

# 2, 4-D 和 6-BA 对菊芋愈伤组织诱导的影响

李成伟, 姚晓惠, 陈新兵

(商丘师范学院生命科学系 河南, 商丘 476000)

**摘要:** 菊芋是一种十分具有开发利用价值的菊科植物, 试验以 MS 培养基为基本培养基, 附加不同种类和浓度的植物生长调节物质, 对菊芋的块茎进行愈伤组织的诱导培养研究, 结果表明: 浓度为 0.05 mg/L 的 6-BA 的诱导效果最差; 6-BA 0.05 mg/L 和 2, 4-D 0.05 mg/L 组合有利于愈伤组织的诱导; 浓度为 0.05 mg/L 的 2, 4-D 最有利于愈伤组织的诱导。

**关键词:** 菊芋; 愈伤组织; 诱导

**中图分类号:** S632.903.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2008)02-0203-03

菊芋 (*Helianthus tuberosus* Linn) 属菊科, 向日葵属, 多年生草本植物。菊芋原产于北美, 经欧洲传入中国, 在中国南北各地均有栽培, 分布极广<sup>[1]</sup>。菊芋适应性强, 耐贫瘠、耐寒、耐旱, 种植简易, 一次播种多次收获, 产量极高。其生产成本低, 产品用途广, 具有很高的经济价值、药用价值和生态价值。菊芋可食部分一般为块茎, 呈纺锤型或不规则瘤型, 皮有红色、黄色和白色, 质地细致、脆嫩, 味甜适口, 还含有氨基酸、维生素等, 可作

蔬菜, 腌制成酱菜或制成洋姜脯则更具独特风味, 是制作绿色食品的上乘原料。其中菊糖含量极高, 菊糖水解后的果糖, 用于医药及制作果糖、糕点等, 还是制造淀粉和酒精的工业原料。利用现代生物技术进行深加工精制而成的菊芋粉、低聚果糖和超高果糖浆, 是当今保健食品的全新多功能配料, 具有增殖体内双歧杆菌和抗癌作用<sup>[2]</sup>。另外, 菊芋产茎叶量高, 是优良的家畜饲料; 由于其根系特别发达, 又是很好的保持水土、防风固沙的植物; 夏、秋季节植株顶部遍开盘状黄花, 形如菊, 并有美化宅舍作用<sup>[3]</sup>。因此, 充分开发利用这一自然资源有十分重要的意义。试验以菊芋的块茎作为外植体, 进行菊芋愈伤组织的诱导, 旨在为菊芋的再生体系的建立和综合开发利用提供试验材料。

**第一作者简介:** 李成伟(1972-), 男, 河南民权县人, 留荷博士, 系主任, 副教授, 主攻分子植物病原体互作和分子育种研究方向。  
E-mail: lichengwei166@sohu.com.  
收稿日期: 2007-08-01

[ 8 ] 牛维和, 徐玉冰, 刘继红. 大花君子兰无性快速繁殖[ J ]. 大众花卉, 1987(2): 29.

[ 9 ] 陈为民. 大花君子兰子房、花托和花丝培养再生植株[ J ]. 植物生理学通讯, 1986(3): 46.

[ 10 ] 李淑华, 袁增玉, 陈力. 君子兰组织培养在生植株的研究[ J ]. 黑龙江农业科学, 1988(4): 39-41.

## Study on Tissue Culture of Seeds in *Clivia Miniata* Regei

DENG Xiao-min<sup>1</sup>, LEI Jia-jun<sup>1</sup>, XUE Sheng-yan<sup>2</sup>

(1. College of Horticulture, Shenyang Agricultural University, Shenyang, Liaoning 110161, China; 2. Institute of Flower, Shenyang Academy of Landscape Sciences, Shenyang, Liaoning 110161, China)

**Abstract:** The seeds of *Cliviaminizta* Regei cvs ‘You Jiang’, ‘Sheng Li’, ‘He Shang’ were used to culture in vitro in this paper. The results showed that the seeds collected from the fruit directly were disinfected with 70% alcohol 10 sec plus 0.1% HgCl<sub>2</sub> 8 min was the best, with the rate of pollution 5.68%. Seed culture in vitro was to some extent impacted by genotypes, which was relatively easy to induce callus in ‘You Jiang’ with the rate of induction 72.97%. The optimal induction medium for seed culture in vitro in ‘Sheng Li’ was MS + 2, 4-D 2 mg/L + BA 2 mg/L, with the rate of induction 52.94%, and the optimal differentiation medium was MS + NAA 1 mg/L + BA 1 mg/L, with the differentiation rate of 72.22%. It is great significant for micropropagation of kafirily because the seeds in the medium could be induced callus and differentiated a large number of plantlets.

**Key words:** *Clivi miniata* Regei; Seeds; Tissue culture

# 1 材料与方法

## 1.1 材料

菊芋由商丘师范学院生命科学系生物园地提供; 二氯苯氧乙酸(2,4-D), 由上海化学试剂总厂所属上海试剂四厂生产; 6-苄氨基腺嘌呤(6-BA), 由上海试验试剂有限公司提供; 琼脂粉, 由北京奥博星生物技术责任有限公司提供; 其他试剂均为国产分析纯。

## 1.2 试验方法

1.2.1 培养基的制备 试验采用 MS 培养基为基本培养基<sup>[4]</sup>, 附加不同种类和浓度的生长调节物质, 根据使用的生长调节剂种类和浓度, 共设置以下 4 个处理用于菊芋块茎愈伤组织诱导培养<sup>[5-9]</sup>。(1)MS; (2)MS+6-BA 0.05 mg/L; (3)MS+2,4-D 0.05 mg/L + 6-BA 0.05 mg/L; (4)MS+2,4-D 0.05 mg/L。以上培养基均添加 30 g/L 蔗糖, 7.5 g/L 琼脂粉, pH 调至 5.8~6.0。

1.2.2 外植体的灭菌 选贮藏 4 个月的、无病虫害的菊芋块茎, 用自来水冲洗 30~60 min, 用洗衣粉液浸泡 1~2 h, 用自来水冲洗 1 h。再用 75% 的乙醇浸泡 10~20 s 后, 用无菌水冲洗 3~4 次, 用 0.1% 的升汞液浸泡 8~10 min, 再用无菌水冲洗 8~10 次, 最后用无菌纱布吸干备用<sup>[7]</sup>。

1.2.3 接种 将消毒处理好的菊芋块茎取出放入已经灭过菌的培养皿中, 切去表皮, 剩余的菊芋块茎用灭菌的打孔器打成直径为 5 mm 的柱状体, 将柱状体切成厚约 2 mm 的小块, 将两端的小块去掉, 其余的接种在培养基上, 每培养瓶接种 2 块。以上每个步骤均在无菌室超净工作台上操作完成。

1.2.4 培养条件 将已经接种好的菊芋块茎放入培养室培养, 温度: (23±2)℃; 黑暗条件。

1.2.5 定期观察 在接种后的 7 d 内每天检查, 用肉眼观察形态变化, 对观察到的现象, 随时拍成照片, 并进行记录; 接种 1 周后, 每隔 2 d 观察 1 次。

1.2.6 称量 取未接种的小块 100 块平均分成 10 份, 用 1/1000 电子天平称量每 1 份的重量, 求出每块的平均重量即平均鲜重; 然后用烘箱在 60℃下烘 12 h, 取出后

称其重量, 接着再将其继续烘 4~6 h, 直至重量不再变化为止, 再计算出其平均值, 此时的重量便是接种前的菊芋块茎的平均干重。分别在接种后的第 7 d、14 d、21 d、28 d 将接种的外植体每一组取 10 瓶称其鲜重和干重<sup>[7]</sup>。

## 2 结果与分析

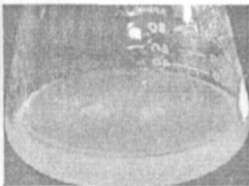
### 2.1 愈伤组织的生长状态观察结果

试验结果见表 1, 由表 1 可知: 在不加任何激素时, 菊芋块茎没有愈伤组织产生; 在加入浓度为 0.05 mg/L 的 6-BA 时, 对菊芋块茎愈伤组织的诱导效应极差, 出愈率虽为 100%, 但在接种的第 7 天才少量愈伤组织产生, 且愈伤组织增殖较慢, 到 14 d 时愈伤组织开始老化, 重量几乎不再增加; 愈伤组织较致密, 呈乳白色; 当 2,4-D 0.05 mg/L 和 6-BA 0.05 mg/L 组合使用时, 出愈率为 100%; 在接种后的第 4 天便有愈伤组织产生; 第 7 d 开始有大量的愈伤组织产生, 且愈伤组织仍在继续增殖, 在第 21 d 到第 28 d 的增殖量明显超过前 21 d; 愈伤组织比 6-BA 的疏松, 比 2,4-D 的致密, 呈浅黄色; 浓度为 0.05 mg/L 的 2,4-D 对菊芋外植体形成愈伤组织诱导效果较好, 出愈率为 100%; 于接种后的第 2 天便有少量愈伤组织产生, 第 7 天开始有大量的愈伤组织产生, 而且一直快速增殖; 产生的愈伤组织疏松, 呈浅黄色透明状。由此可见: 浓度为 0.05 mg/L 的 2,4-D 有利于菊芋愈伤组织的诱导, 出愈时间较早, 生长速度快, 生长状况好, 老化时间晚; 6-BA 对菊芋愈伤组织的诱导效果极差, 出愈时间晚, 生长速度慢, 老化时间早; 但有 2,4-D 存在时可以明显提高 6-BA 的诱导效率, 同时也表明 6-BA 可以降低 2,4-D 的诱导效应。

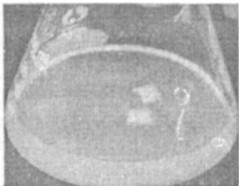
表 1 2,4-D 和 6-BA 对菊芋块茎愈伤组织诱导的影响

激素浓度 /mg·L <sup>-1</sup>	出愈率 /%	出愈时间 /d	生长状况		
			形态	颜色	生长量
0.00	0	—	不变	乳白色	—
6-BA 0.05	100	7	致密	乳白色	+
2,4-D 0.05+6-BA 0.05	100	4	较致密	浅黄色	+++
2,4-D 0.05	100	2	质地疏松	浅黄色	++++

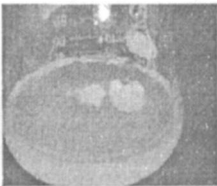
注: — 没有变化 + 差 +++ 较好, +++++ 旺盛



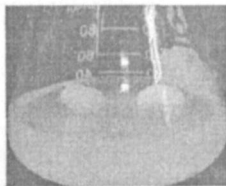
MS



6-BA 0.05



2,4-D 0.05+6-BA 0.05



2,4-D 0.05

### 2.2 愈伤组织的生长曲线

根据称量愈伤组织的鲜重和干重, 以培养时

间(d)为横坐标, 以愈伤组织的平均重量(g)为纵坐标, 分别绘制愈伤组织的鲜重和干重的生长曲线。

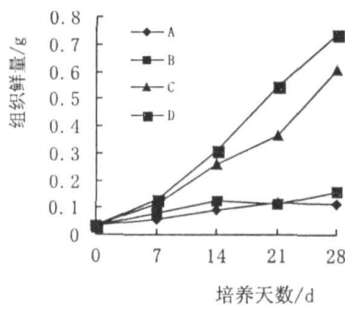


图1 愈伤组织的鲜重增长曲线

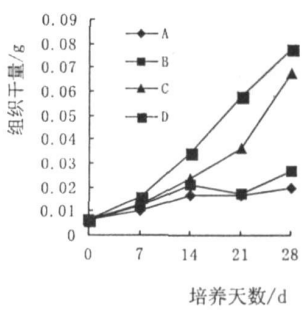


图2 愈伤组织的干重增长曲线

A—MS; B—MS+6-BA 0.05; C—MS+2,4-D 0.05+6-BA 0.05; D—MS+2,4-D 0.05

3 讨论

从愈伤组织的鲜重和干重的增加量可以看出(见图1, 图2), 不加入任何激素时, 菊芋没有愈伤组织产生, 曲线的增长是因为细胞吸水和细胞新陈代谢积累较多的无机成分; 6-BA 诱导愈伤组织时, 从愈伤组织增长曲线图可以看出, 明显表现出愈伤组织生长的3个时期: 适应期, 指数增长期和停滞期或静止期。从接种到第7天为适应期, 第14天以后进入生长静止期, 这时的鲜重几乎停止或有所下降, 干重的增长也趋于缓慢。因此, 单独使用6-BA 诱导效果较差。马生键<sup>[8]</sup>、张洋<sup>[9]</sup>等分别对高羊和唐古特大黄进行组织培养研究时都发现类似的情况, 但在加入2,4-D的条件下, 可显著提高6-BA 诱导效果, 并加快愈伤组织的生长速度, 这种作用的可能机理是: 植物细胞中, 生长素通过周期素依赖性蛋白激酶的活性来调节细胞周期。植物细胞中一种主要的CDK蛋白为CDC2蛋白, 生长素可诱导高水平的CDC2产生, 当CDC2与6-BA 诱导的G1型周期素a周期素结合, 会形成CDK—G1型周期复合体, CDK变为有活性的激酶, 启动细胞周期从G1期进入S期<sup>[10]</sup>。单独添加6-BA时, 细胞内CDC2水平过低, 无法形成大量的活性CDK来启动细胞周期; 而在适量的外源2,4-D的条件下, 大量的CDK蛋白被激活, 并开始促进细胞分裂, 从而提高了愈伤组织的诱导效应和生长速度。但与2,4-D相比, 效果较差, 出现愈伤组织较晚, 愈伤组织增殖量较少。杨念<sup>[11]</sup>在研究广藿香愈伤组织的诱导与增殖时也发现

类似的情况。使用2,4-D 诱导愈伤组织时, 从接种到第7天为适应期, 这一时期的愈伤组织鲜重的增加相对较慢, 干重的增加量也较小, 可能是由于刚接种的外植体需要适应新的环境, 并且细胞处于分裂时期, 原生质体合成过程较慢; 第7天~21天为指数生长期, 这一时期的原生质合成加快, 组织迅速吸水膨胀, 愈伤组织鲜重急剧增加, 这一时期干重也明显增加, 说明此时处于生长旺盛期, 组织的干物质增加快。通过以上分析可知, 6-BA 诱导菊芋产生愈伤组织的效果极差, 6-BA 和2,4-D 组合使用时效果较好, 2,4-D 诱导效果最好, 因此使用浓度为0.05 mg/L 的2,4-D 来诱导菊芋块茎产生愈伤组织是最佳选择。

试验采用菊芋的块茎来诱导愈伤组织, 获得了菊芋块茎愈伤组织诱导的最佳培养基, 下一步将建立以愈伤组织为中间繁殖体的菊芋再生体系。采用其它基本培养基或者外植体是否更有利于菊芋愈伤组织的诱导, 有待于进一步研究。

参考文献

[1] 王丽芳, 安放舟. 菊芋植物利用研究[J]. 科技咨询导报, 2006(9): 12.  
[2] 孙纪录, 贾英民, 高小芹, 等. 菊芋在体内对双歧杆菌生长的影响研究[J]. 食品科技, 2007(1): 78.  
[3] 牛建彪. 菊芋的特征特性及高产栽培技术[J]. 甘肃农业科技, 2005(7): 40-41.  
[4] 郭勇, 崔堂兵, 谢秀祯. 植物细胞培养技术与应用[M]. 1版. 北京: 化学工业出版社, 2004: 22.  
[5] 孙鸿良. 生态农业的理论与方法[M]. 济南: 山东科技出版社, 1993.  
[6] 肖玉兰. 植物无糖组培快繁工厂化生产技术[M]. 1版. 昆明: 云南科技出版社, 2003: 104-119.  
[7] 李俊明, 朱登云. 植物组织培养教程[M]. 2版. 北京: 中国农业出版社, 2002: 17.  
[8] 马生键, 曾富华. 植物组织培养简报摘编[J]. 植物生理学通讯, 39(2): 152.  
[9] 张洋, 陈志, 王慧春. 2,4-D 和 6-BA 对唐古特大黄愈伤组织诱导的影响[J]. 河北省科学院学报, 2006, 23(3): 23-25.  
[10] 武维华. 植物生理学[M]. 北京: 科学出版社, 2001: 243.  
[11] 杨念, 曾宋君, 吴坤林, 等. 广藿香愈伤组织的诱导和增殖[J]. 福建林业科技, 2006, 21(5): 560-564.

Effect of 2, 4-D and 6-BA on Callus Induction of *Helianthus tuberosus* Linn

LI Cheng-wei, YAO Xiao-hui, CHEN Xin-bing

(Department of Live Science, Shangqiu Normal University, Shangqiu Henan 476000, China)

**Abstract:** *Helianthus tuberosus* Linn is a great value with the development of the Compositae, the experimental MS medium as a basic medium, supplemented with different types and concentrations of plant growth regulators, *Helianthus tuberosus* Linn tuber called on the callus explants were cultured in the study. The results showed that the effects induced by the concentration of 0.05 mg/L 6-BA was worst. 6-BA 0.05 mg/L and 2, 4-D 0.05 mg/L callus was good for rapid induction; the concentration of 0.05mg/L 2, 4-D was best conducive to the rapid induction.

**Key words:** *Helianthus tuberosus* Linn; Callus; Induction