

# 不同浓度的外源激素对香石竹组织培养的影响

刘开辉<sup>1</sup>, 丁小维<sup>1</sup>, 邓百万<sup>1</sup>, 陈文强<sup>1</sup>, 刘飞虎<sup>2\*</sup>

(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 mg/L + KT 0.5 mg/L + NAA 1.0 mg/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 mg/L + KT 0.5 mg/L + NAA 2.0 mg/L, 芽分化率达 65%; 芽增殖培养基以 MS + BA 0.3 mg/L + NAA 0.1 mg/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<sup>+</sup>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*

LJU 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 mg/L BA, 0.5 mg/L KT and 1.0 mg/L NAA had the best effect on callus initiation. The preferable medium for bud differentiation was MS medium supplemented with 0.5 mg/L BA, 0.5 mg/L KT and 2.0 mg/L NAA, and the preferable medium for bud multiplication was MS medium supplemented with 0.3 mg/L BA and 0.1 mg/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<sup>[1-2]</sup>, 而关于激素对香石竹组织培养的影响报道较少<sup>[3]</sup>。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% HgCl<sub>2</sub> 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<sup>[4]</sup> 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③、⑤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⑤上的愈伤组织更多, 且结构较致密; 而在培养基①、②、④、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⑤号培养基 MS + BA 0.3 mg/L + KT 0.5 mg/L + NAA 1.0

mg/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 mg/L + NAA 0.5 mg/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 mg/L + NAA 1.0 mg/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 mg/L + NAA 2.0 mg/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 mg/L + KT 0.5 mg/L + NAA 0.5 mg/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 mg/L + KT 0.5 mg/L + NAA 1.0 mg/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 mg/L + KT 0.5 mg/L + NAA 2.0 mg/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, ⑧号培养基上芽分化率达到了 65%, ⑨号培养基上芽分化率最低, 仅为 5%, ⑦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。⑧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; ⑦号培养基上分化出的芽 33% 玻璃化, 玻璃化较严重; ⑨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⑧号培养基 MS + BA 0.5 mg/L + KT 0.5 mg/L + NAA 2.0 mg/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⑧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			生长性状
		组织块数	化率 %	平均高度 cm	
⑦	MS + BA 0.2 mg/L + NAA 0.2 mg/L	25	18	2.0	33%的芽全部玻璃化,其他生长正常,叶片绿
⑧	MS + BA 0.5 mg/L + KT 0.5 mg/L + NAA 2.0 mg/L	25	65	4.5	12%的芽略有玻璃化,其他生长健壮,色绿
⑨	MS + KT 0.5 mg/L + 2,4-D 0.2 mg/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⑩号培养基 MS + BA 0.3 mg/L + NAA 0.1 mg/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⑩号培养基 MS + BA 0.1 mg/L + NAA 0.5 mg/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%;⑫号培养基 MS + BA 0.5 mg/L + NAA 0.3 mg/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	处理的每个外植体芽玻璃化			生长性状
		材料数	增殖芽数	率//%	
⑩	MS + BA 0.1 mg/L + NAA 0.5 mg/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
⑪	MS + BA 0.3 mg/L + NAA 0.1 mg/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
⑫	MS + BA 0.5 mg/L + NAA 0.3 mg/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
⑬	MS + BA 0.1 mg/L + KT 0.2 mg/L + NAA 0.3 mg/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
⑭	MS + BA 0.3 mg/L + KT 0.2 mg/L + NAA 0.5 mg/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
⑮	MS + BA 0.5 mg/L + KT 0.2 mg/L + NAA 0.1 mg/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

(上接第 5719 页)

有较大的影响。将全部氮肥底施处理①所获得的粒叶比,在全部处理中仅次于处理⑥。而处理③与处理⑥相比,同样是底肥与拔节肥的组合,但拔节肥是底肥的 2 倍,虽然其在旗叶叶面积和最大叶面积等指标上明显高于处理⑥,粒叶比却显著降低(表 3)。这与王晨阳等人的研究中适当降低底氮用量的结果不同,这可能与东农 124 的生态类型和试验的施肥水平有关。合理的氮肥底施与追施比例应根据土壤肥力、生态条件和小麦生长发育的具体情况,尤其要结合群体的发展状况而定。

#### 参考文献

- [1] BLADE S F,张睿,裴阿卫.春小麦粒重对源一库的反应[J].麦类作物学报,1992(3):22-24.
- [2] 傅兆麟,刘东华.小麦源-库关系的研究[J].安徽农业科学,2005,33

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<sup>[4]</sup>。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<sup>[5]</sup>。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<sup>[6]</sup>。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<sup>[4]</sup>。张卫芳等认为,芽诱导主要与 BA 浓度有关<sup>[7]</sup>。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 mg/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<sup>[1]</sup>。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] 曹改义,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.
- [8] 1477-1479.
- [3] 刘克礼,翟利剑,高聚林,等.春小麦源库特性及其关系的研究(II)一群体源库比及其与产量的关系[J].麦类作物学报,2003,23(4):63-65.
- [4] 庞红喜,何蓓如.穗重型小麦的源库特征研究[J].麦类作物学报,2005,25(3):135-137.
- [5] 于经川,刘兆华,牟春生,等.小麦单茎源库比与产量关系的初步研究[J].华北农学报,2002,17(4):26-29.
- [6] 孙羲.植物营养原理[M].北京:中国农业出版社,1997.
- [7] 王晨阳,朱云集,夏国军,等.氮肥后移对超高产小麦产量及生理特性的影响[J].作物学报,1998,24(6):978-983.
- [8] 张永丽,李雁鸣,肖凯,等.不同氮、磷用量对杂种小麦旗叶光合特性的影响[J].植物营养与肥料学报,2004,10(3):231-236.
- [9] 赵广才,何中虎,田奇卓,等.应用<sup>15</sup>N 研究施氮比例对小麦氮素利用的效应[J].作物学报,2004,30(2):159-162.
- [10] 马兴华,于振文,梁晓芳,等.施氮量和底肥比例对小麦氮素吸收利用及子粒产量和蛋白质含量的影响[J].植物营养与肥料学报,2006,12(2):150-155.
- [11] 魏道智,宁书菊.拔节期追施氮肥对小麦根、叶衰老生理特性的影响[J].河北农业大学学报,2003(2):15-19.