

矮牵牛 'Tidal Wave' 品种受体再生体系的建立

武术杰¹, 李邱华²

(1. 长春大学, 吉林 长春 130022; 2. 中国农业大学, 北京 100083)

摘要:文章对矮牵牛 'Tidal Wave' 品种进行组织培养快速繁殖和再生的初步研究。以矮牵牛无菌苗叶片为外植体, 在附加不同浓度激素的 MS 基本培养基上诱导培养, 通过器官发生途径获得再生植株。在附加 $3.0\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{BA}$, $0.3\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{NAA}$ 的培养基上获得 90% 以上芽的再生率。再生芽在附加 $0.02\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{NAA}$, $1.0\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{KT}$, $5.0\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{GA}_3$ 的培养基上发育良好; 初期继代时适合的生根培养基为 1/2MS 附加 $0.1\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{NAA}$, 多次继代后适合的生根培养基为 1/2MS。

关键词:矮牵牛; 组织培养; 再生体系

中图分类号: S681.6; S722.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-1714(2007)01-0029-03

矮牵牛 (*Petunia hybrida*), 茄科矮牵牛属多年生草本植物, 又名碧冬茄、撞羽朝颜。常规繁殖方法为籽播或扦插, 但繁殖率低^[1]。利用组织培养技术可以在短期内生产出大量整齐、均匀的健壮种苗, 满足市场需求。郭慧杰对矮牵牛 'wafe' 的组织培养及快速繁殖进行系统研究^[2]; 朴日子等试验不同浓度激素对矮牵牛试管苗分化、增殖生长和生根等的影响^[3]; 翟素萍曾利用矮牵牛的茎尖和茎段进行组织培养, 并获得一批生长正常的组培种苗^[4]。本文在有关矮牵牛组织培养研究的基础上, 对矮牵牛 'Tidal Wave' 品种受体再生体系进行了研究。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 植物材料

矮牵牛 'Tidal Wave' 的种子。

1.1.2 培养基

基本培养基为 MS; 增殖继代培养基: MS 附加不同浓度萘乙酸 (NAA); 生根培养基: 1/2MS 附加不同浓度 NAA; 矮牵牛受体再生体系的建立以 MS 为基本培养基, 附加不同浓度的 BA 和 NAA。MS 培养基含有 3% 蔗糖和 0.6% 琼脂, pH 值为 5.8。培养条件: 光照强度为 7 147lx, 光周期 $16\text{h}\cdot\text{d}^{-1}$, 温度 $22\sim 24^\circ\text{C}$, 湿度 40%。

1.2 试验方法

1.2.1 矮牵牛 'Tidal Wave' 无菌体系的建立

当年生矮牵牛 'Tidal Wave' 的种子用自来水流水冲洗 1~2h, 0.1% 氯化汞杀菌 30min, 75% 乙醇处理 5min。然后再用无菌水冲洗 3~4 次, 接种在附加 $0.2\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{BA}$, $0.02\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{NAA}$ 的 MS 培养基上。待种子发芽后, 继代繁殖, 获得无菌系。

1.2.2 矮牵牛 'Tidal Wave' 再生体系的建立

无菌条件下从无菌苗上选取中层健康叶片, 剪成 0.8cm^2 大小, 将其水平向 (近轴面向上) 接种到含有植物生长调节剂 BA 和 NAA 不同浓度组合的 MS 培养基上, 诱导愈伤组织及再生芽发生。每个培养瓶接种 10 个外植体, 重复 4 次。观察愈伤组织形成和再生芽发生, 选择最适芽分化的培养基。当再生芽长至 1.5cm 高时, 转入不同生根培养基中进行生根培养; 并将经不同继代次数的再生植株外植体在附加不同浓度 NAA 的 1/2MS 培养基上进行生根诱导。

2 结果与分析

2.1 植物生长调节剂对矮牵牛离体叶片再生的影响

将矮牵牛 'Tidal Wave' 的离体叶片接种到含有 BA 和 NAA 不同浓度组合的 MS 培养基上培养, 外植体愈伤诱导率和芽再生率见表 1。

观察发现, 在对外植体培养初期, 有些开始膨大, 2 周左右分化形成愈伤组织, 再继续培养 2~3 周后陆续产生不定芽。而有些外植体在培养最初 2 周已有不定芽发生。叶片离体培养诱导的结果为:

各激素组合的培养基均能不同程度的诱导出愈伤组织,也都能诱导出不定芽。当 BA、NAA 浓度分别为 $1.0\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $0.1\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$; $1.0\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $0.2\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$; $2.0\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $0.4\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时均获得 100% 愈伤诱导率。

表 1 植物激素浓度对矮牵牛离体叶片愈伤组织及芽诱导的影响

BA 浓度 ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	NAA 浓度 ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	外植体 总数 (个)	外植体形 成愈伤数 (个)	愈伤组织 诱导率 (%)	分化芽数 (个)	单个外植体 最多分化芽数 (个)	芽分化率 (%)
0.5	0.05	60	2	3.3	0	0	0
1.0	0.1	60	60	100	17	8	28
2.0	0.2	60	46	77	41	5	68
3.0	0.3	60	56	93	54	15	90
0.5	0.1	60	31	51	9	3	15
1.0	0.2	60	60	100	20	7	33
2.0	0.4	40	40	100	16	13	40
3.0	0.6	40	34	85	18	6	45
0.5	0.2	40	8	20	0	4	0
1.0	0.4	40	23	57	12	3	30
2.0	0.8	40	23	57	16	4	40
3.0	1.2	40	9	22	0	7	0

2.2 植物生长调节剂对再生芽发育的影响

再生芽在添加 NAA、KT 和 GA₃ 激素组合的发育培养基中进行培养,其生长状况显著好于 BA 与 NAA 激素组合,其中 NAA $0.02\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、KT $1.0\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、GA₃ $0.03\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 组合与 NAA $0.03\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、KT $0.5\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、GA₃ $0.5\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 组合的培养基再生芽发育最好,见表 2。

表 2 继代培养基对再生芽发育的影响

继代培养基生长调节剂浓度 ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)				外植体 总数 (个)	芽高度 (cm)	生长 状况
BA	NAA	KT	GA ₃			
0.1	0.01			40	1	+
0.2	0.02			40	1	+
0.3	0.03			40	1.5	+
	0.01	2.0	10.0	40	2	++
	0.02	1.0	5.0	40	3	+++
0.03	0.5	2.5		40	3	+++

注:+:再生芽发育不良; ++:再生芽发育较好; +++:再生芽发育良好

继代培养时激素种类和浓度对外植体增殖影响试验结果表明,在进行多次继代培养时,交替使用添加 BA $0.1\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、NAA $0.01\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的培养基和添加 BA $0.2\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、NAA $0.02\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的培养基会获得更高的增殖效果。

2.3 植物生长调节剂对再生植株生根的影响

对矮牵牛梦幻系列品种‘Tidal Wave’叶片产生的不定芽进行生根培养时,在生根培养基中添加较高浓度的生长素 NAA,经过继代 4~7 次的植株虽然生根率均超过 70%,但单个植株生根数量相对较少且根系不健壮,移栽成活率低,见表 3。

从表 4 可看出,培养基内不添加任何植物生长调节物质,对多代(8~12 代)培养的植株进行生根

培养时,其生根率和移栽成活率均很高,效果更好。但芽的再生率仅分别为 28.3%、33.3% 和 40%。当 BA、NAA 浓度为 $3.0\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $0.3\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,芽的分化率最高,达到 90%,故此浓度组合为最佳选择。

表 3 NAA 浓度对生根及移栽成活率的影响(继代 4~7 次)

指标	浓度($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)						
	0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	1
生根率(%)	68	88	92	81	80	78	73
移栽成活率(%)	85	96	90	76	60	43	30

表 4 NAA 浓度对生根及移栽成活率的影响(继代 8~12 次)

指标	浓度($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)						
	0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	1
生根率(%)	100	100	90	86	83	82	80
移栽成活率(%)	100	96	80	60	46	38	30

3 结论与讨论

3.1 在 MS 培养基上附加 $3.0\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ BA、 $0.3\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA,诱导 4 周左右时,再生芽的分化率最高,达到 90%。再生芽在附加 $0.02\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA, $1.0\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ KT, $5.0\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ GA₃ 的 MS 培养基上发育良好。

3.2 初期继代(4~7 次)时适合的生根培养基为 1/2MS 附加 $0.1\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA,多次继代(8~12 次)后适合的生根培养基为 1/2MS。继代多次的矮牵牛植株进行生根培养时,在不加入任何植物生长调节剂的情况下,其生根率和移栽成活率均很高,可能是因为经过多次继代后,植株中累积的 NAA 发生作用。

参考文献:

- [1]刘燕.园林花卉学[M].北京:中国林业出版社,2003.
- [2]郭慧杰.矮牵牛“wafe”的组织培养及快速繁殖[J].植物生理学通讯,2003,9(5):72-75.
- [3]朴日子.矮牵牛的快速繁殖技术[J].延边大学农学报,1999,21(4):313-316.
- [4]瞿素萍.矮牵牛的组织培养研究[J].西南农业大学学报,2001,23(5):447-448.

(责任编辑:张素清)