

矮牵牛组织培养研究进展

赵琛

(广东仲恺农业技术学院实习农场, 广东广州 510225)

摘要 对近年来矮牵牛在组织培养方面的研究进行了综合性概述。详细阐述了矮牵牛组培过程中外植体选取、基本培养基的选择对组培的影响。重点综述了各种不同激素、激素浓度及其不同组合对矮牵牛愈伤组织的产生、芽和根的分化的影响。对矮牵牛组织培养今后的研究方向提出了自己的看法。

关键词 矮牵牛; 组织培养; 研究进展

矮牵牛(*Petunia hybrida*)又名碧冬茄,为茄科多年生草本花卉,早春及初夏开花不断,花团锦簇,颜色丰富多彩,是世界上最普及、销售量最大的花卉之一,有花卉园艺代名词之美称,倍受人们的重视^[1]。目前,在园艺中大量应用的矮牵牛是一个园艺品种群,于19世纪初在欧洲用一些原产南美的野生种杂交选育而成。发展到今天,大致可分为:巨大花瓣型、大花单瓣型、大花重瓣型、小花单瓣型和小花重瓣型等类型。其花色变化极其丰富,花径5~14cm。由于是杂交种,矮牵牛结实率低,用种子繁殖,其后代性状易分离退化,扦插繁殖又受材料的限制,所以组织培养是解决繁殖材料供不应求问题最有效的方法。本文将就多年来有关矮牵牛的组织培养技术进行概述,以期对今后矮牵牛的组织培养研究有所裨益。

1 外植体的选择

根据植物细胞全能性,理论上任何活组织在适宜的条件下都能发育成完整的植株。但是,不同生长状况、发育阶段、生长环境和不同部位的外植体存在一定的生理生化差异,因此选择不同的外植体可影响组织培养的形态发生。

可用作矮牵牛组织培养外植体的有种子、带芽茎段、茎尖、叶片、花蕾、花瓣、花药等。但是,不同品种或不同外植体组培的结果不一样。曲彦婷等^[2]以重瓣矮牵牛的叶片、茎段、茎尖和花蕾为外植体进行培养,结果认为:培养前期愈伤组织分化差别不大,但是后期茎尖出苗率最高,达90%,茎段次之,叶片有玻璃化现象,而部分花蕾已经在培养基上开花。佟凤琴等^[3]以叶片、茎尖、茎段为外植体对矮牵牛进行培养,都成功地获得了再生植株,但是在培养过程中,也是茎尖先分化出芽,其次是茎段,叶片分化出芽的时间最长。权宏等^[4]以叶片为外植体,约20d产生愈伤组织,4周产生幼芽。而瞿素萍^[5]以茎尖及茎段为外植体,3d后开始形成愈伤组织,10d后就分化形成苗。张树军等^[6]对带芽茎段进行培养,7d后腋芽就开始萌发,1个月左右即可产生嫩茎。纪生疆^[7]以转基因矮牵牛为材料,用茎尖、茎段、叶片为外植体进行组培,结果表明:茎尖产生愈伤组织最多,茎段次之,叶片最少。另外,以种子、花蕾、花药等作外植体均已获得再生植株^[8,9]。

从分化结果来看,茎尖作外植体最好,幼芽分化所需时间短,分化出来的幼芽健壮;其次为茎段,叶片不但产生愈伤组织少,而且产生幼苗所需时间长。在茎尖和茎段试验中,前者无论在生长势或分化率方面都优于后者,虽然二者都含芽原基,但茎尖从形态结构上比茎段更趋于完整,而且营养及激素含量相对较多,具备更强的感受态^[10]。但是,由于矮牵牛分枝少,茎尖数量有限,如果全部以茎尖为外植体,不能提供足够的商品苗。作为外植体的茎段,一般长1~2cm,叶片则取1cm²为宜,虽然用叶片作外植体最终能得到大量幼芽,但是所需时间长,而且得到的幼芽比较弱。综合来看,以茎段(包括茎尖)为外植体是矮牵牛组织培养的最佳选择。

2 培养基和培养条件对组培结果的影响

2.1 基本培养基的选择

培养基是外植体生长的营养来源,植物不同,所需养分就不同。因此,选择合适的培养基对组织培养至关重要。目前,国内外主要采用MS和1/2MS培养基进行矮牵牛组织培养,其中MS主要用来培养愈伤组织及继代增殖,1/2MS主要用于生根培养。也有用NH培养基^[11]和1/4MS培养基^[12]对矮牵牛进行组培的,但是用于其他一些物种中的N6、ZHS、LS等^[13,14]基本培养基未见用于矮牵牛。

针对不同的需要,可以改变基本培养基中的营养成分及其含量。张敏等^[15]在培养愈伤组织继代增殖的基本培养基里加3%的蔗糖,而在生根培养基里加2%的蔗糖。而郭慧杰^[16]除了在以MS为基本生根培养基里加2%的蔗糖外,还加了0.25%的活性炭。代色平等^[17]则在NH培养基的基础上,比较了不同浓度以及不同糖源对花药诱导率的影响,结果表明:麦芽糖比蔗糖的效果好,愈伤组织诱导率高,而且分化能力强,在一定范围内,麦芽糖的浓度对诱导率没有影响。但是相对于蔗糖本身来说,2%的浓度对花药诱导率最高。分析认为:麦芽糖能显著提高胚状体或愈伤组织分化率,可能是由于在麦芽糖培养基中产生的胚状体或愈伤组织较为“年轻”,从而具有更高的再生能力^[18]。

2.2 不同激素及其组合对诱导愈伤组织的影响

到目前为止,大部分组织培养研究者都用6-BA作为诱导愈伤组织的主要激素,至于使用量以及是否与其他激素配合使用,不同的品种、不同的材料和不同的研究者得到了不同的结论。有人认为培养物愈伤组织的产生与BA的浓度成正比,BA浓度愈高,产生的愈伤组织块愈多,愈伤组

作者简介 赵琛(1975-),男,广东湛江人,农艺师,主要从事作物栽培与组织培养方面的研究。

收稿日期 2006-11-20

组织块愈大,能分割的小块就愈多,繁殖倍数也愈高,但变异率也愈高^[9]。大部分研究者用 BA 或 6-BA 与 NAA 组合来诱导愈伤组织的产生,而且取得了良好的效果^[6,7]。至于所用浓度,一般 BA 在 1.0~3.2mg/L 之间、NAA 在 0.1~0.2mg/L 之间都能获得大量的愈伤组织,最常用的是 BA 1.0mg/L + NAA 0.1mg/L。也有用 6-BA 与 IBA 组合取得较好效果的^[9]。

2.3 不同激素及其组合对芽分化及继代增殖的影响

以叶片作为外植体的培养过程要经过愈伤组织的产生然后才出现芽的分化,用带芽茎段或茎尖作外植体则直接进行芽的分化或芽的生长。但是,为了增加繁殖系数都需将分化出来的芽进行继代增殖培养。在进行芽分化培养中,一般采用激素组合,最常用的组合有两种:BA+IBA 和 6-BA+NAA。也有人采用 3 种激素组合或单一激素取得较好效果的,比如权宏等^[9]用 6-BA 0.5mg/L + 4-PU 0.5mg/L + NAA 0.1mg/L 就取得了较好的分化效果;而张树军等^[9]用细胞分裂素 ZT(玉米素)也得到了大量增殖芽。所用激素浓度不同,往往分化效果也不一样,其中 BA 浓度 0.05~2.0mg/L、NAA 浓度 0.05~0.2mg/L、6-BA 浓度 1.0~3.0mg/L 都有人用过,而且效果不错。张颖等^[17]研究认为:高浓度的 BA 可以直接从茎和叶上诱导出愈伤组织,由愈伤组织形成不定芽苗;中浓度的 BA 使其形成定芽和不定芽两种苗;低浓度的 BA 基本为顶芽和侧芽两种定芽成苗。

2.4 不同激素及其组合对根分化的影响

生根培养基基本上以 1/2MS 为基本培养基,在此基础上添加 NAA 是目前最流行的根分化培养基。NAA 使用浓度不一,0.03~2.0mg/L 都有人使用,对不同的基因型所需浓度不一定相同。郭慧杰^[9]用美国进口的杂交种垂吊矮牵牛“Wafe”为材料,以 MS+NAA 2.0mg/L + 6IBA 0.1mg/L 为生根培养基,得到生根率为 95%。吴林森^[9]通过比较试验得到 1/2MS + NAA 1.0mg/L 生根率为 100%,而且根系发达,植株生长健壮。大部分研究者认为,NAA 和 IBA 对生根有促进作用,但也有这两种激素对生根有抑止作用的研究结果^[9],原因可能是材料不同或者前期使用激素不同所致。

2.5 培养条件

目前普遍培养条件为:pH 值 5.8,光照 10~12h,温度 20~28℃,光照强度 1 000~2 000lx。

3 组培苗移栽技术研究

组培苗移栽一般经过三个步骤:首先,当根长至 1cm 以上、苗高约 4~5cm 时在自然条件下打开瓶口开始炼苗,炼苗时间约 2~3d 或 7~8d;然后把苗取出,用温水洗干净根部粘附的培养基,移栽至消过毒的无土基质中,适当遮阴并控制环境温度;10~20d 后即可移栽大田或上盆。

4 展望

对矮牵牛进行组织培养的研究已经有很长时间,已经初步建立了快繁体系,为市场幼苗的需求做出了一定贡献,但尚有许多问题值得继续研究。在种质资源保存方面研究不多,许多优良外来品种未作种质保存即生产成商品上市,导致每年都要重复从国外进口,造成资源浪费。很少见有从多倍体培养及转基因育种方面进行组培的应用,这应该是未来矮牵牛新品种培育发展的重要方法之一。对组培苗移栽技术虽然也有一定的研究,但是力度不够,思路单一,方法陈旧,未见有既可缩短组培苗适应期,又可培育出生长健壮的移栽技术出现。建立一个高效、优质、适应全方位需要的矮牵牛组培技术,既是矮牵牛研究者的迫切需要,也是市场的需要。

5 参考文献

- [1] Cfrancis X J. The greenhouse and nursery handbood[M]. Andmar press M W, 1992, 9.
- [2] 曲彦婷,吕品,陈菲.矮牵牛快繁技术研究[J].国土与自然资源研究, 2003(3): 92-93.
- [3] 佟凤琴,栾岚,胡春霞.矮牵牛的组织培养及快速繁殖的研究[J].辽宁师专学报, 2001, 3(4): 90-91.
- [4] 权宏,齐莹,施和平.紫色大花矮牵牛组织培养与植株再生[J].亚热带植物科学, 2004, 33(1): 51-52.
- [5] 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.
- [6] 张树军,李元,韩冰.矮牵牛的组织培养与快繁[J].内蒙古农业科技, 2001(4): 5-6.
- [7] 纪生疆.转基因矮牵牛组培快繁技术[J].福建热作科技, 2003, 28(3): 25-26.
- [8] 代色平,包满珠.矮牵牛花药培养及植株再生研究[J].亚热带植物科学, 2003, 32(3): 55-57.
- [9] 赵伟.矮牵牛的组织培养和快速繁殖[J].北方园艺, 2004(2): 37.
- [10] 黄学林,李夜菊.高等植物组织离体培养的形态建成及其调控[M].北京:北京科学出版社, 1995: 67.
- [11] 朴日子,金英善,曹后男,等.矮牵牛的快速繁殖技术[J].延边大学农学报, 1999, 21(4): 313-316.
- [12] 谭文澄.观赏植物组织培养[M].北京:中国林业出版社, 1991: 193-201.
- [13] Hussey G. In vitro propagation of Gladiolus by precocious axillary shoot formation[J]. Scientia Horticulture, 1977, 6(4): 287-296.
- [14] 张敏,张曙光,孙红绪.重瓣矮牵牛的组织培养和快速繁殖[J].植物生理学通讯, 2003, 39(2): 144.
- [15] 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, 39(5): 473.
- [16] Nageli M. Improved formation of regenerable callus in isolated microspore culture of maize: impact of carbohydrates, plating density and time of transfer[J]. Plant Cell Reports, 1999, 19(2): 177-184.
- [17] 张颖,罗凤霞,曾会明.3 个香型矮牵牛品种的组织培养再生体系[J].沈阳农业大学学报, 2005, 36(4): 424-427.
- [18] 吴林森.不同浓度的外源激素对矮牵牛组织培养的影响[J].林业建设, 2004(3): 25-27.
- [19] 崔广荣,梁继田,崔海重.瓣矮牵牛叶片的组织培养[J].特产研究, 2004(3): 20-23.

(上接第 8 页)

豆科的豌豆、蚕豆和禾本科的黑麦草抗寒、抗旱、抗瘠能力较强,成活率较高,长势较好,产量较高,含氮量也高,分解较快,翻埋后对提高土壤肥力效果较好。当年对茶树生长不但没有太大的矛盾,相反还有促进作用,尤其是豆科的

蚕豆和豌豆表现最好,是高山新垦红壤有机茶园较为理想的绿肥品种,有良好的推广前途。

4 致谢

余姚市陆埠林业站郑岳云、上虞市舜龙茶业有限公司王水军参加了本项目部分调查工作,借此一并致谢!