光强下的光合特性,计算光补偿点、光饱和点、最大净光合速率,并测定不同试验区枝条长度的生长量;结果表明,在该条件下,绿叶品种生长的适宜光照为7.8~527.0 μmol/m²·s (392~26350 lx),薛荔花叶品种为6.9~491.0 μmol/m²·s (347~24550 lx)。

关键词:薛荔;光照范围;室内栽培

A study on the growth of *Ficus pumila* in radiation (PAR) scope were conducted indoors

SHI Jia et al (Forest Botanical Garden of Heilongjiang Province, Harbin 150040, China)

Abstract:The studies on the photosynthetic characters and growth of *Ficus pumila* and *Ficus pumila* 'Sunny White' in response to photosynthesis active radiation (PAR) were conducted indoors.The representative light area was selected as experimental area during the culture period of 82 days. The indoor environment conditions were 16~28℃ in temperature, 30%~64% in humidity. After 82 days, the photosynthesis characters of *Ficus pumila* and *Ficus pumila* 'Sunny White' in different photosynthesis active radiation (PAR) were measured with LI-6400 apparatus. The light compensation point, light saturation point, and the maximum net photosynthesis rate were calculated. The increment of branch length in different experiment areas were also measured. The results showed:the optimum light range to *Ficus pumila* growing was >7.8~<527.0 μmol/m²·s (392~26350 lx, relative humidity 30%~64%, temperature 15~25℃),and *Ficus pumila* 'Sunny White' growing was >6.9~<491.0 μmol/m²·s (347~24500 lx).

Key words: *Ficus pumila*; radiation (PAR) scope; cultivate indoors

对室内栽植花卉适宜的室内光照范围的研究对于指导花卉栽培与设计具有重要意义。薛荔为常绿的木质藤本植物,其枝长可达8~10m。因其叶型优美,叶片排列较密,耐修剪,故常用于造型栽培,其栽培品种主要有绿叶(*Ficus pumila*)及花叶品种(*Ficus pumila* 'Sunny White')。它是室内悬垂栽培、组合盆栽、绿雕造型的优良观叶素材。在栽培中,过弱的光照会使其叶片观赏价值降低,表现为叶表变暗等

特点。为探讨其在室内条件下的适宜的光照范围特点,在室内北向房间的不同光区进行栽培试验,以研究其生长量及光合特性。

1 材料与与方法

1.1 供试材料

于2002年5月~2003年4月,将花叶和绿叶两个品种的薛荔母本扦插繁殖后作为供试材料。在哈尔滨室内五层楼北向且有南、北窗的房间进行栽培试验,测

定试验期间房间温度、湿度的日变化动态曲线,选择试验房间内具有代表性的光区作为试验区,设为环境1区、2区、3区、4区。将供试苗分别于环境1~4区内栽培82d后,测定其光—光响应曲线及单位时间内枝条长度的生长量。

1.2 生长量的测定

在2003年1月10日~4月2日期间,随机选择枝条挂牌编号,每试验区8盆,每盆重复3次,测量所选择枝条在不

表7 B4培养基对各材料培养结果的影响

材料	2周时				4周时				备 注
	生根率(%)	平均根长(cm)	生根天数	根量	生根率(%)	生长状况	株高(cm)		
1	83.3	0.85	4	+++	100.0	粗	9.0	有少量根毛	
2	75.0	1.05	4	+++	100.0	多	6.5	根细长盘绕瓶底部	
3	59.0	1.75	5	+	100.0	细、少	7.0	根细长盘绕瓶底部	
4	66.7	1.40	5	++	100.0	粗	9.0	根短粗带有根毛	
5	75.0	1.20	5	++	100.0	粗、少	10.0	有少量根毛	

石中还是由蛭石中移入培养土中,各品种的成活率都高于90%。经过45~50d的培养,各品种的组培苗均可开花。小苗出瓶成活的关键是基质的选择及温湿度的控制。试管苗由瓶内过渡到瓶外,要逐渐适应外界环境条件,在小苗出瓶前先打开瓶盖,1~2d后再移入透水性强、通气良好的蛭石中,并放置于培养室中,保持一定的湿度和温度。这样移苗成活率均在90%以上。1周后,苗的叶片增大增厚,叶色变深,茎增粗。大约2周左右即可移入培养土中,在半遮荫的自然条件下生长。移入后1周观察小苗株高,株径都比以前增加很多,小苗生长旺盛,不同品种的成活率

均在96%以上。

3 小结

重瓣矮牵牛的叶片从培养开始,到在不同的培养基中产生愈伤组织并进行芽的分化与增殖,大约需3~4周时间,即可移入生根培养基中诱导生根。生根后1~2周即可移入盆土中培养,成活率在90%以上。在适当的环境条件下,各个品种均能开花。从实验结果看,重瓣矮牵牛具有很强的再生能力。用此方法可在短期内达到快速繁殖目的,使不能正常结实的重瓣矮牵牛保持品种的优良性状,且不受季节的限制,冬季可在瓶中培养,早春即可大量的繁殖,以为早春花坛增添色彩。

参考文献:

- [1]覃拥灵.植物组织培养技术及其应用[J].河池师专学报,2003,(4):67~69.
- 作者简介:李瑛(1964~),女,教授级高级工程师,学士,副主任,主要从事园林规划设计与管理工。

(2008-03-25 收稿 宿伯杰编辑)