



Effects of Different Hormone Concentrations on in Vitro Culture and Rooting of Fuchsia Hybrida

Bai Yanrong¹, Jiang Yalian^{2,*}, Wang Jinying³

¹Academy of Agronomy and Life Sciences, Kunming University, Yunnan Kunming, China

²Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming, China

³School of Architecture and Engineering, Kunming University, Yunnan Kunming, China

Email address:

965318577@qq.com (Bai Yanrong), 1048124606@qq.com (Jiang Yalian)

*Corresponding author

To cite this article:

Bai Yanrong, Jiang Yalian, Wang Jinying. Effects of Different Hormone Concentrations on in Vitro Culture and Rooting of Fuchsia Hybrida. *Asia-Pacific Journal of Biology*. Vol. 2, No. 3, 2020, pp. 22-25.

Received: December 23, 2019 Accepted: February 19, 2020; Published: March 2, 2020

Abstract: The effects of different plant growth regulators on the induction and differentiation of multiple shoot, multiplication of multiple shoot and rooting of multiple shoot in subculture were studied, adding different plant growth regulators 6-BA and NAA, different concentration and different proportion combination were studied. Results: the most suitable medium for induction was MS + 6-BA 0.1 mg / l + Sugar 30 G / L + Agar 6.2 g / L, the induction rate was 56.17% ; The most suitable medium for the multiplication of tufted buds of the plant was MS + 6-BA 1.0 mg / l + Naa 0.3 mg / l + Sugar 30 G / L + Agar 6.2 g / l, the Multiplication Coefficient was 4.07; The most suitable medium for rooting of tufted buds was 1 / 2MS + Naa 0.2 mg / l + sugar 30g / l + Agar 6.2 g / L, and the rooting rate was 100%.

Keywords: Inverted Golden Bell, Tissue Culture, Cluster Buds, Explant Disinfection

不同激素浓度对倒挂金钟离体培养与生根的影响

白艳荣¹, 蒋亚莲^{2,*}, 王进英³

¹昆明学院农学与生命科学院, 昆明, 中国

²云南省农业科学院花卉研究所, 昆明, 中国

³昆明学院建筑工程学院, 昆明, 中国

邮箱:

965318577@qq.com (白艳荣), 1048124606@qq.com (蒋亚莲)

摘要: 探讨不同植物生长调节剂对倒挂金钟茎尖诱导分化丛生芽、继代培养丛生芽增殖、丛生芽生根的影响, 以倒挂金钟茎尖为外植体, MS为基本培养基, 加入不同的植物生长调节剂6-BA和NAA, 采用不同浓度不同配比组合进行实验研究。其结果: 最适合倒挂金钟茎尖诱导的培养基为: MS+6-BA 0.1mg/L+糖30g/L+琼脂6.2g/L, 诱导率56.17%; 最适合倒挂金钟丛生芽增殖的培养基为: MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.3 mg/L+糖30g/L+琼脂6.2g/L, 增殖系数4.07; 最适合倒挂金钟丛生芽生根的培养基为: 1/2MS+NAA 0.2 mg/L+糖30g/L+琼脂6.2g/L, 生根率100%。

关键词: 倒挂金钟, 组织培养, 丛生芽, 外植体消毒

1. 引言

倒挂金钟 (*Fuchsia hybrida*) 是一种多年生灌木, 又称吊钟海棠、吊钟花和灯笼海棠、柳叶菜科, 倒挂金钟属 [1-3]。茎直立, 高50-200cm, 厚6-20mm, 叶对生, 卵形或狭卵形, 长3-9cm, 宽2.5-5cm。花开时, 绚丽多彩、婀娜多姿如彩色灯笼悬挂, 优雅可爱, 是一种观赏价值极高的花卉, 在花卉市场的需求量越来越大。

当前倒挂金钟扦插繁殖繁殖系数较低、速度慢、苗木质量差, 而且对扦插环境要求很高[4-6], 容易腐烂, 这些问题极大地制约着倒挂金钟的推广应用。

本实验以倒挂金钟的茎尖为外植体, 诱导植株再生。探讨不同植物生长调节剂对倒挂金钟丛生芽诱导、增殖、生根的影响。建立完整的倒挂金钟组培快繁体系, 为倒挂金钟工厂化育苗和推广提供依据。

2. 试验材料与方法

2.1. 实验材料

该试验材料采集于云南省农科院花卉研究所宝峰基地。

2.1.1. 常用的实验仪器和试剂

本实验所用的玻璃仪器有: 培养瓶、烧杯、移液管、量筒、玻璃棒、1000ml容量瓶、棕色广口瓶。常用实验工具有: 手术刀、手术剪、镊子、PH仪、移液枪、勺子、药匙、天平、称量纸。所用试剂为MS基本培养基配制所需的各种药品等。

上述材料都进行高温高压灭菌, 设置温度121℃, 灭菌时间20min, 取出后放入接种室的超净工作台上, 备用。

2.1.2. 培养基的配制

- 1) 母液配制: 母液包括大量元素、微量元素、有机物、铁盐;
- 2) 培养基配制: 首先称取白糖, 白糖量为30g/L, 再称取琼脂, 琼脂量为6.2g/L, 接着加蒸馏水, 按量加入母液、激素后定容, 搅拌均匀;
- 3) 用1.0mol/L的盐酸或氢氧化钠调PH值, 将PH调到5.8-6.0;
- 4) 将完全溶解的培养基分装在培养瓶中, 并盖上瓶盖;
- 5) 将培养基放入高压灭菌锅中, 温度设置121℃, 灭菌20min后取出, 然后放入接种室, 冷却凝固后, 就可接种使用。

2.1.3. 培养条件

以MS为基本培养基, 培养基中均加琼脂粉 6.2g /L, 白糖 30 g /L, PH 值 5.8, 培养温度(25±2)℃, 光照强度为3000 Lx, 每天光照 8-12 h[7-10]。

2.2. 实验方法

2.2.1. 外植体的准备及无菌体系的建立

取1.5-2.0cm健壮、无病虫害的植株为外植体材料。用自来水冲洗干净, 再适当加少量洗衣粉摇洗数次, 清水冲

洗2次, 无菌水清洗一次, 75%的酒精消毒30 s, 无菌水冲洗3次, 0.1%升汞消毒15min。灭菌水冲洗5次[21], 然后分别接入培养基。

2.2.2. 不同浓度激素对倒挂金钟茎尖诱导的处理

把已消毒好的茎尖接种到附加不同浓度的6 - BA的MS培养基上。6 - BA浓度设置为0mg/L、0.1mg/L、0.3mg/L、0.6mg/L、1.0mg/L 5个浓度 (见表2.1), 每瓶接种1个芽, 每个处理接种5瓶, 重复3次, 生长14d后统计不同浓度激素的培养基中分化出丛生芽外植体数、存活外植体数、植株的生长状况, 进行激素浓度的筛选。

表1 诱导培养基的激素种类和浓度。

处理	激素浓度 (mg/L)
	6-BA
处理1 (CK)	0
处理2	0.1
处理3	0.3
处理4	0.6
处理5	1

2.2.3. 不同浓度激素配比对倒挂金钟丛生芽增殖的处理

将培养诱导的芽接种到附加不同浓度的6 - BA与NAA的MS培养基上。6 - BA的浓度设置为0 mg/L、0.2 mg/L、0.5 mg/L、0.8 mg/L、1.0 mg/L、1.5 mg/L 6个浓度, 生长素NAA设置浓度为0 mg/L、0.1 mg/L、0.2 mg/L、0.3 mg/L、0.3 mg/L、0.4 mg/L 6个浓度 (见表2.2)。每瓶接1个芽, 每个处理接6瓶, 重复3次, 生长28d后统计不同浓度激素配比的培养基中丛生芽的生长状况, 进行激素浓度配比的筛选。

表2 增殖培养基的激素种类和浓度。

处理	激素配比 (mg/L)	
	6-BA	NAA
处理1 (CK)	0	0
处理2	0.2	0.1
处理3	0.5	0.2
处理4	0.8	0.3
处理5	1.0	0.3
处理6	1.5	0.3

2.2.4. 不同浓度NAA对丛生苗生根的处理

以 1/2MS培养基作为基本培养基, 分别加入0、0.1、0.2、0.5和1.0mg/L的NAA (见表2.3), 每瓶接3个芽, 每个处理接10瓶, 重复3次, 21d后统计各处理的丛生芽生根数、根长并记录根的长势、苗的长势, 筛选出较为适宜的生根培养基。

表3 生根培养基的激素种类和浓度。

处理	激素浓度 (mg/L)
	NAA
处理1 (CK)	0
处理2	0.1
处理3	0.2
处理4	0.5
处理5	1.0

试验数据采用Microsoft office excel 2007和SPSS 19.0 进行整理和分析。

3. 结果与分析

3.1. 不同浓度激素对倒挂金钟茎尖诱导的影响

以倒挂金钟茎尖为外植体，在接种约14天左右产生丛生芽。附加不同浓度的激素，见表4中数据可知，不同浓

度 6-BA的培养基中，当6-BA浓度为0.1mg/L时，分化出丛生芽的外植体数最多为13株，丛生芽诱导率最高为56.17%，并与其它处理达到显著水平，而随着6-BA浓度的不断增加，丛生芽的诱导率不断降低。由此看出6-BA对倒挂金钟茎尖诱导有促进作用，浓度过高则会抑制茎尖诱导。综上所述，最适宜诱导倒挂金钟丛生芽的6-BA浓度为0.1mg/L。

表4 不同浓度激素对倒挂金钟茎尖诱导的影响。

处理	6-BA浓度（mg/L）	接种数（株）	分化出丛生芽外植体数（株）	存活外植体数（株）	诱导率（%）
1（CK）	0	25	9	22	40.63±0.43b
2	0.1	25	13	23	56.17±0.31a
3	0.3	25	9	23	38.37±0.67c
4	0.6	25	5	16	31.30±1.20d
5	1	25	5	21	23.30±0.46e

注：不同小写字母表示在a=0.05水平上差异显著。

3.2. 不同浓度6-BA和NAA对倒挂金钟丛生芽增殖的影响

将无菌苗接入设计好的6个增殖培养基中，培养28d后，倒挂金钟丛生苗的苗高、丛芽数和增殖系数见表5。

表5 不同浓度6-BA和NAA对倒挂金钟丛生芽增殖的影响。

处理	植物生长调节剂浓度（mg/L）		统计苗数（株）	平均株高（mm）	增殖系数
	6-BA	NAA			
1（CK）	0	0	18	17.13±0.81d	2.42±0.07e
2	0.2	0.1	18	21.90±1.15c	2.62±0.09d
3	0.5	0.2	18	24.83±0.76b	3.16±0.15c
4	0.8	0.3	18	25.00±1.00b	3.44±0.05b
5	1.0	0.3	18	27.33±1.15a	4.07±0.15a
6	1.5	0.4	18	22.88±1.15c	3.51±0.10b

注：不同小写字母表示在a=0.05水平上差异显著。

根据表5分析可知，当6-BA的浓度为1.0mg/L生长素NAA浓度为0.3mg/L时，丛生芽的增殖系数最高为4.07，增殖效果显著,平均株高最高为27.33mm,效果显著；当6-BA低于1.0mg/L，生长素NAA低于0.3mg/L的浓度时，丛生芽的增殖系数和平均株高随之降低；当6-BA高于1.0mg/L和NAA高于0.3mg/L的浓度时，丛生芽的增殖系数和平均株高明显降低。可见，6-BA和生长素NAA对倒挂金钟丛生芽的增殖有促进作用，但到达一定高度后会抑制

它的生长。分析得出，倒挂金钟丛生芽增殖的最适激素组合为：6-BA1.0mg/L+NAA0.3mg/L。

3.3. 不同浓度NAA对丛生苗生根的影响

以1/2MS培养基为基本培养基，分别加入0、0.1、0.2、0.5和1.0mg/LNAA，将增殖产生的丛生芽切成单株后接种于生根培养基上，2ld后观察统计生根情况，结果见表6。

表6 不同浓度NAA对丛生苗生根的影响。

处理	NAA浓度（mg/L）	接种苗数（株）	平均每苗生根数（条）	平均根长（mm）	生根数	生根率
1（CK）	0	30	4.57±0.12c	27.50±0.44c	25	83.3c
2	0.1	30	5.84±0.40b	28.83±0.67bc	28	93.3b
3	0.2	30	6.77±0.13a	32.47±0.91a	30	100a
4	0.5	30	6.06±0.21b	29.40±0.96b	29	96.6b
5	1.0	30	5.68±0.20b	27.67±0.71c	27	86.7c

注：不同小写字母表示在a=0.05水平上差异显著。

由表6可知，在供试的5个不同生长素NAA浓度中，当生长素NAA浓度为0.2mg/L时，丛生芽生根数最多为6.77条，效果显著，根长最长为32.47mm，效果显著,根的长势和苗的长势都较好，生根率100%，效果显著；当生长素

NAA浓度逐渐增大或减小时，丛生芽根的长势和苗的长势和前者比较稍差，生根数和根长也在降低[8-15]。可见，生长素NAA对丛生芽生根有促进作用，但浓度过高会抑制生根，浓度过低对生根的作用很小。综合分析得出，倒挂

金钟丛生芽生根的较好培养基是0.2mg/L NAA的1/2MS培养基。

4. 讨论与结论

在初代培养中,当细胞分裂素6-BA浓度为0.1mol/L时,分化出丛生芽的外植体数最多为13株,丛生芽诱导率最高为56.17%,并与其它处理达到显著水平,而随着细胞分裂素6-BA浓度的不断增加,丛生芽的诱导率不断降低。由此可以看出细胞分裂素6-BA对倒挂金钟茎尖诱导有促进作用,浓度过高则会抑制茎尖诱导。综上所述,最适宜诱导倒挂金钟丛生芽的6-BA浓度为0.1mg/L。

在继代培养中,当细胞分裂素6-BA的浓度为1.0mg/L生长素NAA浓度为0.3mg/L时,丛生芽的增殖系数最高为4.07,并与其它处理达到显著水平,平均株高最高为27.33mm,并与其它处理达到显著水平,随着细胞分裂素6-BA和生长素NAA的浓度降低,丛生芽的增殖系数也在降低,平均株高也在降低。而随着6-BA和NAA的浓度升高,丛生芽的增殖系数在降低,平均株高也在降低。由此看出细胞分裂素6-BA和生长素NAA对倒挂金钟丛生芽的增殖有促进作用,但到达一定高度后会抑制它的生长。综合分析得出,倒挂金钟丛生芽增殖的最适激素组合为:6-BA1.0mg/L+NAA0.3mg/L。

在生根培养中,生长素NAA浓度为0.2mg/L时,丛生芽生根数最多为6.77条,并与其它处理达到显著水平,根长最长为32.47mm,并与其它处理达到显著水平,根的长势和苗的长势都较好;当生长素NAA浓度逐渐增大或减小时,丛生芽根的长势和苗的长势和前者比较稍差,生根数和根长也在降低。由此可以看出生长素NAA对丛生芽生根有促进作用,但浓度过高会抑制生根,浓度过低对生根的作用很小。综合分析得出,倒挂金钟丛生芽生根的较好培养基是0.2mg/L NAA的1/2MS培养基。

参考文献

- [1] 李春艳. 倒挂金钟扦插繁殖及栽培技术[J]. 青海农林科技, 2010(3):73-74.
- [2] 曾洪学, 张小华. 植物细胞全能性理论在中国的研究与实践 [J]. 分子植物育种, 2004, 2(6): 885-889.
- [3] White P R. Potentially Unlimited Growth of Excised Tomato Root Tips in a Liquid Medium [J]. Plant Physiology, 1934, 9 (3): 585-600.
- [4] Nitsch J P, Nitsch C. Haploid plants from pollen grains [J]. Science, 1969,163(3862): 85.
- [5] 徐忠东. 植物组织培养生产药物研究进展 [J]. 生物学杂志, 2001, 18(6):13-14.
- [6] 李胜, 杨宁. 植物组织培养 [M]. 中国林业出版社, 2015.
- [7] 邓小梅, 奚如春, 符树根, 等.植物组织培养过程中污染现象的研究进展[J].江西林业科技, 2004, 6:33—36.
- [8] 杜雪玲, 张振霞, 余如刚, 等.植物组织培养中的污染成因及其预防[J].草业科学, 2005, 22(1):24—27.
- [9] 汪一婷, 王连平, 牟豪杰, 等.工厂化生产组培苗的污染及其控制研究[J].安徽农业科学, 2005, 33(12):2357—2358.
- [10] 罗士韦.植物组织与细胞培养研究工作进展及其应用[J].植物生理学报, 1978, 4(1):91—112.
- [11] 谭文澄, 戴策刚.花叶芋的液体静置培养快速繁殖[J].云南植物研究, 1987, 9(3):348—352.
- [12] 陆文梁, 王雪洁, 宋慧芬.郁金香组织培养及器官分化的研究[J].园艺学报, 1986, 13(1):55—60.
- [13]]Sagawa Y.花卉作物的微繁殖[J].国外作物组织培养, 1992, 30:71—10.
- [14] 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.
- [15] 王泽均. 倒挂金钟叶组织培养 [J]. 植物生理学通讯, 1981(5):37.
- [16] 周瑞金, 胡艳, 张灿, 张欢.矮牵牛组织培养快速繁殖技术研究 [J].河北北方学院学报(自然科学版),2009,25(04):30-32+38.
- [17] 刘雪微. 矮牵牛组织培养繁殖技术研究 [J]. 现代园艺,2008(10):57-58.
- [18] 葛蓓宇.不同质量分数6-BA对矮牵牛组织培养的影响[J].高师理科学刊,2008(03):69-71.
- [19] 李海权, 石少华, 苏一兰, 夏伟婕, 李建粤.两种不同花色矮牵牛快繁体系的建立 [J]. 上海师范大学学报(自然科学版),2008(02):189-193.
- [20] 梁冰, 杨爱馥, 樊锐锋, 胡宝忠.矮牵牛(*Petunia hybrida* Vilm)组织培养技术研究[J].东北农业大学学报,2006(04):478-483.
- [21] 张汉尧, 刘小珍, 周健, 龚秀会, 杨宇明.矮牵牛组织培养及变异苗的RAPD分析[J].广西植物,2006(01):74-75+112.
- [22] 吴林森.探讨不同浓度的外源激素对矮牵牛组织培养的影响[J].山东林业科技,2005(01):9-10.
- [23] 任旭琴.矮牵牛组织快繁试验研究 [J].淮阴工学院学报,2004(05):84-85+88-89.
- [24] 白玛玉珍, 刘正玉, 达瓦卓玛.矮牵牛的组织培养[J].西藏农业科技,2003(04):31-32.