维普资讯 http://www.cqvip.com

香石竹组织培养技术初探

陈亮[1] 刘磊[2]

(1、大连开发区振兴园林,辽宁 大连 116000 2、哈尔滨市园林科学研究所,黑龙江 哈尔滨 150000)

摘 要:通过组织培养技术繁殖香石竹幼苗,不但可以保持其原有优良性状不退化,而且生长环境可控、管理方便、节约人力、周年生产、繁殖迅速、经济效益高,我们通过一系列试验试图发现一种合适香石竹组织培养的培养基。

关键词:香石竹;组织培养;侧芽

1 材料与方法

1.1 材料

取香石竹的茎段,用无锈剪刀先将叶片剪掉,然后将茎段剪成2cm左右的小段,每一段保留一个侧芽,放入一个小烧杯中,用自来水冲洗干净,必要时加一些洗涤剂,再用蒸馏水冲洗,洗后待用。

1.2 培养基制备

1.2.1 贮备液的制备与保存。在配制培养基之前,为简便起见,将配方中的药品一次称量供一段时间使用,即配一些浓溶液,用时稀释,这种浓溶液称为贮备液或母液。按药品种类和性质分别配制,单独保存或混合保存。在此实验中,大量元素用10倍,微量元素用200倍母液,铁盐用200倍母液,有机元素用100倍母液,肌醇用100倍母液。

按照比例和次序称量药品,溶解制成母液,放入冰箱待用。注意制铁盐溶液时,要分别溶解硫酸亚铁和Na2.EDTA.H20在各自的450毫升蒸馏水中,适当加热并不断搅拌,然后两种溶液混合在一起,调PH值到5.5,最后再加蒸馏水定容到1000毫升。还应注意,各种药品一定要按表中顺序称量、溶解、混合、定容,以免发生沉淀,影响实验的结果。在配置各种母液后,还要配置各种植物激素母液,方法与上述方法相似,实验用到的植物激素主要是6BA和IBA。6BA用1mol/l HCl助液,IBA用70%酒精助溶,溶解后,再用蒸馏水定容,制成母液,放入冰箱待用。

1.2.2 培养基配制。先用洁净的不锈钢锅里放入约880ml的蒸馏水,加入9g琼脂,在电炉子上加热,在加热的同时不断用玻璃棒进行搅拌,防止再锅底烧焦或沸腾渗出。有时也可以对一半的锅底进行加热,以防起暴沸,经过几次实践,我认为先把水加热到元素、铁盐、有机、肌醇的顺序分别取各种母液进行混合(其中大量元素10倍取100毫升、微量元素200倍取5毫升、铁盐200倍母液取5毫升、有机100倍母液取10毫升、肌醇用100倍母液10毫升),五种母液混合后,用天称30克蔗糖放入混合物中。当琼脂完全融化之后,倒入第二步配制的元素、蔗糖混合物中,充分搅拌,使之均匀,必要时重复倒就几次,然后按不同的激素配方加入植物激素,并用氢氧化纳溶液来调PH值到5.8,趁热将液态培养基分别装入小三角瓶。分装完成后,用锡纸封好三角瓶口。

1.2.3 接种。接种前,接种室用紫外灭菌灯消毒灭菌30min以上。超净台预热15min后,进行无菌操作。把消毒的茎段带入操作室,用0.1%升汞溶液消毒9分钟后,倒掉消毒液,用无菌水清洗4次,沥去水分,放在灭过菌的滤纸上吸去多余水分。同时对操作平台及所用工具进行消毒:点燃酒精灯,用70%的酒精棉擦净操作工具,擦后再酒精灯上灼烧一下去掉残存酒精。用镊子夹起茎段,用剪刀剪去茎段顶端和底端可能已被升汞杀死的部分,然后把茎段剪成1cm的小段,用镊子夹起接到各种培养基上。具体操作时:左手拿小三角瓶,将小三角瓶水平拿着,靠近酒精焰,将瓶口外部在灯焰上燎数秒钟。将小三角瓶封口的锡纸揭开并注意不要用手触摸锡纸内部,再将瓶口在灯焰上旋转,使瓶内不至于染菌。然后用镊子夹一段茎段放入瓶内,插在培养基上,封好锡纸。每进行一次操作都要把工具再次进行消毒灭菌,如此反复接种。注意操作时不要将操作程序离开操作平台内。

1.2.4 培养条件。接种完外植体后把小三角瓶放在培养室内,光照强度2000~3000lx,温度26摄氏度。每隔3日观察一次,并做记录。

2 结果与分析

接种后的第20天左右大部分外植体开始萌芽。4周后芽可生长到1cm左右。其中尤以第6号(MS+6BA 1.5mg/l+IBA 0.2mg/l)和第7号(MS+6BA 2.0mg/l+IBA 0.1mg/l)培养基内不定芽长势旺盛。第6号培养基内的芽分化数量较多,却不如第7号培养基内不定芽健壮,所以第6号(MS+6BA 1.5mg/l+IBA 0.2mg/l)选做为初代增殖培养基;第7号(MS+6BA 2.0mg/l+IBA 0.1mg/l)选做为继代培养基。第1、2、3、4、5、8号培养基内的芽均有不同程度的增殖。由此可见,当细胞分裂素/生长素的比值高时,细胞分裂素是促进细胞分裂与扩大,使茎增粗而抑制茎伸长的主要原因。第8号(MS+6BA 2.0mg/l+IBA 0.2mg/l)培养基内芽的数量尤其多,出现畸形苗,节间缩短,苗丛密集,过度微型化。经实验表明第1号(MS+6BA 0.5mg/l+IBA 0.1MG/L)培养基不定芽分化较少但生长健壮所以用做壮苗培养基。

2.1 污染率

经过观察培养基污染率比较低,到第12天只有1瓶污染,污染率达到2%。由此可见,接种的外污染率比较低,这说明对于外植体的消毒进行的比较彻底和接种时操作的比较细心。

2.2 愈伤组织形成(参见表1)

第7天有1瓶2号、2瓶6号、5瓶7号、1瓶8号生出愈伤组织;第8天有2瓶6号、10瓶7号生出愈伤组织;第9天有1瓶3号、2瓶7号生出愈伤组织;第10天有3瓶6号生出愈伤组织;第12天有1瓶7号生出愈伤组织。

由表1可看出:5号、7号的发芽率较高。

2.3 侧芽发生

第7天有2瓶7号侧芽发生;第8天有1瓶6号侧芽发生;第9天有1瓶7号侧芽发生;第10天有1瓶7号侧芽发生;第14天有4瓶7号、1瓶2号侧芽发生;第17天有2瓶7号、1瓶6号、1瓶3号侧芽发生。侧芽发生率见表2。

由表2可知:7号培养基比6号培养基更适合用于侧芽的分化。初代培养的最适培养基为:MS+6BA 1.5mg/l+IBA 0.2mg/l;增殖效果最好的继代增殖培养基为:MS+6BA 2.0mg/l+IBA 0.1mg/l。

3 生根与移栽

表1

号	1	2	3	4	5	6	7	8
发芽率	0	33.3%	33.3%	0	78.3%	45.4%	87.5%	0

表2

号	6	7
瓶数	2瓶	10瓶
发芽率	25%	40.9%

表3 不同的生根培养基诱导不定根的效果

序号/激素	IBAmg/L	瓶数	生根率(%)
1	0.7	30	35
2	0.8	30	60
3	1.0	30	100
4	1.5	30	75

在继代增殖的同时,取生长健壮的无根苗就可进行生根培养。分别转接到4种不同IBA含量的生根培养基上。3周后,香石竹小苗就能生出数条白根。

经过观察发现1/2MS+IBA 1.0 mg/l内生根状况最好,数量较多,根系发达。1/2MS+IBA 0.7 mg/l根系数量少,生长缓慢。

生根培养20天以后,小苗出瓶移栽。幼苗出瓶后,先洗去沾附的培养基,再栽植到经过0.3%的高锰酸钾溶液消毒的基质中。基质可选用蛭石+珍珠岩(1:1);锯木屑+田园土(1:1)。以蛭石+珍珠岩(1:1)为基质时香石竹成活率最高,达到80%;以锯木屑+田园土(1:1)为基质时香石竹成活率只有45%;以粗沙+田园土(1:3)为基质时香石竹成活率也只有50%。

4 结论

4.1 初代培养。各组培养基内大部分外植体开始萌芽MS+6BA 1.5mg/l+IBA 0.2mg/l内的激素配比最有利于侧芽的萌发。产生不定芽的培养基为:MS+6BA 2.0mg/l+IBA 0.1mg/l培养基上增殖效果最好。

4.2 继代培养。以MS+6BA 2.0mg/l+IBA 0.1mg/l培养及为增殖培养基,继代培养增殖效果最好。继代周期为3~5周,增殖率87%。

4.3 生根与移栽。试管苗长到2cm时,将粗壮的无根苗转接到1/2MS+IBA 1.0 mg/l生根效果最好,生根率达100%。试管苗移栽时以蛭石+珍珠岩(1:1)混合的基质成活率最高,达到80%。

参考文献

[1]施振周,刘祖祺.园林花木栽培新技术[M].北京:中国农业出版社,199.140.

[2]李玉梅,马强.组织培养中培养条件对培影响[J].北方园艺.2001.29(4):363-369.

[3]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,1991,8:148.

[4]陈维伦.植物快速繁殖.见孙敬三,桂耀林主编:植物细胞工程实验技术[M].北京:科学出版社,1995.200-225.

责任编辑:孙兆杰