

# 激素对菊花愈伤组织诱导和丛生芽分化的影响

袁成志<sup>1</sup>, 李波<sup>1</sup>, 杨蔚然<sup>1</sup>, 朱崇梅<sup>2</sup>

(1. 齐齐哈尔大学 生命科学与工程学院, 黑龙江 齐齐哈尔 161006; 2. 克东县农业技术推广中心, 黑龙江 克东 164800)

**摘要:** 利用菊花的叶片为外植体, 在附加不同激素浓度的 MS 培养基上诱导愈伤组织。通过对 6-BA 和 NAA 在菊花愈伤组织诱导和丛生芽作用的研究, 筛选合适的激素配比。结果表明: 愈伤组织诱导的最适培养基为 MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 1.0 mg/L, 丛生芽诱导的最适培养基为 MS+6-BA 2.0~3.0 mg/L+NAA 0.1~0.5 mg/L, 可获得较高的分化率。丛生芽继代培养基为 MS+6-BA 2 mg/L+NAA 0.1 mg/L; 试管苗在 1/2MS+NAA 0.1 mg/L+20 g/L 蔗糖的生根培养基上均可生根。

**关键词:** 菊花; 激素; 愈伤组织; 丛生芽

**中图分类号:** S 682.1<sup>+</sup>1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2010)01-0162-03

菊花是北方地区深受人们喜爱的花卉品种, 它色泽鲜艳生长周期长, 适合在北方地区的环境下生长, 室内观赏、室外园林绿化都具有很高的使用价值。目前我国菊花种苗生产尚未广泛采用“组培苗”, 菊花的一些名贵品种和新品种, 或因其扦插难以生根, 或因母株稀少, 用扦插繁殖的方法难以迅速扩大群体<sup>[1]</sup>。该试验对菊花叶片进行愈伤组织诱导、丛生芽分化和继代培养等的研究, 进而为利用组织培养技术快速繁殖菊花提供有效的途径。

**第一作者简介:** 袁成志(1975-), 男, 硕士, 讲师, 现从事园艺作物科研及教学等工作。E-mail: gaomeiling0539@163.com。

**收稿日期:** 2009-10-10

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

选择的试验材料是菊花品种国华鸟越城, 由齐齐哈尔市龙沙公园提供, 选择其无病虫害的叶片为外植体。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 无菌外植体的获得** 将选取菊花的叶片, 在自来水冲洗 2~3 h, 用 70% 酒精消毒 30 s, 用无菌水冲洗后再用 0.1% 汞消毒 5~7 min, 无菌水冲洗 4~5 次。

**1.2.2 培养基的筛选** 选用 MS 为基本培养基, 附加不同浓度的 6-BA 和 NAA, 6-BA 的浓度设置 5 个梯度, 分别为 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mg/L; NAA 的浓度设置 3 个梯度, 分别为 0.1、0.5、1.0 mg/L, 共组成 15 种不同激素浓度配比的培养基<sup>[2]</sup> (表 1)。

## Green Globular Body (GGB) Induction and Plantlet Regeneration of *Neocheiropteris palmatopedata* (Baker) Christ

GE Jia<sup>1</sup>, LU Cheng<sup>1</sup>, WU Dan-dan<sup>1</sup>, ZHANG Guang-fei<sup>1,2</sup>, SU Wen-hua<sup>1,2</sup>

(1. Department of Ecology, School of Life Sciences, Yunnan University, Kunming, Yunnan 650091; 2. Institute of Ecology and Geobotany, Yunnan University, Kunming, Yunnan 650091)

**Abstract:** With shoot tip of *Neocheiropteris palmatopedata* (Baker) Christ as the study materials, through tissue culture technology, for the Green Globular Body (GGB) induction and plantlet regeneration of *Neocheiropteris palmatopedata* were studied. This experiment showed that the most proper medium for inducing green globular bodies (GGB) was B5+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L (sucrose 2%), the medium for multiplying GGB was B5+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.5 mg/L (sucrose 2%) and B5+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.2 mg/L (sucrose 2%), the medium for GGB to shoot was B5+NAA 0.1 mg/L (activated carbon 0.1%+sucrose 2%) and B5+NAA 0.2 mg/L (activated carbon 0.1%+sucrose 2%), 1/2B5+NAA 0.5 mg/L (sucrose 2%) was good for rooting, the rooting rate was 100%.

**Key words:** *neocheiropteris palmatopedata* (Baker) Christ; shoot tip; green globular body; tissue culture

1.2.3 接种与培养 将叶片切成 0.5 cm×0.5 cm 小块,接种到含有不同激素配比的 MS 培养基中(表 1),每瓶接种 3~4 块外植体,每 1 个梯度接 12 瓶,在 25℃培养室散射光下培养。

1.2.4 愈伤组织的诱导和分化 将叶片接种在上述培养基,从接种的第 5 天开始观察和统计愈伤组织诱导和丛生芽分化状况。愈伤组织诱导率(%)=叶片产生愈伤组织块数/接种叶片总块数×100%;丛生芽分化率(%)=带芽的愈伤组织块数/接种叶片总块数×100%。

1.2.5 丛生芽的继代培养 将上述培养基中诱导分化的丛生芽分别接种于下列继代培养基上:①MS+6-BA 3 mg/L+NAA 0.1 mg/L;②MS+6-BA 2 mg/L+NAA 0.1 mg/L;③MS+6-BA 1 mg/L+NAA 0.1 mg/L。每处理接 20 个芽,培养 30 d 后统计高于 2 cm 的苗数。培养条件为温度 22~24℃,光照强度 1 000~2 000 lx,光照时间 12 h/d。

1.2.6 试管苗的生根培养 将继代培养基中高于 2 cm 的幼苗接种于 1/2MS+NAA 0.1 mg/L+20 g/L 蔗糖的生根培养基上,15 d 后统计生根情况。培养条件为温度 22~24℃,光照强度 1 000~2 000 lx,光照时间 12 h/d。

2 结果与分析

2.1 激素对菊花愈伤组织启动和形成的影响

在对叶片培养 5 d 时观察各培养基叶片的变化,10~15 号培养基中的叶片边缘出现了上翘,在培养的第 10 天左右发现,所有培养材料无论在什么培养基上诱导,均出现叶片卷曲,边缘膨大,说明叶片已经脱掉原来的分化状态,开始启动叶片边缘的细胞进行分裂,启动期是愈伤组织形成的起点。菊花叶片启动期的时间比较长,为 10 d 左右(表 2)。但到 15~20 d 时发现在 1~9

号培养基的叶片开始有愈伤组织的形成,在 5、8、9 号培养基产生的愈伤组织量比较多。

由表 2 可以看出,在 6~BA 浓度达到 4.0 mg/L 以上时愈伤组织发生量少,且易褐化;在所选定的 NAA 0.1~1.0 mg/L 时与 6-BA 浓度在 3.0 mg/L 以下时均可诱导产生愈伤组织,但 6-BA 浓度在 2.0~3.0 mg/L 之间产生的愈伤组织表面有许多突起,多为胚性愈伤组织,具有较强的分化能力。因此可以确定由叶片诱导产生愈伤组织的最佳激素配比应为 6-BA 2.0~3.0 mg/L, NAA 为 0.1~0.5 mg/L。

菊花叶片培养 30 d 后愈伤组织诱导率见表 3。当 NAA 浓度确定时,6-BA 浓度在 1.0~3.0 mg/L,愈伤组织的诱导率在 94.0%以上,但是随着 6-BA 的浓度增高 4.0~5.0 mg/L,愈伤组织的诱导数量在不断下降,且产生的愈伤组织易褐变,高浓度的细胞分裂素对菊花叶片愈伤组织的形成起到抑制作用,在高浓度的 6-BA 培养基中的大部分叶片停留在叶片膨大阶段,并没有产生愈伤组织。从表 3 可以看出,在相同的细胞分裂素浓度不同的生长素浓度条件下,愈伤组织的诱导率差异不明显。

表 1 不同激素配比培养基

培养基 编号	6 BA /mg·L <sup>-1</sup>	NAA /mg·L <sup>-1</sup>	培养基 编号	6 BA /mg·L <sup>-1</sup>	NAA /mg·L <sup>-1</sup>
1 号	1.0	0.1	9 号	3.0	1.0
2 号	1.0	0.5	10 号	4.0	0.1
3 号	1.0	1.0	11 号	4.0	0.5
4 号	2.0	0.1	12 号	4.0	1.0
5 号	2.0	0.5	13 号	5.0	0.1
6 号	2.0	1.0	14 号	5.0	0.5
7 号	3.0	0.1	15 号	5.0	1.0
8 号	3.0	0.5			

表 2 不同培养基对愈伤组织产生的影响

培养基编号	5 d	10 d	15~20 d	30 d
1 号	无变化	叶片卷曲、上翘、边缘膨大	愈伤组织出现	愈伤组织增大
2 号	无变化	叶片卷曲、上翘、边缘膨大	愈伤组织出现	愈伤组织增大,少量丛生芽分化
3 号	无变化	叶片卷曲、上翘、边缘膨大	愈伤组织出现	愈伤组织增大
4 号	无变化	叶片卷曲、上翘、边缘膨大	愈伤组织出现	愈伤组织增大,少量丛生芽分化
5 号	无变化	叶片卷曲、上翘、边缘膨大	愈伤组织出现	愈伤组织增大,少量丛生芽分化
6 号	无变化	叶片卷曲、上翘、边缘膨大	愈伤组织出现	愈伤组织增大
7 号	无变化	叶片卷曲、上翘、边缘膨大	愈伤组织形成 少数有丛生芽	愈伤组织增大,大量丛生芽分化
8 号	无变化	叶片卷曲、上翘、边缘膨大	愈伤组织形成 少数有丛生芽	愈伤组织增大,大量丛生芽分化
9 号	无变化	叶片卷曲、上翘、边缘膨大	愈伤组织形成 少数有丛生芽	愈伤组织增大,少量丛生芽分化
10 号	叶片卷曲上翘	叶片卷曲、上翘、边缘膨大	部分叶片边缘有愈伤组织出现	少量愈伤组织 有褐变现象
11 号	叶片卷曲上翘	叶片卷曲、上翘、边缘膨大	部分叶片边缘有愈伤组织出现	少量愈伤组织 有褐变现象
12 号	叶片卷曲上翘	叶片卷曲、上翘、边缘膨大	部分叶片边缘有愈伤组织出现	少量愈伤组织 有褐变现象
13 号	叶片卷曲上翘	叶片卷曲、上翘、边缘膨大	部分叶片边缘有愈伤组织出现	少量愈伤组织 有褐变现象
14 号	叶片卷曲上翘	叶片卷曲、上翘、边缘膨大	部分叶片边缘有愈伤组织出现	少量愈伤组织 有褐变现象
15 号	叶片卷曲上翘	叶片卷曲、上翘、边缘膨大	部分叶片边缘有愈伤组织出现	少量愈伤组织 有褐变现象

2.2 激素对丛生芽分化的影响

生长素和细胞分裂素的相对比例对植物组织培养器官的发生影响很大,生长素和细胞分裂素的比率低时

促进芽的分化<sup>[3]</sup>,从表 2 可以看出,在叶片培养 20 d 左右,在 7、8 号培养基上有少量的丛生芽的产生,但在培养了 25 d 时,在 2、4、7、8 和 9 号培养基上均有不同程度的

丛生芽的分化, 只有在 7 和 8 号培养基上分化出大量的丛生芽, 说明当 NAA 浓度相同的情况下随着 6-BA 的浓度的变化, 15 种培养基中以 6-BA 为 3.0 mg/L 和 NAA 为 0.1 ~ 0.5 mg/L 分化效果最好, 分化率分别达到了 72.1%和 74.6%(见表 3), 并且丛生芽生长状况良好, 芽高而粗壮(图 1), 从而确定最适丛生芽诱导的培养基激素配比是 3.0 mg/L 6-BA 和 0.1 ~ 0.5 mg/L NAA, 在菊花叶片愈伤组织分化过程中显示丛生芽的分化需要细胞分裂素和生长素的联合使用效果。

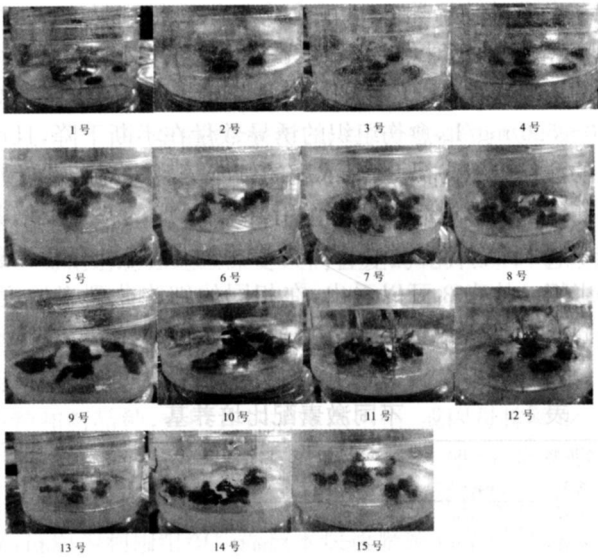


图 1 不同培养基愈伤组织的诱导和丛生芽的分化

2.3 丛生芽继代培养结果

丛生芽在 3 种不同培养基上培养 30 d 后, 培养基②上的丛生芽生长且健壮, 高于 2 cm 的苗数也最多, 为 24 株, 培养基①上丛生芽生长缓慢, 且不断分化新的丛生

芽, 高于 2 cm 的苗数为 15 株; 培养基③上丛生芽虽高, 但其分化量少, 达不到继代增殖的效果。因此, 适宜菊花继代培养扩大繁殖培养基为 MS + 6-BA 2 mg/L + NAA 0.1 mg/L。

2.4 试管苗的生根培养效果

试管苗在转接到生根培养基上, 生根率达到 100%, 且植株生长的比较壮, 因此, 在降低无机盐的 1/2MS 培养基附加低浓度的生长素 0.1 mg/L NAA 的培养基完全可以诱导试管苗生根, 诱导壮苗效果也比较好。

表 3 不同激素比对菊花愈伤组织诱导和芽分化的影响

培养基 编号	叶片 / 块	愈伤组织 / 块	出愈率 / %	丛生芽 / 个	出芽率 / %
1 号	65	65	100	21	32.3
2 号	56	56	100	24	42.9
3 号	70	70	100	25	35.7
4 号	60	57	95	12	20
5 号	53	50	94.3	3	5.6
6 号	66	66	100	12	18.2
7 号	61	58	95	43	72.1
8 号	63	60	95.2	47	74.6
9 号	54	51	94.4	35	64.8
10 号	61	19	31.1	1	1.6
11 号	54	17	31.4	0	0
12 号	56	19	33.9	0	0
13 号	62	10	16.1	0	0
14 号	67	13	19.4	1	1.5
15 号	48	11	22.9	0	0

参考文献

[ 1 ] 李辛雷, 陈发隶. 菊花种质资源与遗传改良的研究进展[ J ]. 植物学通, 2004, 21(4): 392-401.  
[ 2 ] 叶小曲, 沈效东, 陈萍. 植物激素对菊花试管苗快速繁殖的影响[ J ]. 宁夏农林科技, 1999(3): 32-33.  
[ 3 ] 曹汝义. 实用植物组织培养技术教程[ M ]. 兰州: 甘肃科学技术出版社, 1996: 175-179.

Effects of Different Hormone Medium on Induction of The Callus of Chrysanthemum Leaves and Regeneration

YUAN Cheng-zhi<sup>1</sup>, LI Bo<sup>1</sup>, YANG Wei-ran<sup>1</sup>, ZH U Chong-mei<sup>2</sup>

(1. College of Life Science and Engineering, Qiqihar University, Qiqihar, Heilongjiang 161006; 2. Kedong Agricultural Technology Promotion center, Kedong, Heilongjiang 164800)

**Abstract:** Explants of Chrysanthemum leaves were cultured on the media of different phytohormone combinations. Based on 6-BA and NAA in the Chrysanthemum the role of tissue culture, stated in the hormone's role in the propagation of chrysanthemum. Choose a hormone levels were proper induced callus and cluster buds. The results indicated that MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 1.0 mg/L medium was the best to induce callus. The MS+6-BA 2.0 ~ 3.0 mg/L+NAA 0.1 ~ 0.5 mg/L medium was the best to induce cluster buds. The higher regeneration rate was got from MS medium with 6-BA 2 mg/L+NAA 0.1 mg/L. All tube shoots can root on the 1/2MS medium with 0.1 mg/L NAA + 20 g/L sucrose.

**Key words:** chrysanthemum; hormone; callus; cluster bud