

矮生香石竹的组织培养和快速繁殖

黄冬华¹, 周 群², 陶秀花¹, 宋小民¹, 李宝光¹, 倪国平¹

(¹江西省农业科学院蔬菜花卉研究所, 江西南昌 330200; ²江西省农业厅利用外资办公室, 江西南昌 330046)

摘要:矮生香石竹(代号为SJ-3)是本所采用切花香石竹和日本石竹杂交而成的优良新品种, 该品种矮生、重瓣, 没有种子, 不能进行有性繁殖, 因此利用组织培养技术、以矮生香石竹茎尖段为外植体, 进行了组织培养快速繁殖研究。试验结果表明: (1) 矮生香石竹增殖分化阶段的合适培养基为MS+6-BA 0.2 mg/L +KT 0.1 mg/L+NAA 0.05 mg/L+CCC 5 ml/L; (2) 合适的生根培养基为1/2MS+NAA 0.5 mg/L+IBA 0.5 mg/L, 生根率在86.6%; (3) 在同等条件下采用透气的封口膜对克服矮生香石竹试管苗玻璃化有明显的效果; (4) 生根试管苗移入珍珠岩: 河沙: 泥炭=1:1:1的基质中, 成活率达93%, 同时采用瓶外生根技术移栽成活率高, 并缩短了试管苗的繁殖周期。

关键词:矮生香石竹, 组织培养, 玻璃化, 快速繁殖。

中图分类号:S682.39; Q813.1+2 **文献标识码:**A

Tissue Culture and Rapid Propagation of the Short Carnation

Huang Donghua¹, Zhou Qun², Tao Xiuhua¹, Song Xiaomin¹, Li Baoguang¹, Ni Guoping¹

(¹The Institute of Vegetable and Flower, Jiangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanchang 330200;

²Foreign Capital Utilizing Office, Agricultural Department of Jiangxi Province, Nanchang 330046)

Abstract: The short Carnation (code number is SJ-3) is a fine variety which was cultivated by hybridization of the Carnation and the Japanese dianthus. The variety has some characters of dwarf, double petals, no seed and cannot carry out sex-reproduction. Accordingly, the speed propagation experiment was conducted to study by tissue culture technology. The tissue culture of stem point section from short Carnation was studied. The results showed: (1) The suitable medium for induction culture and multiplication of the short Carnation was MS+6-BA 0.2mg/L+KT 0.1mg/L+NAA 0.05mg/L+CCC 5ml/L; (2) The suitable rooting medium was improved MS+ NAA 0.5 mg/L +IBA 0.5 mg/L, with rooting rate 86.6%. (3) Under the same level condition, the effect to overcome the short Carnation ventilation was obvious when uses the seal membrane. (4) The root-developed plantlets transplanted in the substrate mixed with perlite sand and peat (volume ratio of 1:1:1), the survival rate reaches above 93%. The survival rate of transplant was the highest by rooting outside the bottle and abbreviated the propagation periods of test tube seedling.

Key words: The Short Carnation, Tissue culture, Versification, Rapid micro propagation

0 引言

矮生香石竹 (*Dianthus Caryophyllus* Var.L.) 为石竹科石竹属的多年生草本植物。矮生香石竹 (代号为SJ-3) 是本所采用切花香石竹和日本石竹杂交而成的优良新品种, 该品种矮生、重瓣, 高25~35cm, 花大色艳, 花期长, 适应性广, 抗逆性能强, 尤其耐热、抗病, 是

一个具有发展前景的新品种, 很适合作盆栽和花坛植物, 本所正在进行相关的研究并准备推广应用, 因其属杂交重瓣品种, 不能进行有性繁殖, 因此须进行无性繁殖。用普通的扦插、分株繁殖难以达到大量快速繁殖的目的, 并且经过多代的扦插、分株繁殖, 植株体内会积累大量的病毒原, 影响植株的健壮生长。此试验以矮生

基金项目:江西省农科院院长基金课题(2004—47)。

第一作者简介:黄冬华, 1964年出生, 籍贯江西, 1986年毕业于江西农业大学, 大学本科, 学士学位, 研究员, 从事花卉育种和组织培养技术研究。通信地址: 330200 江西省南昌县莲塘镇莲塘北大道1738号, 江西省农业科学院蔬菜花卉研究所, Tel: 0791-7090349, E-mail: huangjincen@126.com。

收稿日期:2007-06-06, 修回日期: 2007-06-26。

香石竹茎尖段为培养材料,对多丛芽的分化和增殖培养、继代壮苗培养和生根的培养基配方进行了筛选,对影响外植体分化、增殖、炼苗、移栽等外部因素进行了系统研究。现已成功地将矮生香石竹的试管苗移栽到大棚。利用组织培养技术繁殖,既快速,又达到了防止病毒继续蔓延的目的。目前有关香石竹组培在资料中已有报道^[1-3],但矮生香石竹的组织培养和快速繁殖未见报导,因此探讨研究矮生香石竹组织培养快速繁殖具有十分重要的意义。

1 材料与方法

1.1 试验时间、地点

试验时间是在 2005—2006 年,地点:在本院的重点实验室进行。

1.2 试验材料

材料为江西省农科院蔬菜花卉研究所新杂交培育成的矮生香石竹。选取生长健壮的植株材料,取其顶芽,小心地剥去大叶,此时需注意不能撕裂了茎尖段,否则易造成培养体的破损和污染。在清水中冲洗干净,纱布吸干水分,先用 75% 的乙醇消毒 30s,然后置超净工作台上,放入已消毒的瓶中用 0.1% 升汞溶液消毒 10~12min,再用无菌水冲洗 5~6 次后备用。

1.3 培养方法和培养条件

在超净工作台上,用解剖刀轻轻地去除外层的嫩叶,切取 0.3mm~0.5mm 的茎尖,接种在以 MS 为基本培养基添加不同的激素的分化培养基上^[4-7],设 5 个处理:

- (1) MS+ BA2.0 mg/L + NAA0.3 mg/L + 30g/L 糖
- (2) MS+ BA1.0 mg/L + NAA0.2 mg/L + 30g/L 糖
- (3) MS+ BA0.5 mg/L + NAA0.1 mg/L + 30g/L 糖
- (4) MS+ BA0.2 mg/L + KT0.1 mg/L + NAA0.05 mg/L + 30g/L 糖
- (5) MS+ BA0.2 mg/L + KT0.1 mg/L + NAA0.05 mg/L + CCC5 ml/L + 30g/L 糖

每个处理 20 瓶,每瓶接 2 个茎尖,各选其中的一半用含透气孔的封口膜进行包扎,另 5 瓶用普通薄膜纸包扎。一个月观察记载各处理的培养分化情况。

待有一定数量的分化小苗后,选粗壮小苗接入继

代培养基中进行增殖,此时每个瓶中可以接种 1~2 个小分化苗,接种时小苗截去顶尖后横放在事先准备好的培养基上,继代增殖。

继代培养 20~25d 后,选粗壮小苗接入生根培养基中,其余仍进行增殖培养。生根培养基以 1/2MS 为基本培养基,设置了 4 个配方:

- (6) 1/2MS+IBA1.0 mg/L + 15g/L 糖
- (7) 1/2MS+NAA1.0 mg/L + 15g/L 糖
- (8) 1/2MS+IBA0.5 mg/L + NAA0.5 mg/L + 15g/L 糖
- (9) 1/2MS+IBA0.3 mg/L + NAA0.2 mg/L + 15g/L 糖

此试验所用基本培养基为 MS 或 1/2MS 培养基,琼脂 8.0 g/L,蔗糖 15g/L~30g/L, pH 值 6.0±0.1,激素类物质有 6-BA,KT,NAA,IBA,IAA。培养条件为:培养室温度 (25±2)℃,光照强度 1000lx~2000lx,每天光照 12h。

1.4 练苗、瓶外生根试验和移栽

将生长健壮的分生苗和长出 5~8 条新根的试管苗,进行七天闭瓶炼苗和 2~3d 开瓶炼苗,然后移入珍珠岩:河沙:泥炭=1:1:1 的基质穴盘中,盖上薄膜保湿,同时注意遮荫,定期喷洒防病药物和 0.1% KH₂PO₄,1 个月后检查成活并移栽上盆。为了缩短分生苗的繁殖周期,同时做了将分生苗直接移入上述基质中进行瓶外生根试验^[8]。

2 结果与分析

2.1 丛生芽的诱导与增殖

香石竹组培在资料中已有报道,香石竹在试管培养过程中对激素的适应性较广,一般在 6-BA 0.5~4.0 mg/L,NAA 及 IBA0.05~1.0 mg/L 的条件下可生长。参考其它文献,选用其中的某些配方培养,但经过培养后却出现严重的玻璃苗现象,有的高达 70%,由此可见在矮生香石竹的组织培养中套用香石竹的组织培养方法和配方是不可行的。因此进行了培养基配方的调整,在分化培养时,将细胞分裂素和生长素的种类和浓度从高到低进行筛选,以 MS 为基本培养基共设计了 5 组,培养一个星期后观察发现 5 种培养基上开始分化出丛生芽,3~4 周后形成丛生不定芽,统计结果(见表 1)。

表 1 不同配方对矮生香石竹丛生芽分化的诱导

培养基	每个茎段分化芽数	生长状态	薄膜封口玻璃化率	透气膜封口玻璃化率
①	9	丛生苗生长快、细长	玻璃化严重,达 70%	玻璃苗多,占 50%
②	7	丛生苗生长快、细弱	玻璃苗多,占 60%	玻璃苗多,占 50%
③	5	丛生苗生长快、细弱	玻璃苗占 50%	玻璃苗占 30%
④	3	丛生苗生长中速、中等粗度	玻璃苗占 30%	玻璃苗占 10%
⑤	3	丛生苗生长稍慢、粗壮	玻璃苗占 30%	玻璃苗占 10%

从表 1 中可以看出,在一定的范围内,较高浓度的 6-BA 可以增加分化芽的数量,但因为分化数量较多,分生苗生长细弱,并且玻璃化现象非常严重,随着细胞分裂素的升高,玻璃化率越高;此外在试验中还发现分化芽多时生长一定时期后,小分化苗中下部出现叶子黄化的情况,可能和分化数量太多,生长密集所致;因为石竹本身是一种芽分生能力强的植物,因此诱导芽分化的细胞分裂素并不是越高越好,高浓度的 6-BA 并不利于分化苗的粗壮生长。



在试验当中,采用透气性的封口膜包扎瓶口,可明显减少玻璃化发生的比率。在试验中(见图 1、2 对比)我们看到,用纯薄膜包扎瓶口的瓶苗内部湿度很大,玻璃化发生的比率非常高,达到 65%,石竹是组织培养中属容易发生玻璃化苗的植物,虽然加大了糖的浓度和增强了光照,但也无法减少玻璃苗的发生,因此采用透气好的封口膜包瓶口玻璃化苗率只有 15%,所以采用透气膜封口和采用合适的培养基是减少玻璃苗的主要措施。



根据以上的三项指标综合评判,分化培养以 MS + 6BA0.2 mg/L + KT0.1 mg/L + NAA0.05 mg/L + CCC5ml/L 为最佳,单芽增殖率为 1 : 3,经过 4~5 次继代培养无玻璃苗现象,所以选择较低浓度的细胞分裂素即可增加芽的分化,又可减少玻璃化的发生,并且分生苗生长粗壮,而粗壮的苗是下一步进行增殖继代培养的基础。

2.2 壮苗培养

将长大至 1.5~2.0cm 长的多丛芽枝段切下,转接在④号和⑤号培养基上进行壮苗和增殖培养,从实验结果来看⑤号培养基更适合壮苗培养,30d 以后不仅增殖倍数达到了 3.5,芽苗生长平均高度在 2cm 以上,且苗茎粗壮,这种苗很适宜生根培养。

2.3 生根培养

将高度在 1.5~2cm 的无根芽苗分别接种到⑥⑦⑧⑨(见图 3、4)号培养基上,15d 后开始有不定根产生

(见表 2),4 种生根配方的生根效果以⑧号生根培养基效果较好,含 IBA 的培养基诱导出的根短且粗壮,含 NAA 的培养基诱导出的根长且细弱,说明 IBA 诱导生根的效果要好于 NAA,而二种生根剂同时使用的效果更好,分化出的根长度和粗度中等,数量也较多;另外在实验中观察到不定芽直接在原增殖培养基上也会产生少量根的现象,尤其是分化培养时间超过 30d 以上时更容易产生,数量也不比转至生根培养基上的少,但此时的苗过于细长,不利移栽,所以从生苗要及时转移到生根培养基上,或及时转移至增殖培养基上,以免徒长。

2.4 瓶外生根试验

为了缩短试管苗的繁殖周期,降低成本,进行了瓶外生根试验,即省略试管内生根这一环节,将增殖后的健壮小苗直接移栽到上述基质中,盖上薄膜,空气湿度控制在 80%,二次瓶外生根试验的生根成活率都为

表 2 不同培养基对矮生香石竹试管生根的影响

培养基	实验株数	生根时间(d)	生根株数	生根情况	生根率(%)
⑥	30	15~18	25	根白色 6~8 条,粗短	83.3
⑦	30	25	20	根白色 3~5 条,细长	66.6
⑧	30	15~18	26	根白色 6~7 条,中等粗长,白色	86.6
⑨	30	18~21	17	根白色 1~2 条,细 短	56.6



图3 配方⑧的生根状况



图4 配方⑨的生根情况

80%以上,与瓶内生根后的移栽成活率相差不大,并且降低了成本。

2.5 炼苗与移栽

将健壮生根苗自瓶中小心取出,用温水浸泡以去除根部剩余培养基,在组培苗移栽中还发现根的长度大于2cm时,在清除培养基时容易把根折断,因此生根培养时不能时间太长,当根长到1~1.5cm时就应该及时移栽,以提高移栽成活。移栽基质为珍珠岩:河沙:泥炭=1:1:1,加盖薄膜保湿,为了培育壮苗,移栽小苗3d后逐渐开口通气,2周后长势稳定,可揭去薄膜,试管苗成活率达93%以上,20~30d后上盆或定植。

3 小结

3.1 矮生香石竹组织培养快速繁殖以顶端嫩茎为外植体,接种在MS+BA0.2 mg/L+KT0.1 mg/L+NAA0.05 mg/L+CCC5ml/L+30g/L糖的固体培养基中分化的丛生芽生长粗壮,且玻璃化发生率低。

3.2 矮生香石竹在继代培养中也要加入适量的矮壮素,这样长出的分生苗生长粗壮,可明显提高丛生苗的质量,以利生根培养。较适宜的生根培养基为1/2 MS+IBA0.5 mg/L+NAA0.5 mg/L+15g/L糖,并且长根后至1~1.5cm长时就要及时移栽,避免根太长移栽时折断。

3.3 通过多年的育种研究我们培育出了矮生香石竹新品种SJ-3,填补了中国在这个领域的空白,现正围绕这个新型品种在做一些试验,本组培快繁研究就是其中的试验之一,目的是为了下一步的推广打下基础,为矮生香石竹的栽培提供科学的依据。

参考文献

- [1] 哈梅娟,张生清.香石竹无性繁殖技术研究[J].中国农学通报,2002,18(2):57-60.
- [2] 杨艳洲.香石竹离体组织培养特性的研究[J].种子(Seed) 2005,24(8)23-25.
- [3] 黄宇翔,李章汀,张晓耕,等.香石竹茎尖试管苗继代培养玻璃化现象的研究[J].中国农学通报,2005,(2):81-83.
- [4] 蒋泽平,梁珍海,刘根林,等.山桐子茎段离体培养技术研究[J].中国农学通报,2006,22(12):393-397.
- [5] 李胜,李唯,杨德龙,等.植物试管苗玻璃化现象研究进展[J].甘肃农业大学学报,2003,38(1):1-16.
- [6] 尹佳蕾,赵惠恩.黄花小山菊的组织培养和快速繁殖[J].植物生理学通讯,2006,42(5):907-910.
- [7] 张先,石大兴,王米力,等.野扇花的组织培养和快速繁殖[J].植物生理学通讯,2006,42(5):911-914.
- [8] 高丽霞,孔旭晖.锥花福禄考的组培培养及快速繁殖[J].中国农学通报,2005,21(12):314-315.

(责任编辑:张铁锋)