

# 垂吊矮牵牛叶片的无菌快繁技术研究

徐洁兰

(广州城市职业学院,广东广州 510405)

**摘要** 以垂吊矮牵牛的幼嫩叶片为外植体进行组织培养试验,从中筛选出合适的材料灭菌用药剂与方法以及适宜的诱导、增殖、生根培养基。结果表明:适量吐温-80+0.1%升汞溶液消毒8min、无菌水冲洗8次的灭菌效果最好,诱导、增殖、生根的最适培养基分别为:MS+6-BA 2.5 mg/L、6-BA 1.0 mg/L和纯碳(C)。

**关键词** 垂吊矮牵牛;叶片;灭菌;培养基;组织培养

垂吊矮牵牛是矮牵牛的杂交种,基本性状与矮牵牛相同,其最大的区别就是:垂吊矮牵牛悬挂栽种而不占用地面面积,故更适宜在居住面积狭小但又渴望有更多绿色环境的城市家庭种植观赏;另外悬挂在城市街道两旁的灯柱或一些立面物体上,也能营造出一种别致的立体绿化效果。近年来垂吊矮牵牛越来越得到人们的青睐,其需求量不断扩大,甚至出现了供不应求的局面。垂吊矮牵牛的常规繁殖方法有播种和扦插两种。其中以播种繁殖最为常用,但种子多是从国外进口的杂交F<sub>1</sub>代,价格十分昂贵,加上再经种子繁殖的下一代又易发生分离变异,会严重影响观赏效果;而扦插繁殖又普遍存在着繁殖率低、种苗质量不均匀等弊端,故仅靠这两种方法已无法满足市场需求,寻求新的繁殖生产技术势在必行。

组织培养有着周期短、增殖率高以及能全年生产等特点,加上培养材料的小型化,即使是有限的空间也能培育出大量的幼苗,短时间内便能迅速扩大植物的数量。因此,用组织培养的方法进行种苗的繁殖是生产上最有潜力的手段。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料的选择

垂吊矮牵牛植株从花卉市场购买,品种为 *Petunia hybrida* 'Easy wave' (轻浪)。试验时尽量选用生长健壮、干净无病虫害的幼嫩叶片作为试验材料。

### 1.2 培养基的配备

以MS为基本培养基,分别配制出以下几种垂吊矮牵牛诱导用培养基:

①MS+6-BA 1.0mg/L; ②MS+6-BA 1.0mg/L+NAA 0.2mg/L; ③MS+6-BA 2.5mg/L; ④MS+6-BA 2.5mg/L+NAA 0.2mg/L; ⑤MS+6-BA 4.0mg/L; ⑥1/2MS+NAA 0.2mg/L。

所有的培养基配方都加入了蔗糖30g/L,琼脂7.5g/L,调整pH值为5.8。

### 1.3 外植体的准备

剪取垂吊矮牵牛的幼嫩叶片置于烧杯中,先用自来水冲洗干净,再加入适量洗洁精和吐温-80充分漂洗20min后,用自来水冲洗干净,最后用洁净的软纸吸干叶面上的水分,备用。

在超净工作台上,无菌条件下,先用75%酒精冲洗一遍,然后将材料的一部分置于2%次氯酸钠溶液中处理(不

断摇动)15min,完成后用无菌水冲洗6次,每次1min;材料的另一部分则分别用0.1%升汞溶液处理(不断摇动)6min、8min、10min,完成后用无菌水冲洗8次,每次2min,以此筛选出合适的外植体灭菌消毒方法。

### 1.4 接种诱导

灭菌消毒完成后,把叶片剪切成0.5~1.0cm见方的小块,分别接种到上述6种培养基上,2~3块/瓶。置于恒温恒湿的光照培养箱中,温度25℃,湿度80%。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同的材料表面消毒方法的灭菌效果

试验结果显示,采用2%次氯酸钠溶液进行消毒,虽然消毒药剂对材料基本无伤害,但材料的污染率相当高。使用0.1%升汞溶液的,时间短,材料的成活率较高,但发生了一定的污染;时间长,虽然不发生污染,但升汞对材料的伤害却很明显。因此垂吊矮牵牛的叶片消毒以适量吐温-80+0.1%升汞溶液消毒8min、无菌水彻底冲洗8次的效果最好,材料没有发生污染,而且成活率相当高,达到了88.3%(见表1)。

表1 不同消毒方法的消毒效果

消毒药剂	消毒时间//min	污染率//%	成活率//%
适量吐温-80+0.1%升汞溶液	6	9.6	90.6
	8	0.0	88.3
	10	0.0	10.5
适量吐温-80+2%次氯酸钠溶液	15	86.5	100.0

### 2.2 不同激素种类及对比对诱导芽萌动的影响

为了比较不同激素对垂吊矮牵牛叶片萌动的刺激效果,实验将6-BA分为1.0mg/L、2.5mg/L、4.0mg/L 3个浓度,NAA分为0mg/L、0.2mg/L 2个浓度,共组合成6种不同的培养基,消毒后的垂吊矮牵牛接种在上面,进行追踪观察。

如表2所示,在所用的6种培养基中,前5种的外植体

表2 不同激素种类及对比对诱导芽萌动的影响

编号	激素种类及配比	生长状况
1	MS+6-BA 1.0mg/L	外植体膨大,芽萌动不明显
2	MS+6-BA 1.0mg/L+NAA 0.2mg/L	外植体膨大,芽萌动不明显
3	MS+6-BA 2.5mg/L	外植体膨大,芽萌动明显,数量多
4	MS+6-BA 2.5mg/L+NAA 0.2 mg/L	芽萌动并开始出现小苗,但数量少
5	MS+BA 4.0mg/L	芽萌动但同时出现大量水渍状愈伤组织
6	1/2MS+NAA 0.2mg/L	芽不萌动

注:以小叶块为观察对象,接种15d,记录其生长状况。

## 2.2 播种期试验

测产结果显示,早播的鲜草产量高,随着播种期的延迟,鲜草产量逐渐下降,说明早播可以充分利用夏秋交替季节的高温高湿条件,种子发芽率高,出苗整齐,幼苗生长快,能及时形成覆盖土壤的群体结构,提高土壤保水能力,土壤内有足够的水分满足植株生长的需要。因此,生长势强,鲜草产量高。随着播种期的推迟,从种子萌芽、出土到抽蔓分枝都处于低温干旱条件下,生长缓慢,基本苗数及分枝数减少,构成鲜草产量的各器官生长势都减弱,导致减产(见表3)。

表3 不同播种期鲜草产量及产量结构因素

处理	小区平均产量 kg/30m <sup>2</sup>	基本苗数 万株/hm <sup>2</sup>	平均分枝数 枝/株	蔓长 cm	茎粗 cm	折合产量 t/hm <sup>2</sup>
1	110.7	130.5	3.4	115.6	0.30	36.9
2	97.2	123.0	3.6	104.1	0.29	32.4
3	89.4	111.0	2.8	90.9	0.25	29.8
4	72.9	105.0	2.5	87.3	0.23	24.3

## 2.3 耕作方式

测产结果表明,在同一地块内连年种植光叶紫花苕其鲜草产量呈逐年下降趋势。处理1的当年产量比上一年减少4.6t/hm<sup>2</sup>,基本苗数少16.5万株/hm<sup>2</sup>,株高(蔓长)下降18.4cm,茎粗下降0.05cm;2004~2005年处理1与处理2相比,鲜草产量减少6.38t/hm<sup>2</sup>,基本苗数减少12万株/hm<sup>2</sup>,株高(蔓长)下降30.2cm,茎粗下降0.06cm(见表4)。

(下转第7页)

均发生膨大,其中3号、4号、5号培养基中的外植体还出现丛芽,但4号培养基上的芽体数量少,5号培养基上则有大量水渍状愈伤组织出现,而且在以后的进一步观察发现,芽的生长逐渐停顿而愈伤组织也逐渐变褐色,失去活力,只有3号培养基上的芽萌动明显,数量多;1号、2号培养基中外植体的生长情况基本相同,但芽的萌动不明显;6号培养基上的外植体则没有出现芽的萌动。综上所述,垂吊矮牵牛在诱导阶段中采用3号培养基作为诱导培养基最合适,其芽的萌动迅速,长势好,数量多,可为后续快速繁殖打下基础。

## 2.3 不同激素种类及对比对芽增殖的影响

将诱导阶段中得到的芽体转接到分化增殖培养基中,同样将6-BA分为0.5mg/L、1.0mg/L、2.0mg/L 3个浓度,重复2次,记录其生长情况。

表3 不同激素种类及对比对芽增殖的影响

编号	激素种类及配比	生长状况	增殖系数
1	6-BA 2.0mg/L	芽先变粗生长,随后长出一定量的丛芽	3.5
2	6-BA 1.0mg/L	芽先变粗生长,随后长出一定量的丛芽	6.8
3	6-BA 0.5mg/L	芽先变粗生长,随后长出一定量的丛芽	4.2

注:转瓶2次后记录生长情况;以芽团统计增殖系数。

试验结果显示,3种浓度的6-BA对垂吊矮牵牛芽的增殖都有促进作用,其增殖系数为3.5~6.8,但以浓度为1.0mg/L的效果好(见表3)。因此,2号培养基是较理想的丛芽增殖培养基。

## 2.4 不同激素种类及对比对芽丛生根率的影响

将长至3~4cm高的丛芽分离成单芽后转入表4所列的

表4 耕作方式与产量及产量结构因素的关系

处理	年度	产量 t/hm <sup>2</sup>	基本苗数 万株/hm <sup>2</sup>	分枝数 枝/株	蔓长 cm	茎粗 cm
1	2003~2004	38.6	133.5	3.0	100.2	0.29
	2004~2005	34.0	117.0	2.5	81.8	0.24
2	2003~2004	-	-	-	-	-
	2004~2005	40.4	129.0	3.1	112.0	0.30

## 3 小结

(1)在2000m以上的高海拔地区种植光叶紫花苕,对于改良土壤结构和培肥地力都有显著作用,具体表现在地下部根瘤菌的形成和地上部茎蔓生长势两个方面;地上部茎蔓的生长势即鲜草产量又与播种量、播种时期及耕作制度等因素有密切关系。

(2)要获得较高的鲜草产量而又节约种子投入,应将播种量控制在60.0~67.5kg/hm<sup>2</sup>之间,这一播种量既能保证足够的基本苗数又有合理的个体生长空间。

(3)在不与正季的粮食作物或经济作物争时抢地的前提下,应将播种时间提前到7月下旬至8月中旬,有利于播种后能较快地形成覆盖土壤的群体结构,保持土壤水分含量,为提高鲜草产量奠定基础。

(4)光叶紫花苕应实行轮作制,轮作的间隔时间以2~3a为宜,轮作时可让地块冬闲,也可考虑种植其他非豆科作物。

表4 不同激素种类及对比对芽丛生根率的影响

培养基编号	激素种类及配比	生根率	平均生根数	生长情况
1	C	100	8.5	根多、粗壮,生长好
2	6-BA 0.5mg/L+C	100	5.1	根的生长较好
3	6-BA 1.0mg/L+C	100	3.2	根少、长势较弱,生长较慢

培养基中,15d后观察小芽的生根情况,25d后统计长根数。

试验结果表明,1~3号培养基对芽丛生根均有较好的促进作用,生根率为100%。其中1号、2号培养基的效果理想,生根数分别为8.5、5.1,尤其是1号培养基,所产生的根不仅数量多,而且健壮,非常有利于随后的试管苗出瓶移栽管理。

## 3 结论

(1)垂吊矮牵牛表面消毒杀菌以适量吐温-80+0.1%升汞溶液消毒8min、无菌水冲洗8次的效果最好。

(2)通过培养基对垂吊矮牵牛的诱导试验,结果表明:MS+6-BA 2.5mg/L作为诱导培养基最合适。其芽的萌动迅速、长势好、数量多,可为后续快速繁殖打下基础。

(3)6-BA的0.5mg/L、1.0mg/L、2.0mg/L 3个不同浓度对垂吊矮牵牛的芽增殖有促进作用,其中6-BA 1.0mg/L增殖效果最好。

(4)在6-BA+C的不同配比中,以纯碳(C)培养基的芽丛生根效果最好,所产生的根不仅数量多,而且健壮。

## 4 参考文献

- [1] 韦三立.花卉组织培养[M].北京:中国林业出版社,2000.
- [2] 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,2001.
- [3] 任旭琴.矮牵牛组织快繁试验研究[J].淮阴工学院学报,2004(5):87-88.
- [4] 岳艳玲,冯辉,李小明.矮牵牛的离体再生与快速繁殖[J].辽宁农业科学,2005(3):24-25.