

文章编号: 1000-3142(2001)02-0161-03

重瓣满天星植株再生及其复壮和移栽

S681.903.6

陈光仪, 倪静静, 黄学林

(中山大学生命科学学院, 广东广州 510275)

摘要: 重瓣满天星 (*Gypsophila paniculata*) 花蕾在附加有不同激素的 MS 培养基上 (0~3 mg/L 6-BA, 0~1 mg/L NAA, 0~1 mg/L 2, 4-D) 均可长出再生植株, 其中以 MS+6-BA 1 mg/L 效果最佳。试管苗复壮以 OM + 6-BA 1 mg/L + 2, 4-D 1 mg/L 效果最好。经复壮的试管苗较粗壮, 但直接移植仍不能成活, 必须在加盖旋松的培养瓶中进行溶液培养。2 周后, 小苗根系进一步发育扩展, 然后逐步揭盖, 锻炼幼苗抗干能力, 移栽成活率可达 80%。

关键词: 满天星; 植株再生; 复壮; 移栽; 成活率; 培养基

中图分类号: Q949.745.703.1 **文献标识码:** A

Plant regeneration, rejuvenation and transplantation of *Gypsophila paniculata*

CHEN Guang-yi, NI Jing-jing, HUANG Xue-lin

(Life Science College, Zhongshan University, Guangzhou 510275, China)

Abstract: *Gypsophila* could be regenerated from floret buds cultured on MS basis medium with different phytohormone compositions (0~3 mg/L 6-BA, 0~1 mg/L NAA, 0~1 mg/L 2, 4-D). The effect of 6-BA 1 mg/L on the regeneration was the best. OM basal medium with BA 1 mg/L and 2, 4-D 1 mg/L was optimum medium for rejuvenation of seedlings, but the seedlings could not survive without hardening. The hardening process included that the seedlings were further cultured in liquid nutrient Hoagland and that cultural containers were covered loosely. Survival rate is about 80%.

Key words: *Gypsophila*; plant regeneration; rejuvenation; transplantation

满天星花卉作为配搭以玫瑰、康乃馨等为主的背景花卉, 市场潜力大, 通过快速繁殖可以生产大量试管苗, 满足市场需求。国内已有数篇报道^[1~4], 所用外植体是茎尖或带芽的茎节, 对试管苗移栽成活的研究很少。本文用花蕾作外植体, 材料易得且数量多, 并在移栽实验中引进溶液培养而使移栽成活率大为提高。

1 材料和方法

1.1 材料

材料为在广州市花卉市场购买的切花, 经鉴定为重瓣满天星。取其带梗的花蕾作外植体,

收稿日期: 1999-02-02

作者简介: 陈光仪 (1937-), 女, 副教授, 植物生理专业。

1.2 培养基

基本培养基为 MS^[6], 但复壮试验采用 OM。OM 是在 MS 的基础上进行了改良的一种培养基, 增加了 Ca^{2+} 、 K^{+} 、 NO_3^- 的浓度^[4]。按不同处理方案添加不同类型及浓度的激素, 用 0.1 N KOH 和 0.1 N HCl 调节 pH 值为 5.8, 然后在高压灭菌锅中高温灭菌 15 min。

1.3 培养方法

取带 1.5 cm 长花梗的未开放的花蕾作外植体, 用自来水将材料漂洗净后, 放入 0.1% 升汞溶液消毒 12 min, 用无菌水冲洗 4~5 次。在超净工作台上将外植体接种于培养基上。待外植体脱分化长出愈伤组织及不定芽苗后, 将不定芽移到生根培养基上, 以培育出试管苗。

培养条件: 温度 $25 \pm 1^\circ\text{C}$, 每日光照 11 h, 接种后最初 3 d 光照度 500 lx, 后为 1 500 lx。

2 结果与分析

表1 不同激素组合对愈伤组织和不定芽分化的影响
Table 1 Effect of phytohormone composition on the callus induction and bud differentiation

激素组合 (mg/L) Phytohormone Composition	愈伤组织 发生天数 (d) Day for callus induction	愈伤组织发生 诱导率 (%) Rate of callus induction	不定芽发生 天数 (d) Day for bud induction	不定芽数 (个) ^[1] Number of bud
6-BA 0.5	7	98.4	14	9.3
6-BA 1.0	4	100	7	12.9
6-BA 1.0+NAA 0.5	8	99.5	13	5.1
6-BA 2.0+NAA 0.5	8	97.4	13	3.3
6-BA 3.0+NAA 0.5	8	97.4	13	2.4

^[1]不定芽数是指接种后 30 d, 每个花蕾外植体所分化不定芽的平均数。
每个激素组合接种外植体 40 个。

2.1 愈伤组织的诱导

接种 2 d 后, 外植体颜色转绿, 4 d 后花梗开始膨大, 弯曲, 切口处有透明疏松的愈伤组织, 花蕾逐渐开放, 膨大, 在花蕾基部, 花托背部长出愈伤组织, 出愈率最高可达 100% (表 1)。表 1 表明: 外

植体被接种在各种培养基上, 7~8 d 后即能发生愈伤组织。当单独采用 6-BA 1.0 mg/L 时, 愈伤组织提前 3 d 发生。

2.2 不定芽的诱导与增殖

满天星再生出芽较快, 在愈伤组织发生 7 d 后, 各个培养基上均有不定芽长出 (图版 1; 1), 但数量和粗壮程度都不相同 (表 1)。采用 6-BA 1.0 mg/L 时, 不定芽发生提前 7 d, 30 d 后可分化出 13 个不定芽, 芽高 2.5~5 cm。当 6-BA 浓度提高至 2.0~3.0 mg/L 时, 芽分化数减少。显然, 此时芽分化受到抑制。NAA 0.5 mg/L 不利于芽的分化。6-BA 0.5 mg/L 因浓度过低, 也不利于芽的形成。结果表明, 选择 MS+6-BA 1.0 mg/L 作为增殖培养基。选择带芽的愈伤组织或小苗切段 (3~4 cm) 接种在增殖培养基上, 15 d 后即可繁殖出数量较多的新芽 (15~20 个)。

2.3 影响试管苗移栽成活率的因素

移栽成活率是试管苗能否应用于生产的关键。其影响因素主要有 3 点: (1) 试管苗复壮; (2) 生根; (3) 炼苗。

2.3.1 试管苗复壮 采用 OM 培养基进行复壮实验, 效果较好, 苗变得矮壮, 茎粗, 叶浓绿 (图版 1; 2)。OM 是在 MS 基础上进行改良的一种培养基, 补加了 500 mg/L $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, KH_2PO_4 的含量增加至 310 mg/L, 不加肌醇。Er 培养基^[7]补加 600 mg/L Ca^{2+} 也能达到 OM 培养基效果。采用 OM+6-BA 1 mg/L+2,4-D 1 mg/L, 使苗变得更粗壮, 利于其移栽成活。

2.3.2 生根 实验表明: OM+NAA 0.2 mg/L+IBA 0.1 mg/L 对生根诱导效果明显 (表 2), 诱导率高, 根粗苗壮。MS 培养基的生根诱导效果不如 OM, 根较细。苗在不同激素配比的培养

基上均能生根(图版 I: 3)。高浓度生长素对苗的生长不利,苗纤细,移栽后不易成活。为避免在将试管苗从生根培养基上取出时对根系造成损伤,在进行生根培养接种时,将单株无根苗横放或斜靠在培养基上,注意使切口(形态学下端)朝上,不沾到培养基。1周后,生根率为98%,试管苗基部无愈伤组织,所生根为放射状,粗短,整齐,色洁白,有细小侧根。

2.3.3 炼苗 炼苗过程分2个步骤:

(1) 溶液培养。常规溶液培养是在大气中进行,本文的溶液培养需在培养瓶中进行。将试管苗放在小培养杯中,使根系浸没在1/2 Hoagland 溶液中^[5],每个培养瓶中放3个小培养杯,加盖旋松以利防风保湿。溶液培养过程中采取24 h 光照。2周后,幼苗根系发展较充分,地上部分较矮壮(图版 I: 4),可进入下一步试验。

(2) 逐步揭盖处理及移栽。去盖后,换上较细密的尼龙网。2周后,可将苗转入泥碳土与珍珠岩(1:1)基质中,置于自然条件下生长(图版 I: 5)。成活率达80%。

3 讨 论

MS 是合适的愈伤组织诱导培养基,但不适用于增殖培养及生根培养。本文进行的复壮试验,提高了培养基中Ca, K 的含量,利于小苗机械组织的发育。2, 4-D 对苗的复壮也有效。MS 中铵态氮含量较高,不利于苗长得粗壮^[6], OM 培养基中较高浓度的Ca²⁺和NH₄⁺配合,有助于壮苗。

溶液培养是炼苗的关键,经溶液培养后,苗的根系充分发育,抗逆能力增强,利于移栽成活。满天星试管苗对光照,温度,湿度,激素配比及培养基成分都表现出很高的敏感度,因此,在试验中要严格控制。

阎绍辉,谈凤笔参加了部分实验工作。

参考文献:

- [1] 杜德华, 韩月琴. 满天星的组织培养 [J]. 植物生理学通讯, 1983, (6): 39~40
- [2] 杨云龙, 齐力旺, 韩素英, 吉晶. 重瓣满天星的组织培养和快速繁殖 [J]. 植物生理学通讯, 1996, 32 (5): 360~361
- [3] 韩素英, 齐力旺, 卫永太等. 三倍体满天星试管繁殖技术研究 [J]. 园艺学报1996, 23 (2): 175~178
- [4] 罗建勋. 满天星的微型繁殖 [J]. 植物生理学通讯, 1996, 32 (6): 428~429
- [5] 盖博格 O L, 韦特 L R. 钱迎倩, 林忠平, 吴素萱译. 植物组织培养方法 [M]. 北京: 科学出版社, 1980. 127~129
- [6] Murashige, T and F. Skoog. A revised medium for rapid growth and assays with tobacco tissue cultures [J]. *Physiol Plant*, 1962, 15: 473~497
- [7] Eriksson, T. Studies on the growth requirements and growth measurements of cell cultures of *Haplopappus gracilis* [J]. *Physiol Plant*, 1965, 18: 976~993
- [8] Gamborg, O. Ln, R. A. Müller, K. Ojuma. Nutrient requirements of suspension cultures of soybean root cells [J]. *Exp cell Res*, 1968, 50: 151~158

表2 不同激素组合对试管苗生根的影响

Table 2 Effect of different phytohormone composition on frequency of root induction and seedling growth

激素组合 (mg/L) Phytohormone Composition	根诱导率 (%) Frequency of root induction ¹⁾	苗生长情况 Seedling growth
MS+NAA 0.3	50	较壮
1/2 MS+NAA 0.3	98	较壮
MS+IBA 0.3	43	纤细
MS+IBA 1.0+NAA 1.0 +2, 4-D 1.0	97	纤细
OM+NAA 0.2+IBA 0.1	97	粗壮

¹⁾生根培养20 d后计算根诱导率