

菊花花瓣的组织培养

曾凡力

(哈尔滨师范大学 生命与环境科学学院生物系, 哈尔滨 150025)

摘要:以菊花花瓣为外植体, 在离体条件下既可通过诱导愈伤组织, 再由愈伤组织诱导不定芽发生, 也能直接由外植体表面诱导不定芽发生。在试验中探讨了 NAA, 6-BA 对诱导愈伤组织和不定芽的影响, 并筛选出诱导愈伤组织的最佳脱分化培养基为 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L; 诱导不定芽的最佳分化培养基为 MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L。

关键词:菊花; 花瓣; 愈伤组织; 不定芽

中图分类号:S 682.1⁺1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2007)09-0207-02

菊花(*Dendranthema morifolium* Tzvel)是菊科菊花属多年生宿根草本植物。花色繁多, 品种丰富, 具有很强的观赏价值, 是目前世界上栽培最广的切花及盆花之一。国内外对菊花的组织培养研究自 1972 年以来, 有过不少报道, 目前快繁技术已经成熟。但在脱毒和利用花瓣育种上, 还需深入开展研究^[1], 利用花瓣进行组织培养, 其变异率要大于茎尖、腋芽等具有分生组织的外植体^[2], 可作为品种选育的辅助手段。开花植物的外植体, 越靠近花器官, 分化花芽的能力越强^[3], 用菊花花瓣作为外植体培养试管苗为菊花成花诱导和开花机制研究提供良好材料。

1 材料与方法

1.1 外植体获取

选用菊花黄色平瓣品种(采自哈尔滨师范大学生物系标本园)直径约 2 cm 且生长良好苞片未开裂的花蕾作为表面消毒材料, 以花瓣作为外植体进行接种, 长度 2~3 cm, 呈黄色。取未开放花蕾, 在洗衣粉溶液中浸泡 10 min 后, 再用自来水冲洗干净。在超净工作台上用 75%酒精浸泡 15 s, 用无菌水冲洗一次, 再用 2%NaClO 溶液浸泡 5 min, 无菌水冲洗 5~6 次。在无菌条件下, 用解剖刀将花蕾总花托切去, 然后将分散的花瓣逐个接入培养基中, 每瓶接种 4~5 个。接种时, 有些花瓣被平贴于培养基上, 还有一些其基部被插入培养基中。

1.2 培养条件

采用 Murashige 和 Skoog 的无机盐及有机成分, 肌醇 100 mg/L, 蔗糖 30 g/L, 为基本组成(MS 培养基), 琼

脂 1%, pH 5.6~5.8。另附加 NAA、6-BA 不同浓度的组合作为外源植物激素, 高压灭菌器中 121℃下灭菌 20 min, 培养温度 25℃, 光周期 12 光照/12 h 黑暗, 光强 1 500 lx。试验设计的 6-BA, NAA 浓度梯度构成一个具有 30 项处理组合的试验, 如表 1 所示。

表 1 6-BA, NAA 浓度的处理组合

NAA/mg·L ⁻¹	6-BA/mg·L ⁻¹				
	0	0.5	1.0	1.5	2.0
0	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)
0.1	(6)	(7)	(8)	(9)	(10)
0.2	(11)	(12)	(13)	(14)	(15)
0.5	(16)	(17)	(18)	(19)	(20)
1.0	(21)	(22)	(23)	(24)	(25)
2.0	(26)	(27)	(28)	(29)	(30)

2 结果与分析

2.1 6-BA, NAA 不同浓度组合对愈伤组织及芽诱导的影响

将外植体接入(1)~(30)号培养基中培养 7 d 后, 各瓶中的小花瓣基部均变为绿色, 但未出现愈伤组织。15 d 后, (13)、(16)、(17)、(18)、(22)、(27)号培养基中花瓣基部膨大 1~2 倍; (4)、(5)、(10)、(15)、(20)号培养基中花瓣基部明显膨大 4~5 倍, 其它组合培养基中的花瓣状态发育不良, 有些外植体花瓣的上部开始变黄萎蔫。25 d 后, (13)、(17)、(18)、(22)、(27)号培养基中大部分花瓣基部均有绿色愈伤组织块形成, 组织紧密。(13)、(18)号愈伤组织块表面开始有点状凸起。而(4)、(5)、(10)、(15)、(20)则直接出现密集生长的丛生芽高度约 1.5~2.5 cm, 其周围无愈伤组织形成, 芽诱导率达 100%。证明(13)、(17)、(18)、(22)、(27)号培养基中 6-BA, NAA 浓度配合有利于外植体花瓣脱分化产生愈伤组织, 而(4)、(5)、(10)、(15)、(20)号培养基中 6-BA, NAA 浓度组合则有利于外植体花瓣脱分化直接产生丛生芽。接种 30 d 后, 对愈伤组织诱导情况进行观察统计, 试验结果如

作者简介: 曾凡力(1985-), 男, 湖南衡阳人, 哈尔滨师范大学 2004 级本科生, 生物科学专业, 现在植物分子生物学实验室做菊花组织培养与成花诱导项目研究。
基金项目: 哈尔滨师范大学大学生科技创新基金项目(2006038)。
收稿日期: 2007-05-23

表 2

表 2 不同激素条件对愈伤组织诱导影响

处理组号	6-BA /mg·L ⁻¹	NAA /mg·L ⁻¹	外植体 /个	愈伤组织 /块	诱导率 /%	出芽数 /个
(13)	1.0	0.2	31	29	97	7
(17)	0.5	0.5	33	20	61	4
(18)	1.0	0.5	26	11	42	6
(22)	0.5	1.0	20	6	30	0
(27)	0.5	2.0	30	13	43	0

对表 2 数据进行独立性检验, 5 种不同的培养基对愈伤组织诱导有显著差异, 其中(13)号培养基 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L 对菊花花瓣愈伤组织诱导有明显效果, (13)、(17)号产生的愈伤组织状态好于其它处理。

统计结果显示, 在(4)、(5)、(10)、(15)、(20)号培养基中, 以(10)号培养基 MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L 上分化的丛生芽粗壮, 叶片浓郁, 而(15)、(20)号叶片淡绿, 近乎透明, 将愈伤组织块移入(10)号培养基中 15 d 后几乎都能产生丛生芽, 由此可知, MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L 是芽诱导的良好方案。



图 1 在 13 号培养基上长的芽

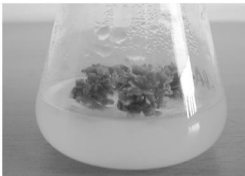


图 2 在 10 号培养基上分化的丛生芽



图 3 在 17 号培养基上生长的不定芽



图 4 在 10 号培养基上生长的不定芽

试验中愈伤组织均为绿色, 由花瓣基部细胞分化产生, 而花瓣其它部位不变绿, 不分化。其可能原因是花

瓣基部有切伤促进分化。花瓣贴于培养基或基部插入培养基中的诱导效果区别不明显。

2.2 生根诱导及试管苗移栽

将继代增殖中芽长 5~6 cm, 具 7~8 片叶且生长健壮的小苗沿基部切割下接种到 1/2MS+NAA 0.1 mg/L 培养基中诱导生根。1 周后, 芽基部形成 1~2 条白色的根, 15 d 后每个芽均有 3~5 cm 长的白色根 3~7 条不等, 且能见到根毛的出现, 生根率为 100%, 生根过程中, 小苗继续生长。

将生根后的试管苗从三角瓶中取出, 将苗基部的琼脂洗净, 分别移入装有灭过菌的沙土的塑料小花盆中, 浇透水后, 置于大塑料盆中, 盖上塑料薄膜, 置培养架上, 进行气孔开闭锻炼。每半天打开薄膜, 喷洒水雾, 然后盖上。1 周以后可移至 20~25℃的温室中, 15 d 后幼苗基本成活。

3 小结与讨论

通过试验可知用菊花花瓣作外植体比较容易产生愈伤组织和丛生芽, 既能通过愈伤组织途径得到试管苗, 又能直接诱导产生芽丛, 先后使用 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L, MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L 和 1/2MS+NAA 0.1 mg/L 可使菊花花瓣经愈伤组织化到芽诱导再到生根途径, 因愈伤组织途径变异系数大, 为利用菊花花瓣易变性进行育种奠定了基础。而先后使用 MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L 和 MS+NAA 0.1 mg/L 可使菊花经芽诱导直接到生根途径, 且周期缩短, 有利于菊花苗的快繁, 也为菊花其它研究的深入奠定了基础。

参考文献

[1] 熊丽, 吴丽芳. 观赏花卉的组织培养与大规模生产[M]. 北京: 化学工业出版社, 2004.
[2] 伊华林. 果树体细胞无性系变异与品种改良[J]. 植物生理学通讯, 2002(4): 412.
[3] 邹永梅, 黄雪芳. 万寿菊的组织培养和瓶苗开花研究[J]. 江苏林业科技, 2005(6): 32.
[4] 李俊明. 植物组织培养教程[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 1996.
(感谢生物系于丽杰教授对本文的指导帮助)

Tissue Culture of Chrysanthemum Petal

ZENG Fan-li

(Department of Biology, Harbin Normal University, Harbin Heilongjiang 150025, China)

Abstract: In this experiment, sprouts are acquired through tissue culture of petals on chrysanthemum. The results of tissue culture under the influences of 6-BA and NAA were reported. Two kinds of approaches to get sprouts were obtained -the first approach was to induce callus, then buds on callus under the influences of MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L and then MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L; while the other approach is to lead buds directly cultured on MS medium supplemented with 2.0 mg/L 6-BA and 0.1 mg/L NAA for weeks.

Key words: Dendranthema morifolium Tzvel; Petal; Callus; Bud induction