

# 矮牵牛(*Petunia hybrida* Vilm)组织培养技术研究

梁冰, 杨爱馥, 樊锐锋, 胡宝忠\*

(东北农业大学生命科学学院, 黑龙江 哈尔滨 150030)

**摘 要:** 实验以矮牵牛(*Petunia hybrida* Vilm)的花瓣为培养材料, 在 MS 培养基中附加不同浓度的细胞分裂素(6-BA)和生长素(NAA), 进行矮牵牛快速繁殖技术研究。结果表明, MS + 6-BA(2.0 mg·L<sup>-1</sup>) + NAA(0.1 mg·L<sup>-1</sup>)培养基愈伤组织发生的较早, 数量多, 培养基为最佳分化培养基, 不定芽发生早, 粗壮, 数量多, 玻璃化程度很小; 诱导不定根时, 1/2 MS + NAA(0.5 mg·L<sup>-1</sup>)培养基诱导生根的时间较早, 不定根发生率达100%。

**关键词:** 矮牵牛; 组织培养; 花瓣; 愈伤组织

**中图分类号:** S681.6; QS813.1\*2

**文献标识码:** A

矮牵牛(*Petunia hybrida* Vilm)又名碧冬茄、番薯花、王子观灯、灵芝牡丹, 茄科矮牵牛属, 多年生草本花卉。矮牵牛在欧美及日本等地区广泛栽培, 一直被喻为“世界花坛花卉之王”, 有花卉园艺代名词之誉。国外对矮牵牛各方面的研究已经相当深入, 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。但优良品种投入生产后, 在一般技术条件下, 因为其种子小、发芽率低、繁殖慢, 且多为杂交种, 容易导致性状分离, 常完全失去栽培利用的价值, 因此, 研究新的繁殖、生产技术非常迫切。应用组织培养技术对优良品种特性的矮牵牛单株进行快速繁殖, 在短期内生产出大量整齐、均匀的健壮种苗, 建立一个高效率的植株再生系统, 将有利于种质资源的保存, 优良品种的应用与推广, 以及为基因克隆和生产转基因植株做准备材料<sup>[1-7]</sup>, 因此, 研究矮牵牛快速繁殖技术具有很大的经济意义。实验利用矮牵牛的花瓣作为外植体进行组织培养研究, 丰富了以往仅采用叶片、茎尖、腋芽等作为外植体的研究资料。

## 1 材料与方法

### 1.1 无菌材料的获得

供试材料为东北农业大学室外花园内紫花及白花重瓣矮牵牛。将花瓣置流水下冲洗2~4 h, 无菌条件下经70%酒精漂洗30~50 s, 无菌水冲洗1次, 转入0.1% HgCl<sub>2</sub>进行消毒<sup>[8]</sup>。

### 1.2 愈伤组织的诱导

基本培养基采用 MS, 附加不同种类和浓度的激素<sup>[9]</sup>, 共设15小组培养基处理, 标记为 A 组: MS + 6-BA(0.5~2.5 mg·L<sup>-1</sup>) + NAA(0.1~1.0 mg·L<sup>-1</sup>), 其中包括15小组, 6-BA 的浓度梯度为0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 mg·L<sup>-1</sup>, NAA 的浓度梯度为0.1, 0.5, 1.0 mg·L<sup>-1</sup>。A<sub>1</sub>~A<sub>15</sub>各小组分别接种10瓶, 见表1。

表1 诱导愈伤培养基的附加激素(6-BA+NAA)

Table 1 Add-ons hormone of inducement  
callus culture medium (mg·L<sup>-1</sup>)

| 项目<br>Item | 6-BA<br>0.5     | 6-BA<br>1.0     | 6-BA<br>1.5     | 6-BA<br>2.0     | 6-BA<br>2.5     |
|------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| NAA 0.1    | A <sub>1</sub>  | A <sub>2</sub>  | A <sub>3</sub>  | A <sub>4</sub>  | A <sub>5</sub>  |
| NAA 0.5    | A <sub>6</sub>  | A <sub>7</sub>  | A <sub>8</sub>  | A <sub>9</sub>  | A <sub>10</sub> |
| NAA 1.0    | A <sub>11</sub> | A <sub>12</sub> | A <sub>13</sub> | A <sub>14</sub> | A <sub>15</sub> |

### 1.3 增殖诱导

增殖培养基为 MS 附加不同浓度的 6-BA、NAA, 共分为2次筛选。

收稿日期: 2004-10-07

作者简介: 梁冰(1977-), 男, 黑龙江人, 硕士研究生, 主要研究方向为植物分子生物学与生殖生物学。

\* 通讯作者

### 1.3.1 第1次筛选

共设9小组培养基处理,标记为B组:MS+6-BA(1.0~2.0 mg·L<sup>-1</sup>)+NAA(0.1~0.5 mg·L<sup>-1</sup>),其中包括9小组,6-BA的浓度梯度为1.5, 2.0, 2.5 mg·L<sup>-1</sup>, NAA的浓度梯度为0.1, 0.2, 0.5 mg·L<sup>-1</sup>。

B<sub>1</sub>~B<sub>9</sub>各小组分别接种20瓶。B<sub>1</sub>: 6-BA 1.5 mg·L<sup>-1</sup>+NAA 0.1 mg·L<sup>-1</sup>; B<sub>2</sub>: 6-BA 2.0 mg·L<sup>-1</sup>+NAA 0.1 mg·L<sup>-1</sup>; B<sub>3</sub>: 6-BA 2.5 mg·L<sup>-1</sup>+NAA 0.1 mg·L<sup>-1</sup>; B<sub>4</sub>: 6-BA 1.5 mg·L<sup>-1</sup>+NAA 0.2 mg·L<sup>-1</sup>; B<sub>5</sub>: 6-BA 2.0 mg·L<sup>-1</sup>+NAA 0.2 mg·L<sup>-1</sup>; B<sub>6</sub>: 6-BA 2.5 mg·L<sup>-1</sup>+NAA 0.2 mg·L<sup>-1</sup>; B<sub>7</sub>: 6-BA 1.5 mg·L<sup>-1</sup>+NAA 0.5 mg·L<sup>-1</sup>; B<sub>8</sub>: 6-BA 2.0 mg·L<sup>-1</sup>+NAA 0.5 mg·L<sup>-1</sup>; B<sub>9</sub>: 6-BA 2.5 mg·L<sup>-1</sup>+NAA 0.5 mg·L<sup>-1</sup>。

### 1.3.2 第2次筛选

共设7小组培养基处理,标记为C组:MS+6-BA(1.5~6.0 mg·L<sup>-1</sup>)+NAA(0.1 mg·L<sup>-1</sup>),其中6-BA的浓度梯度为1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0 mg·L<sup>-1</sup>, NAA的浓度为0.1 mg·L<sup>-1</sup>。

C<sub>1</sub>~C<sub>7</sub>各小组分别接种20瓶。C<sub>1</sub>: 6-BA 1.5 mg·L<sup>-1</sup>+NAA 0.1 mg·L<sup>-1</sup>; C<sub>2</sub>: 6-BA 2.0 mg·L<sup>-1</sup>+NAA 0.1 mg·L<sup>-1</sup>; C<sub>3</sub>: 6-BA 2.5 mg·L<sup>-1</sup>+NAA 0.1 mg·L<sup>-1</sup>; C<sub>4</sub>: 6-BA 3.0 mg·L<sup>-1</sup>+NAA 0.1 mg·L<sup>-1</sup>; C<sub>5</sub>: 6-BA 4.0 mg·L<sup>-1</sup>+NAA 0.1 mg·L<sup>-1</sup>; C<sub>6</sub>: 6-BA 5.0 mg·L<sup>-1</sup>+NAA 0.1 mg·L<sup>-1</sup>; C<sub>7</sub>: 6-BA 6.0 mg·L<sup>-1</sup>+NAA 0.1 mg·L<sup>-1</sup>。

### 1.4 不定根的诱导

将培养物分化出的芽转入不同处理生根培养基内,共设8种处理方式,标记为D组。

D<sub>1</sub>~D<sub>8</sub>各小组分别接种20瓶。D<sub>1</sub>: 1/2 MS+NAA 0.05 mg·L<sup>-1</sup>; D<sub>2</sub>: 1/2 MS+NAA 0.1 mg·L<sup>-1</sup>; D<sub>3</sub>: 1/2 MS+NAA 0.5 mg·L<sup>-1</sup>; D<sub>4</sub>: 1/2 MS+NAA 1.0 mg·L<sup>-1</sup>; D<sub>5</sub>: MS+NAA 0.05 mg·L<sup>-1</sup>; D<sub>6</sub>: MS+NAA 0.1 mg·L<sup>-1</sup>; D<sub>7</sub>: MS+NAA 0.5 mg·L<sup>-1</sup>; D<sub>8</sub>: MS+NAA 1.0 mg·L<sup>-1</sup>。以上的培养基均含有蔗糖含量为3%(30 g·L<sup>-1</sup>),琼脂为7 g·L<sup>-1</sup>, pH调至5.8。培养条件:温度22~26℃,光照12~16 h,光照强度1500 lx。

## 2 实验结果

### 2.1 最适消毒时间的选择

以污染率低,发芽率高为标准,将外植体分别消毒5, 6, 7, 8 min,比较消毒效果。根据实验对比可以看出,用0.1% HgCl<sub>2</sub>消毒低于8 min会造成外植体的污染,高于8 min则会在不同程度上对外植体造成毒害作用。所以,矮牵牛的最佳消毒时间为8 min。

### 2.2 愈伤组织的诱导

将花瓣接种到诱导培养基中培养5 d后,切块开始萌动转绿,继续培养2周以后,切块四周切口处有浅绿色的愈伤组织分化。对各配方培养材料的分化和长势情况进行分析比较和优化组合,见表2。

表2 不同浓度的培养基诱导愈伤的结果

Table 2 The induce callus result of the different culture medium

| 序号<br>Number    | 培养基(mg·L <sup>-1</sup> )<br>Culture medium | 接种花瓣片数<br>The numbers of petal | 诱导分化片数<br>The numbers of induce | 愈伤诱导率(%)<br>Rate of induced callus |
|-----------------|--------------------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|------------------------------------|
| A <sub>1</sub>  | 6-BA(0.5)+NAA(0.1)                         | 40                             | 9                               | 22.5                               |
| A <sub>2</sub>  | 6-BA(1.0)+NAA(0.1)                         | 40                             | 21                              | 52.5                               |
| A <sub>3</sub>  | 6-BA(1.5)+NAA(0.1)                         | 40                             | 29                              | 72.5                               |
| A <sub>4</sub>  | 6-BA(2.0)+NAA(0.1)                         | 40                             | 34                              | 85.0                               |
| A <sub>5</sub>  | 6-BA(2.5)+NAA(0.1)                         | 40                             | 27                              | 67.5                               |
| A <sub>6</sub>  | 6-BA(0.5)+NAA(0.5)                         | 40                             | 11                              | 27.5                               |
| A <sub>7</sub>  | 6-BA(1.0)+NAA(0.5)                         | 40                             | 12                              | 30.0                               |
| A <sub>8</sub>  | 6-BA(1.5)+NAA(0.5)                         | 40                             | 26                              | 65.0                               |
| A <sub>9</sub>  | 6-BA(2.0)+NAA(0.5)                         | 40                             | 29                              | 72.5                               |
| A <sub>10</sub> | 6-BA(2.5)+NAA(0.5)                         | 40                             | 26                              | 65.0                               |
| A <sub>11</sub> | 6-BA(0.5)+NAA(1.0)                         | 40                             | 7                               | 17.5                               |
| A <sub>12</sub> | 6-BA(1.0)+NAA(1.0)                         | 40                             | 20                              | 50.0                               |
| A <sub>13</sub> | 6-BA(1.5)+NAA(1.0)                         | 40                             | 21                              | 52.5                               |
| A <sub>14</sub> | 6-BA(2.0)+NAA(1.0)                         | 40                             | 28                              | 70.0                               |
| A <sub>15</sub> | 6-BA(2.5)+NAA(1.0)                         | 40                             | 23                              | 57.5                               |

注:愈伤诱导率(%)=(愈伤组织形成总数/接种的外植体总数)×100%。

Note: Rate of induce callus=(The number of prime callus forming / The number of seeds) × 100%.

由表 2 可见, 培养基 MS + 6-BA (2.0 mg·L<sup>-1</sup>) + NAA (0.1 mg·L<sup>-1</sup>), pH 值为 5.8, 最适合愈伤组织的诱导。在该培养基上, 外植体不仅生长良好, 而且愈伤组织的颜色翠绿, 玻璃化程度小, 还可以分化出一些幼芽。

### 2.3 最佳分化培养基的筛选

将愈伤组织切下后转入到生殖培养基中, 经过约 20 d 的培养, 愈伤组织形成长满大量不定芽的芽块。对不同培养基配方的分化率、芽的长势、颜色情况进行分析比较和优化组合, 见表 3。

表 3 不同浓度的培养基诱导生芽的结果(I)

Table 3 The induce buds result of the different culture (I)

| 序号<br>Number   | 培养基(mg·L <sup>-1</sup> )<br>Culture medium | 接种的愈伤个数<br>The numbers of callus | 诱导生芽的个数<br>The numbers of buds | 芽分化率(%)<br>Rate of induced buds |
|----------------|--------------------------------------------|----------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|
| B <sub>1</sub> | 6-BA (1.5) + NAA (0.1)                     | 20                               | 6                              | 30                              |
| B <sub>2</sub> | 6-BA (2.0) + NAA (0.1)                     | 20                               | 9                              | 45                              |
| B <sub>3</sub> | 6-BA (2.5) + NAA (0.1)                     | 20                               | 9                              | 45                              |
| B <sub>4</sub> | 6-BA (1.5) + NAA (0.2)                     | 20                               | 8                              | 40                              |
| B <sub>5</sub> | 6-BA (2.0) + NAA (0.2)                     | 20                               | 7                              | 35                              |
| B <sub>6</sub> | 6-BA (2.5) + NAA (0.2)                     | 20                               | 6                              | 30                              |
| B <sub>7</sub> | 6-BA (1.5) + NAA (0.5)                     | 20                               | 5                              | 25                              |
| B <sub>8</sub> | 6-BA (2.0) + NAA (0.5)                     | 20                               | 7                              | 35                              |
| B <sub>9</sub> | 6-BA (2.5) + NAA (0.5)                     | 20                               | 7                              | 35                              |

注: 芽分化率(%) = (诱导生芽的总数/接种的愈伤的总数) × 100%。

Note: Rate of induce buds = (The number of prime buds forming / The number of callus) × 100%.

通过第 1 组培养基的筛选, 可知 MS + 6-BA (2.0) + NAA (0.1) 和 MS + 6-BA (2.5) + NAA (0.1) 效果较好。根据以上结果, 进一步探讨 6-BA 的

适宜浓度, 进行第 2 次筛选。其中 6-BA 的浓度梯度为 1.5, 2.0, 2.5, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0 mg·L<sup>-1</sup>, NAA 的浓度为 0.1 mg·L<sup>-1</sup>, 具体情况见表 4。

表 4 不同浓度的培养基诱导生芽的结果(II)

Table 4 The induce buds result of the different culture medium (II)

| 序号<br>Number   | 培养基(mg·L <sup>-1</sup> )<br>Culture medium | 接种的愈伤个数<br>The numbers of callus | 诱导生芽的个数<br>The numbers of buds | 芽分化率(%)<br>Rate of induced buds |
|----------------|--------------------------------------------|----------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|
| C <sub>1</sub> | 6-BA (1.5) + NAA (0.1)                     | 20                               | 9                              | 45                              |
| C <sub>2</sub> | 6-BA (2.0) + NAA (0.1)                     | 20                               | 12                             | 60                              |
| C <sub>3</sub> | 6-BA (2.5) + NAA (0.1)                     | 20                               | 7                              | 35                              |
| C <sub>4</sub> | 6-BA (3.0) + NAA (0.1)                     | 20                               | 10                             | 50                              |
| C <sub>5</sub> | 6-BA (4.0) + NAA (0.1)                     | 20                               | 7                              | 35                              |
| C <sub>6</sub> | 6-BA (5.0) + NAA (0.1)                     | 20                               | 5                              | 25                              |
| C <sub>7</sub> | 6-BA (6.0) + NAA (0.1)                     | 20                               | 3                              | 15                              |

注: 芽分化率(%) = (诱导生芽的总数 / 接种的愈伤的总数) × 100%。

Note: Rate of induce buds = (The prime number of buds forming / The number of callus) × 100%.

表5 6-BA 浓度对芽长势的影响

Table 5 Influence of concentrations and combinations of 6-BA on the bud of the way corp growing

| 序号<br>Number   | 培养基(mg·L <sup>-1</sup> )<br>Culture medium | 芽的性状<br>The character of buds |
|----------------|--------------------------------------------|-------------------------------|
| C <sub>1</sub> | 6-BA(1.5)+NAA(0.1)                         | 芽均匀, 基本无玻璃化                   |
| C <sub>2</sub> | 6-BA(2.0)+NAA(0.1)                         | 芽粗壮厚大, 颜色翠绿, 基本无玻璃化           |
| C <sub>3</sub> | 6-BA(2.5)+NAA(0.1)                         | 芽短小, 轻度玻璃化                    |
| C <sub>4</sub> | 6-BA(3.0)+NAA(0.1)                         | 芽均匀, 颜色翠绿, 部分叶片卷曲             |
| C <sub>5</sub> | 6-BA(4.0)+NAA(0.1)                         | 芽较稀疏, 基本无玻璃化                  |
| C <sub>6</sub> | 6-BA(5.0)+NAA(0.1)                         | 分化的芽数量少, 轻度玻璃化                |
| C <sub>7</sub> | 6-BA(6.0)+NAA(0.1)                         | 分化的芽数量很少, 细弱, 芽较均匀            |

由表4、5可知, MS+6-BA(1.5)+NAA(0.1)、MS+6-BA(2.0)+NAA(0.1)和MS+6-BA(3.0)+NAA(0.1)的诱导生芽效果较好, MS+6-BA(2.0)+NAA(0.1)分化出的芽数量较多, 基本无玻璃化; 在MS+6-BA(3.0)+NAA(0.1)的培养基中, 诱导的芽丛均匀, 颜色翠绿, 但有部分叶片卷曲。通过比较诱导生芽的天数和诱导生芽愈伤组织的数量, 进一步比较3种不同浓度的培养基的诱导效果, 详见图1。

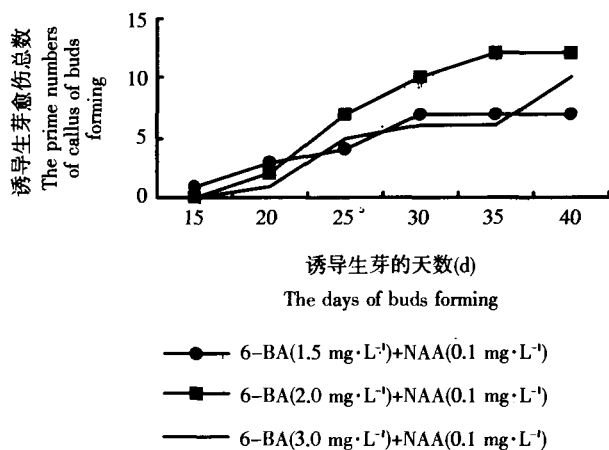


图1 不同浓度的6-BA对生芽的影响

Fig. 1 The induced buds result of the different concentrations of 6-BA

根据图1对3种不同培养基的比较可知, 在诱导生芽的第15天左右, MS+6-BA(1.5)+NAA(0.1)的诱导效果好于其他两种培养基。在接下来的一段时间培养中, MS+6-BA(2.0)+NAA(0.1)的诱导生芽率不断提高, 超过其他两种培养基的诱导率, 而在3种培养基中, MS+6-BA(1.5)+NAA

(0.1)的整体诱导生芽率较低。由表5所列的芽的形状可以看出, MS+6-BA(2.0)+NAA(0.1)培养基诱导的不定芽粗壮厚大, 数量大, 颜色翠绿, 玻璃化的程度很小, 在MS+6-BA(3.0)+NAA(0.1)的培养基中, 诱导的芽丛中有部分叶片卷曲, 影响了芽的分化。通过以上的比较得出结论, 在矮牵牛诱导生芽培养基中, MS+6-BA(2.0)+NAA(0.1)较好。

## 2.4 最佳生根培养基的筛选

将培养20 d左右、高约3.0 cm的粗壮的矮牵牛不定芽从丛生芽块上单个切下, 转入生根培养基, 由于生根培养基中加入生长素种类和浓度不同, 生根率明显不同, 见表6。

由表6可知, 在生根培养基中, 20 d后开始有锥状突起, 继续培养10 d, 培养基中的材料长出1.0~3.0 cm长而粗壮的根, 1/2 MS+NAA 0.5 mg·L<sup>-1</sup>和MS+NAA 0.5 mg·L<sup>-1</sup>诱导矮牵牛产生不定根的效果都很好。以下是几种诱导生根较好的培养基, 诱导生根的天数与诱导生根的总数的比较, 详见图2。

由图2可以看出, 1/2 MS+NAA 0.5 mg·L<sup>-1</sup>诱导生根的时间较早, 在同一时期比较, 该培养基的诱导生根率最高, 不定根发生率达100%, 并且每个不定芽发生的不定根数量较多, 也较粗壮, 轮生于基部。因此, 通过比较可知, 1/2 MS+NAA 0.5 mg·L<sup>-1</sup>为最佳生根培养基。

## 3 结 论

a. 本实验所用的外植体为矮牵牛的花瓣, 根据污染率低, 发芽率高的标准, 其消毒时间为8 min效果最佳。

表6 不同浓度的培养基诱导生根的结果

Table 6 The induced root result of the different culture medium

| 序号<br>Number   | 培养基( $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )<br>Culture medium | 接种的芽数<br>The numbers of buds | 诱导生根的个数<br>The numbers of roots | 生根诱导率(%)<br>Rate of induced root |
|----------------|--------------------------------------------------------|------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|
| D <sub>1</sub> | 1/2 MS+NAA(0.05)                                       | 20                           | 9                               | 45                               |
| D <sub>2</sub> | 1/2 MS+NAA(0.1)                                        | 20                           | 11                              | 55                               |
| D <sub>3</sub> | 1/2 MS+NAA(0.5)                                        | 20                           | 20                              | 100                              |
| D <sub>4</sub> | 1/2 MS+NAA(1.0)                                        | 20                           | 17                              | 85                               |
| D <sub>5</sub> | MS+NAA(0.05)                                           | 20                           | 7                               | 35                               |
| D <sub>6</sub> | MS+NAA(0.1)                                            | 20                           | 12                              | 60                               |
| D <sub>7</sub> | MS+NAA(0.5)                                            | 20                           | 19                              | 95                               |
| D <sub>8</sub> | MS+NAA(1.0)                                            | 20                           | 15                              | 75                               |

注: 生根诱导率(%)=(诱导生根的总数/接种芽的总数) $\times 100\%$ 。

Note: Rate of induced root=(The prime number of roots forming /The prime number of buds) $\times 100\%$ .

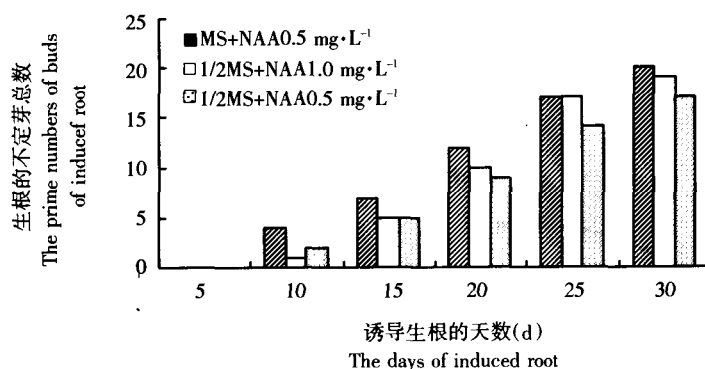


图2 不同的培养基及激素(NAA)浓度对生根的影响

Fig. 2 The induced root result of the different culture medium and different concentrations of NAA

b. 矮牵牛诱导愈伤的培养基以 MS + 6-BA ( $2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) + NAA( $0.1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 效果较好。

c. 矮牵牛的分化培养基 MS + 6-BA( $2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) + NAA( $0.1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 效果较好。

d. 矮牵牛生根培养基 MS + NAA( $0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )和 1/2 MS + NAA ( $0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )效果较好。

#### [ 参 考 文 献 ]

- [1] Moalem B D. Sugar dependent gibberellin induced chalcone synthase gene expression in petunia corollas [J]. Plant Physical, 1997, 113(2): 419-424.
- [2] 籍越, 孔德政, 高水平, 等. 矮牵牛育苗基质的研究 [J]. 河北农

业大学学报, 1999, 33(3): 216-262.

- [3] 芦建军. 对盆栽矮牵牛的矮化和促进开花效益 [J]. 江苏林业科技, 1996, 23(3): 17-20.
- [4] 李鹏翔, 方业明. 花坛新秀矮牵牛 [J]. 安徽林业, 1998(2): 17.
- [5] 瞿素萍. 矮牵牛的组织培养研究 [J]. 西南农业大学学报, 2001, 10(5): 447-448
- [6] 温春红, 及华, 高延厅, 等. 矮牵牛快速繁殖技术 [J]. 河北林业科技, 1995, 12(4): 46-47.
- [7] 程广有. 矮牵牛 F1 代快速繁殖技术的研究 [J]. 吉林林业科技, 2000, 2(1): 5-7.
- [8] 古川仁朗. 图解组织培养入门 [M]. 台北: 淑馨出版社, 1996.
- [9] 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, 1997.

## Study on the technique system of tissue culture in *Petunia hybrida* Vilm

LIANG Bing, YANG Aifu, FAN Ruifeng, HU Baozhong

( College of Life Science, Northeast Agricultural University, Harbin Heilongjiang 150030, PRC )

**Abstract:** This experiment is that Buds of *Petunia hybrida* Vilm were cultivated in MS culture medium, and adding different kinds and different concentration of CTK and IAA. The results are as follows, on the culture medium of induce callus, CTK and IAA both induce the callus of the explant, the callus were induced earlier and more in MS+6-BA ( $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )+NAA ( $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ). The best differentiation culture medium is MS + 6-BA ( $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )+NAA ( $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ), adventitious buds were induced earlier, thicker and more, a fat lot of vitrification. The best culture medium of producing the root is 1/2 MS + NAA ( $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ), the rate of inducing root is highest in the culture medium (100%), and the induced root are more and thicker.

**Key words:** *Petunia hybrida* Vilm; tissue culture; petal; callus