

矮牵牛茎段植株再生体系的建立^{*}

金晓玲, 胡莹, 李冰华

(中南林业科技大学 环境艺术设计学院, 湖南 长沙 410004)

摘要: 将矮牵牛 *Petunia hybrida* Vilm 的茎段接种在MS 附加不同激素的培养基上进行愈伤组织诱导。结果表明: 在MS+BA $1.0 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ +NAA $1.0 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的培养基上可以形成愈伤组织, 而且经过继代培养仍可形成愈伤组织; 茎段或愈伤组织接种在MS+BA $1.0 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ +NAA $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的培养基上可以形成不定芽, 且诱导率达100%; 健壮的高1.5~2.0 cm 的不定芽接种在1/2MS+BA $0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ +AC $1.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的培养基上, 其生长根状良好, 生根率达100%。

关键词: 生物技术; 组织培养; 矮牵牛; 茎段; 愈伤组织; 植株再生

中图分类号: Q944.6 **文献标志码:** A

Establishment of A Regeneration System from the Stem of *Petunia hybrida* Vilm

JN Xiao-ling, HU Ying, LI Bing-hua

(School of Environmental Art & Design, Central South University of Forestry & Technology, Changsha 410004, Hunan, China)

Abstract: The stem of *Petunia hybrida* Vilm was cultured on MS supplemented with different combinations of hormones. Results show that MS supplemented with BA $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ and NAA $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ is a beneficial medium for callus induction and the callus can be subcultured in the same medium; that adventitious buds can be induced in MS supplemented with BA $1.0 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ and NAA $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ from the stem or callus and the percentage of induction is 100; and that the vigorous adventitious shoots about 1.5~2.0 cm tall can be cultured in 1/2MS supplemented with BA or NAA and their highest rooting (100%) can be obtained in 1/2MS supplemented with $0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ BA and $1.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ AC $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$.

Key words: bio-technology; tissue culture; *Petunia hybrida* Vilm; stem; callus; plant regeneration

矮牵牛 *Petunia hybrida* Vilm 为茄科矮牵牛属, 多年生草本花卉^[1]。矮牵牛品种繁多, 花色丰富, 在欧美及日本等地区广泛栽培, 因此其有花卉园艺代名词之誉。国外对矮牵牛的研究在各方面都已经相当深入。随着花卉业的迅猛发展, 我国于20世纪初开始引种栽培矮牵牛, 直到80年代初开始从美国、荷兰、日本等国引进优良品种, 极大地改善了矮牵牛生产的落后面貌^[2]。由于矮牵牛有很高的观赏性, 且具有花色丰富和生长繁殖容易等特点, 已成为花卉研究的模式植物。利用生物技术改变观赏植物的性状, 创造优良新品种, 是目前园林植物的一个热点^[3]。植物组织培养植株再生系统的建立是进行生物技术转基因研究的实验基础, 因此对这一方面的研究也比较多^[4~21]。本研究报道了矮牵牛愈伤组织的诱导和植株再生体系的建立, 旨在为进一步的开展矮牵牛转基因研究提供实验基础。

1 实验材料和方法

以矮牵牛 *Petunia hybrida* Vilm 新品种“风度”的茎段为外植体, 接种在MS 附加不同浓度BA ($0.0 \sim 2.0 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 和NAA ($0.0 \sim 1.0 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 的培养基中进行愈伤组织诱导, 然后通过愈伤组织诱导不定芽, 最后将健壮的不定芽接种在1/2MS 附加 $0.1 \sim 1.0 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ BA 的培养基诱导生根。

* 收稿日期: 2007-03-06

修回日期: 2007-08-21

基金项目: 湖南省自然科学基金“利用RNA 干扰技术改变百合花期的研究”(05JJ40123) 部分内容

作者简介: 金晓玲(1963-), 女, 浙江东阳人, 教授, 博士, 主要从事植物生物技术和生物化学等方面的教学与研究

培养条件: 光照强度 1 500 lx, 光周期 12 h d, 温度 25 .

2 结果与分析

2.1 矮牵牛愈伤组织和不定芽的诱导

将矮牵牛茎段接种在MS 附加BA 和NAA 的培养基中, 进行愈伤组织和不定芽的诱导, 其生长状况见表1.

由表1可知, 矮牵牛茎段在这些培养基中可以诱导愈伤组织或不定芽的形成, 其中有些培养基中可同时产生不定芽和愈伤组织. 当BA NAA 的比例较高时, 通常诱导不定芽的分化; 当BA NAA 的比例较低时, 较易诱导愈伤组织. 其中, 茎段在MS+BA 1.0 mol·L⁻¹+NAA 1.0 mol·L⁻¹的培养基中只产生愈伤组织, 而且愈伤组织的诱导率达100%. 这种愈伤组织在相同的培养基上可以进行继代培养, 继代的时间为20 d(见图1).

当茎段或愈伤组织接种在MS+BA 1.0 mol·L⁻¹+NAA 0.1 mol·L⁻¹的培养基中, 其产生不定芽的诱导率最高, 为100% (见图2 图3).

2.2 生根诱导

将生长健壮的高1.5~2.0 cm 的不定芽接种在1/2MS附加0.1~1.0 mol·L⁻¹BA 的培养基中诱导生根, 结果见表2.



图2 茎段在MS+1.0 mol·L⁻¹BA+0.1 mol·L⁻¹NAA 产生的不定芽

Fig 2 The adventitious shoots from stem on MS+1.0 mol·L⁻¹BA+0.1 mol·L⁻¹NAA

表1 矮牵牛茎段愈伤组织和不定芽的诱导

Table 1 Callus and adventitious shoot induction from stem of *Petunia hybrida* Vilm

编号	培养基	BA 浓度 (mol·L ⁻¹)	NAA 浓度 (mol·L ⁻¹)	愈伤组织诱导率 %	不定芽诱导率 %
0	MS	0.00	0.00	0	0
1	MS	1.00	0.00	25	75
2	MS	1.00	0.05	39	89
3	MS	1.00	0.10	0	100
4	MS	1.00	1.00	100	0
5	MS	0.00	2.00	0	0
6	MS	0.05	2.00	0	0
7	MS	0.10	2.00	65	32
8	MS	1.00	2.00	86	0



图1 茎段在MS+1.0 mol·L⁻¹BA+1.0 mol·L⁻¹NAA 产生的愈伤组织

Fig 1 The callus of stem on MS+1.0 mol·L⁻¹BA+1.0 mol·L⁻¹NAA

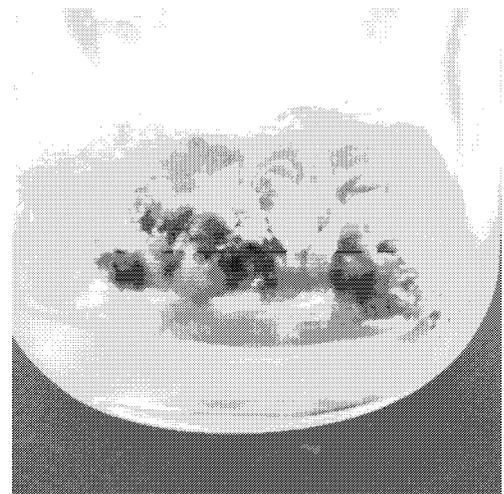


图3 愈伤组织在MS+BA 1.0 mol·L⁻¹+NAA 0.1 mol·L⁻¹产生不定芽

Fig 3 The adventitious shoots from callus on MS+1.0 mol·L⁻¹BA+0.1 mol·L⁻¹NAA

表2 不同激素对矮牵牛诱导生根的影响

Table 2 The effects of different medium combination of NAA and IBA on rooting of in vitro regenerated shoots

编号	培养基	BA 浓度 ($\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	NAA 浓度 ($\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	BA 浓度 ($\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)	AC 浓度 ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	生根率 %	生长情况
0	1 MS	0.0	0.0	0.0	0.0	0	无
1	1 MS	1.0	0.1			0	无
2	1 MS		0.1			63	细长
3	1 MS		0.5			92	细长、多
4	1 MS		0.5		1.0	100	粗长、多
5	1 MS			0.1		83	细短、少
6	1 MS			0.5		100	粗长、多
7	1 MS			0.5	1.0	100	粗短、多

从表2可以看出,BA的存在不利于根的诱导;不定芽在含有NAA或BA的培养基上都能产生根,但BA的效果比NAA要好;加入活性炭(AC)后可以使根更加粗壮,有利于提高移栽的成活率;以 $1.2 \text{ MS} + 0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ BA} + 1.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{ AC}$ 的培养基上诱导的根生长状况最好,生根率达100%(图4)。

3 结论

通过研究,笔者建立了完整的矮牵牛 *Petunia hybrida* Vilm 新品种‘风度’的愈伤组织诱导植株再生体系:愈伤组织诱导培养基是 $\text{MS} + \text{BA} 1.0 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} + \text{NAA} 1.0 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$,不定芽诱导培养基为 $\text{MS} + \text{BA} 1.0 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} + \text{NAA} 0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。在 $1.2 \text{ MS} + 0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ BA} + 1.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{ AC}$ 的培养基上生长根状况最好,生根率达100%。建立了完整的快速繁殖体系,为进一步的基因工程改良矮牵牛的形状研究打下了良好的基础。

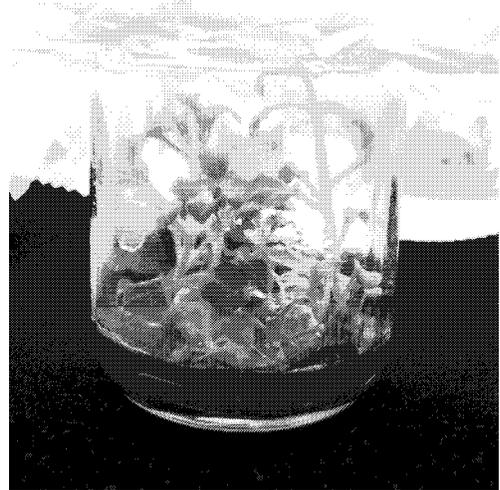


图4 在 $1.2 \text{ MS} + 0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ BA} + 1.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{ AC}$ 的培养基上诱导生根

Fig 4 The induce rooting on $1.2 \text{ MS} + 0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{ IBA} + 1.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{ AC}$

参考文献:

- [1] 刘小珍,李桐森,龚秀会,等.抗蚜基因转化矮牵牛的初步研究[J].云南农业科技,2006,(3):25-26.
- [2] 代色平,包满珠.矮牵牛育种研究进展[J].植物学通报,2004,21(4):385-391.
- [3] 夏江东,程在全,黄兴奇,等.矮牵牛花色CHS2A基因启动子(Pchs2a)的克隆及序列分析[J].西南农业学报,2006,19(4):676-678.
- [4] 梁冰,杨爱霞,樊锐锋,等.矮牵牛(*Petunia hybrida* Vilm)组织培养技术研究[J].东北农业大学学报,2006,37(4):478-483.
- [5] 徐刚标,何方,陈良昌.银杏愈伤组织诱导与继代培养的研究[J].中南林学院学报,1999,19(3):32-36.
- [6] 谢碧霞,何业华,易志军.盾叶薯蓣愈伤组织培养及其高产系的筛选[J].中南林学院学报,1999,19(4):17-21.
- [7] 何业华,胡芳名,谢碧霞.经济林木离体培养研究进展[J].中南林学院学报,2000,20(1):35-39.
- [8] 周国英,刘军昂,周德民.山萘菜组织培养的研究[J].中南林学院学报,2000,20(1):65-67.
- [9] 金晓玲,何平.大叶榉愈伤组织诱导与继代培养的影响因素[J].中南林学院学报,2003,23(1):31-36.
- [10] 陈发棣,滕年军,房伟民,等.三个菊花品种花器官愈伤组织辐射效应的研究[J].中南林学院学报,2003,23(5):49-52.
- [11] 屈云慧,熊丽,张素芳,等.虎眼万年青离体快繁体系及无糖生根培养[J].中南林学院学报,2003,23(5):56-58.
- [12] 易自力,陈自勇,蒋建雄,等.三种冷季型草坪草愈伤组织再生体系的建立[J].中南林学院学报,2005,25(1):25-28.
- [13] 蔡能,易自力,黄丽芳.安祖花离体培养快速繁殖技术的优化[J].中南林学院学报,2005,25(3):85-88.
- [14] 曾艳玲,谭晓风,乌云塔娜.自交新高梨叶片的培养繁殖技术[J].中南林学院学报,2005,25(4):50-52.
- [15] 仇键,谭晓风.蒙花1、2号金银花的组织培养与快速繁殖[J].中南林学院学报,2005,25(4):53-56.
- [16] 张日清,文丽,刘友全,等.低温预处理对油茶花药愈伤组织诱导的影响[J].中南林学院学报,2005,25(6):24-28.
- [17] 刘卫东,刑伟一,文冬才,等.高羊茅组织培养基的选择[J].中南林学院学报,2005,25(6):116-119.
- [18] 何志祥,曾艳玲,谭晓风.翠冠梨茎段组织培养的研究[J].中南林学院学报,2006,26(1):66-68.
- [19] 金晓玲,何平,张日清.大果榉未成熟胚愈伤组织的诱导和植株再生[J].中南林学院学报,2006,26(5):98-101.
- [20] 欧菊泉,陈雪香,丁利华,等.虎杖愈伤组织的诱导及其白藜芦醇形成初探[J].中南林学院学报,2006,26(3):24-27,50.
- [21] 李建安,胡芳名,谭晓风.拟南芥悬浮细胞及其愈伤组织对潮霉素的反应[J].中南林学院学报,2006,26(3):42-46.