

• 植物生理与生物技术

矮牵牛杂交一代新品种的组培快繁技术研究

苏茹^{1,2}, 李智耀²

(1. 浙江大学农业与生物技术学院, 浙江杭州 310029; 2. 浙江省温州市鹿城区江心屿景区管理处, 浙江温州 325000)

摘要:以矮牵牛幼苗的带芽短缩茎、无芽短缩茎、叶片和盆花的花托为外植体, 进行其组培快繁研究。结果表明, 与无芽短缩茎、嫩叶和花托相比, 带芽短缩茎作外植体明显缩短了愈伤组织诱导期和芽苗的诱导分化期, 是较理想的外植体; 诱导愈伤组织及芽的增殖培养基均以 MS+3.0 mg/L BA+0.1 mg/L NAA 为佳; 生根培养基以 1/2MS+0.2 mg/L 2,4-D 为好。

关键词:矮牵牛; 杂交一代; 组织培养; 快速繁殖

中图分类号: S681.6 文献标识码: A 文章编号: 1006-6500(2008)06-0037-03

Study on Rapid Propagation of F1 Hybrid New Cultivar of *Petunia hybrida* Using Tissue Culture

SU Ru^{1,2}, LI Zhi-yao²

(1: College of Agriculture & Biotechnology, Zhejiang University, Hangzhou, Zhejiang 310029, China; 2. Administrative Office of Jiangxin Islet Scenic Area, Lucheng district, Wenzhou, Zhejiang 325000, China)

Abstract: Tissue culture of *Petunia hybrida* was carried out to achieve rapid propagation using explants of abbreviate stem with bud, abbreviate stem without bud, leaf and receptacle. The results indicated that explants of abbreviate stem with bud exhibited best propagation potential compared with abbreviate stem without bud, tender leaf and receptacle; MS medium supplemented with 3.0 mg·L⁻¹ BA and 0.1 mg·L⁻¹ NAA was most suitable for callus induction and shoot regeneration; half MS medium added with 0.2 mg·L⁻¹ 2,4-D induced most roots.

Key words: *Petunia hybrida*; F1 hybrid; tissue culture; rapid propagation

矮牵牛(*Petunia hybrida* Vilm.)又名碧冬茄、灵芝牡丹,为茄科多年生草本,原产南美,为 *P. violacea* 与 *P. axillaris* 的杂交种,通常作一年生栽培。矮牵牛花大,花色丰富,花期长,栽培管理省工,园林绿化上需求量大,由于重瓣或大花品种常不易结实或实生苗不易保存母本的优良性状,常采用扦插繁殖,但扦插繁殖速度太慢,满足不了生产发展的需要,而组织培养可在短时期内获得大量的优良种苗。因此,笔者对矮牵牛杂交一代新品种进行了组培快繁研究。

1 材料和方法

1.1 材料

试验所用材料为美国矮牵牛杂交一代新品种的种子离体萌发苗和盆花花托。

1.2 方法

1.2.1 初代培养 从长势健壮的矮牵牛盆栽植株上

剪取直径 0.5~1 cm 的带蕾花托,花托朝下置于洗涤剂中浸泡 5 min,然后用流水冲洗 1 h 剪掉花梗,去除花萼及舌状花瓣,在无菌条件下,用 75% 酒精浸泡 30 s,再用 0.1% HgCl₂ 消毒 10 min 后,用无菌水冲洗 4~6 次,每个消毒过的花托切成 4 块。在超净工作台上,将 F1 种子培养的无菌苗(高 3~4 cm)的根系切除,再分切成 0.5 cm 左右的带芽短缩茎、无芽短缩茎和 4 mm×4 mm 的叶块。接种到相应的培养基。培养 4 周后统计数据。

1.2.2 继代培养 在无菌条件下,将初代培养中诱导出的高 3~5 cm 的芽苗分切成带芽短缩茎转到增殖培养基上,培养 25 d 后,观察芽苗生长状况,统计增殖率。

1.2.3 生根和移栽 在无菌条件下,将 3~3.5 cm 左右单株,分别转入生根培养基诱导生根,3 周后统计生根率。待小苗长出 4~5 条根,根长约 1~2 cm 时,打开瓶盖,置于散射光下炼苗 3~5 d 后,取出瓶苗,洗去根部培养基,植于消毒的混合基质(腐

殖土:蛭石:泥炭土=1:1:1)上,浇足定根水,盖上塑料薄膜,保温保湿(RH 90%左右,温度 20~30 ℃),注意避免阳光直射。1 周后揭去塑料膜,逐步加强日照,并视苗情喷施稀薄营养液,防治病虫害,30 d 后统计成活率。

1.2.4 培养基与培养条件 以 MS 和 1/2 MS 基本培养基附加不同配比的 BA、NAA、KT (表 1~3),30 g/L 蔗糖、7 g/L 琼脂,pH5.8。培养室温度为 25±2 ℃,光照强度 1 500~2 000 lx,光照时间 12 h/d。

2 结果与分析

2.1 不同外植体愈伤组织诱导和再分化能力的比较

4 种外植体接种培养后,均可见不同程度的切口处膨大、突起和愈伤组织的形成。发生的时间依次为带芽短缩茎最早,无芽短缩茎和叶片次之,花托最迟。前 3 种外植体诱导的愈伤组织均可再分化新芽,分化时间和分化率以带芽短缩茎最优。因此,带芽短缩茎为最佳外植体。

2.2 不同激素配比对矮牵牛愈伤组织诱导和分化的影响

如表 1 所示,当 NAA 为 0.1 mg/L 时,随着 BA 浓度的提高,成芽率逐渐提高。BA 达到 3.0 mg/L 时,成芽率最高,达 96.7%,且芽苗生长健壮。再提高 BA 浓度,其成芽率反而下降,芽苗生长势也变弱。低浓度的 NAA 有利于诱导矮牵牛茎段分化成芽,随着 NAA 浓度的提高,表现为成芽率降低。附

加 KT 不但没有提高成芽率,而且出现抑制芽苗分化的现象。因此,我们认为 MS+3.0 mg/L BA+0.1 mg/L NAA 为诱导带芽短缩茎分化成芽的较佳培养基。

表 1 不同激素比对矮牵牛带芽短缩茎诱导分化成芽的影响

编号	激素配比/(mg·L ⁻¹)	成芽率/%	芽苗生长状况
1	BA 1.0+NAA 0.1+KT 0	76.7	生长慢,弱小
2	BA 1.0+NAA 0.1+KT 1.0	56.7	生长慢,较弱
3	BA 2.0+NAA 0.1+KT 0	83.3	生长快,较弱
4	BA 2.0+NAA 0.1+KT 2.0	46.7	生长中,较弱
5	BA 3.0+NAA 0.2+KT 0	70.0	生长慢,弱小
6	BA 3.0+NAA 0.1+KT 0	96.7	生长快,健壮
7	BA 4.0+NAA 0.1+KT 0	86.7	生长快,较弱

2.3 不同激素配比对矮牵牛芽苗增殖的影响

将初代培养诱导出的高 3~5 cm 的芽苗分切成带芽短缩茎,转接到 6 种不同的继代培养基上,结果显示(表 2),6 种继代培养基均可使芽苗增殖,但增殖效果差异显著。在 BA 和 NAA 的激素组合中,BA 浓度从 1.0 mg/L 提高到 3.0 mg/L,伴随着 NAA 从 0.1 mg/L 提高到 0.2 mg/L,增殖系数从 7.80 上升到 11.07。但从生长情况看,矮牵牛芽苗对 NAA 较为敏感,浓度稍高即表现出褪绿现象,且叶片细长、缺刻深。附加 KT 后,芽苗增殖系数下降,表现出与初代培养类似的结果。因此,MS+3.0 mg/L BA+0.1 mg/L NAA 是较适宜的增殖培养基。

表 2 不同激素比对矮牵牛芽苗增殖的影响

编号	激素配比/(mg·L ⁻¹)	增殖系数	苗高/cm	叶形	叶色
1	BA 1.0+NAA 0.1	7.80±1.20 b	2.5±0.6 b	叶缘卷缩	极浓绿
2	BA 1.0+NAA 0.1+KT 1.0	5.93±1.03 c	2.3±0.5 b	叶缘卷缩	极浓绿
3	BA 2.0+NAA 0.1+KT 2.0	4.53±0.87 c	2.2±0.5 b	叶缘卷缩	极浓绿
4	BA 2.0+NAA 0.1	8.00±2.25 b	2.6±0.4 b	叶缘卷缩	较绿
5	BA 3.0+NAA 0.1	8.30±1.76 b	3.2±0.6 a	叶平展	绿
6	BA 3.0+NAA 0.2	11.07±2.07 a	3.3±0.5 a	叶平展	淡绿

2.4 生根培养

增殖培养 30 d 后,将高为 3~3.5 cm 左右的无根苗分离出来,转接于 4 种生根培养基上,1 周左右均可陆续生根。从表 3 可见,生根的基本培养基以 1/2 MS 优于 MS。在附加 0.2 mg/L 2,4-D 或 0.2 mg/L IBA 培养基中的生根率均可达 100%,优于附加 0.2 mg/L NAA,诱导生根培养 3 周后,幼苗叶片宽大,颜色浓绿,整株健壮,试管苗的质量

最好。

表 3 培养基对矮牵牛生根的影响

编号	激素配比/(mg·L ⁻¹)	生根率/%	生根数/条
1	MS+NAA 0.2	33.3±12.7 b	1.7±1.0 b
2	1/2MS+NAA 0.2	80.0±15.3 a	2.4±1.3 a
3	1/2MS+2,4-D 0.2	100.0±0.0 a	3.5±1.5 a
4	1/2MS+IBA 0.2	100.0±0.0 a	3.0±1.2 a

2.5 炼苗及移栽

当小苗生根 4~5 条、根长 1~2 cm 时,将幼苗移出培养室,在自然光照下炼苗 3~5 d 后,移栽至混合基质中,幼苗成活率可达 95% 以上,且生长健壮。

3 讨论

试管萌发的 F1 无菌苗植株小,叶片光滑无毛,形态分化程度低,再分化能力强。用于替代盆栽植株作为繁殖材料,取材不受栽培季节限制,无需表面灭菌,繁殖效率明显提高,既缩短了材料的培育期,加速了快繁进程,又有效地降低了生产成本。

前人研究认为,花托、茎尖、嫩叶和种子均可作为矮牵牛组织培养的外植体,尤其是花托培养,能很好地保持良种的种性。本研究对以上材料的比较表明,花托培养需经过愈伤组织再生,诱导分

化时间长,加之花托表面消毒较难,污染率高,消耗试材量大,用幼叶培养耗时长且分化率低。带芽短缩茎作为外植体,具有诱导分化时间短,芽苗增殖率高,取材容易,消毒简单等优点。

参考文献:

- [1] 马育华.植物育种的量变遗传学基础[M].南京:江苏科技出版社,1982.
- [2] 李瑛,郑国庆.重瓣矮牵牛的组织培养[J].北方园艺,1993(2):19-21.
- [3] 陈振光.园艺植物离体培养学[M].北京:中国农业出版社,1996.
- [4] 彭立新,王姝,孟广云.蝴蝶兰组织培养快繁研究[J].天津农业科学,1999,5(2):27-29.
- [5] 赵伟.矮牵牛的组织培养和快速繁殖[J].北方园艺,2004(2):37.
- [6] 纪生疆.转基因矮牵牛组培快繁技术[J].福建热作科技,2003(2):25-26.
- [7] 瞿素萍.矮牵牛的组织培养研究[J].西南农业大学学报,2001(5):447-448.

《天津农业科学》稿约

《天津农业科学》是天津市农业科学院信息研究所主办的综合性学术期刊。主要报道农林、植保、土壤肥料、园艺、畜牧兽医、农产品贮藏加工、水产、花卉、生物技术等方面的基础理论、试验报告、实用技术和专题综述类文章及农业区划、科研管理等软科学论文。开设栏目有:滨海新区论坛、生物技术、无土栽培与设施园艺、农产品标准与新品种保护、植物保护、土壤肥料与节水灌溉、畜牧兽医、贮藏加工、作物栽培与育种、农业区划、科研管理、园林绿化、信息技术等。适合各级农业科技人员、农技推广人员、农业行政管理干部、农业大中专院校师生参阅。

来稿注意事项:

(1)文稿应为作者创作,并为首发稿。作者享有文稿的著作权,文责由作者自负。来稿请提供作者真实姓名及联系地址、邮编、电话号码和 E-mail,同时注明第一作者简历(包括出生年、性别、籍贯、学历、职称和主要从事的研究)及基金资助项目的名称和编号。

(2)来稿请提供打印稿及 Word 文档,并请自留底稿。文稿务求论点明确,论据可靠,数字准确,图表清晰,内容注意保守国家机密,并附中英文文题、摘要、关键词(3~8 个)以及图题、表题。摘要内容应包括研究目的、方法、结果、结论,200 字左右。文中引用他人文献,请在文后顺序列出,并在文中相应位置用方括号标出。

(3)本刊作为中国科技论文统计源期刊已被中国学术期刊(光盘版)、万方数据库数字化期刊群收录并全文上网,如作者不同意收录,请在投稿时申明,否则视为同意收录。

(4)依照《著作权法》规定,本刊可以对来稿作文字修改、删节,涉及内容的修改应征得作者同意。文稿刊登后赠送当期刊物。

(5)来稿请勿一稿多投。如该稿曾在学术会议上宣读或用其他文种发表过,请在投稿时说明。

真诚期待您的来稿!

投稿地址:天津市南开区白堤路 268 号 邮编:300192

电话/传真:022-23678601 E-mail:tjnykx@163.com