

菊花离体快繁技术研究

龚明霞, 陈小凤, 方锋学, 黄熊娟, 梁家作

(广西农业科学院 蔬菜研究所 广西 南宁 530007)

摘要:以菊花‘神马’和‘黄绣球’的茎尖为外植体进行组织培养,研究了基因型及激素组合对不定芽分化、增殖及生根的影响。结果表明:最适诱导分化培养基为:‘神马’:MS+6-BA 1 mg/L+NAA 0.1 mg/L;‘黄绣球’:MS+6-BA 2 mg/L+NAA 0.1 mg/L。最适增殖培养基为:‘神马’:MS+6-BA 1 mg/L+NAA 0.2 mg/L;‘黄绣球’:MS+6-BA 1 mg/L+NAA 0.5 mg/L。两者的最适生根培养基都为:1/2MS+NAA 0.2 mg/L。

关键词:菊花;茎尖培养;激素

中图分类号:S 682.1⁺1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2010)01-0172-02

菊花是菊科菊属多年生宿根草本植物,是世界四大切花之一。传统上菊花主要以扦插和分株进行繁殖,但这2种方法易受季节和外界环境条件的限制,而且繁殖周期长、幼苗质量差。室内的组织培养技术可以在短时间内大量繁殖名优珍稀品种,满足日益增长的市场需求。菊花的侧芽^[1]、茎段^[2]、茎尖^[3]、叶片^[1,2,4]、花瓣^[5]、子房^[5]等都可以实现植株再生。该试验以名优菊花品种—“神马”和“黄绣球”的茎尖组织为外植体进行再生培养,旨在建立起系统的离体快速繁殖技术体系,为其大规模地工厂化生产提供技术资料。

1 材料与方 法

以2个菊花新品种‘神马’(Jinba’)和‘黄绣球’(Yellow Embroidered Ball’简称Y’)为试材。从现蕾的菊花植株上取侧芽,去掉展开的大叶片,保留约1 cm长的芽段,用清水洗净泥沙,在超净工作台上用75%的酒精浸洗30 s,然后用加吐温的0.1% HgCl₂浸泡消毒8 min,其间隔1 min振荡1次,倒去HgCl₂液后,用无菌水清洗3次以上。无菌滤纸吸干水分,切取带茎尖约3~5 mm的茎段组织到培养基上,培养40 d后统计诱导分化结果。增殖培养阶段,选用切去再生植株茎尖的茎段部分作为中间繁殖体,培养40 d后统计增殖结果。对无根芽苗进行生根培养,20 d后统计生根结果。各个培养阶段,每种培养基接种8瓶以上,每瓶接种数为4。

外植体诱导分化阶段和增殖培养阶段均以MS为基本培养基,生根培养用1/2MS为基本培养基。培养基

中其它的附加成分为30 g/L的蔗糖,8 g/L的琼脂pH5.8。

培养条件:培养温度为25~28℃,光强为20~25 μmol·m⁻²·s⁻¹,光照时间12 h/d。

2 结果与分析

2.1 激素对菊花茎尖不定芽诱导分化的影响

2个品种的菊花茎尖外植体在诱导培养基上,5 d后茎尖伸长,基部膨大,15 d后有不定芽从叶腋处或基部膨大处分化出来,芽体形态正常,较粗壮,叶片黄绿色,但是有小部分不定芽发生玻璃化,芽体透明,形态扭曲,茎叶易碎。在6-BA和NAA组合的4种培养基上,‘神马’和‘黄绣球’不定芽诱导分化的表现有差异(表1)。**‘神马’**的诱芽率很高,4种培养基上都为100%,当培养基中含6-BA 1 mg/L和NAA 0.1 mg/L时,正常芽平均分化数最大,为11.6个/块,玻璃化率相对也是较低的,说明这种培养基最适合‘神马’的诱导分化。在含6-BA 2 mg/L和NAA 0.1 mg/L的培养基上,‘黄绣球’的诱芽率最高,为54.55%,同时正常芽平均分化数也最大,为12.3个/块,玻璃化率为0,可见这种培养基最适合‘黄绣球’外植体的诱导分化。

表1 6-BA和NAA组合对茎尖不定芽诱导的影响

| 激素/mg·L ⁻¹ | | 品种 | 诱芽率/% | 玻璃化率/% | 正常芽平均分化数/个·块 ⁻¹ |
|-----------------------|-----|-------|--------|--------|----------------------------|
| 6-BA | NAA | | | | |
| 1 | 0.1 | Jinba | 100.00 | 4.92 | 11.6 |
| | | Y | 50.00 | 0.00 | 10.5 |
| 1 | 0.5 | Jinba | 100.00 | 2.04 | 9.6 |
| | | Y | 50.00 | 56.25 | 2.3 |
| 2 | 0.1 | Jinba | 100.00 | 15.25 | 10.0 |
| | | Y | 54.55 | 0.00 | 12.3 |
| 3 | 0.1 | Jinba | 100.00 | 11.38 | 9.9 |
| | | Y | 33.33 | 0.00 | 7.0 |

2.2 激素对菊花增殖的影响

菊花茎段在含6-BA和NAA的培养基上,从叶腋

第一作者简介:龚明霞(1979-),女,湖北黄冈市人,硕士,现主要从事花卉及特种蔬菜育种与组织培养和栽培等科研工作。E-mail:ff9903@126.com。

基金项目:广西农业科学院科技发展基金资助项目(2007010)。

收稿日期:2009-08-20

处能够分化出不定芽,且有少量玻璃化芽形成。结果表明(表2),在所用的4种培养基中,‘神马’的平均增殖芽数在3.1~4.1个之间,在含6-BA 2 mg/L和NAA 0.2 mg/L的培养基上每个茎段增殖的正常芽数最多,为4.1,但玻璃化芽出现的频率最高为17.50%,而且‘神马’平均增殖芽数有随着培养基中6-BA浓度的增加而增大,随着NAA浓度的增加而减小的趋势,玻璃化率则反之。综合平均增殖芽数和玻璃化率考虑,含6-BA 1 mg/L和NAA 0.2 mg/L为‘神马’的最佳增殖培养基。含6-BA 1 mg/L和NAA 0.5 mg/L为‘黄绣球’的最佳增殖培养基,其平均增殖芽数为5.1个。

表2 激素对菊花增殖的影响

| 激素/mg·L ⁻¹ | | 品种 | 平均增殖芽数 /个 | 玻璃化率 /% |
|-----------------------|-----|-------|--------------|------------|
| 6-BA | NAA | | | |
| 1 | 0.2 | Jinba | 3.8 | 0.00 |
| | | Y | 4.6 | 0.00 |
| 1 | 0.5 | Jinba | 3.4 | 0.00 |
| | | Y | 5.1 | 0.00 |
| 2 | 0.2 | Jinba | 4.1 | 17.5 |
| | | Y | 4.2 | 5.63 |
| 2 | 0.5 | Jinba | 3.1 | 11.29 |
| | | Y | 4.2 | 0.00 |

2.3 NAA对菊花无菌苗生根的影响

2个品种的菊花无菌苗极易生根,培养5 d后就有白色的根长出,且在不含任何激素的1/2MS培养基上也有较高的生根率。从表3可知,在添加了NAA的培养基上,‘神马’和‘黄绣球’的生根率都为100.00%,在含NAA 0.2 mg/L的培养基上,两者的平均根数均最大,且根系长,粗壮,根毛多,表明这种培养基为菊花最佳生根培养基。

表3 NAA对无菌苗生根的影响

| 品种 | NAA浓度/mg·L ⁻¹ | 生根率/% | 平均根数/条·株 ⁻¹ |
|-------|--------------------------|--------|------------------------|
| Jinba | 0 | 96.43 | 4.3 |
| Y | | 84.21 | 8.3 |
| Jinba | 0.2 | 100.00 | 8.3 |
| Y | | 100.00 | 8.4 |
| Jinba | 0.4 | 100.00 | 6.0 |
| Y | | 100.00 | 6.4 |
| Jinba | 0.6 | 100.00 | 6.8 |
| Y | | 100.00 | 7.2 |

2.4 试管苗的移栽

无菌苗生根培养了20 d后,从培养室中拿出来,放在阳光能照到的地方2~3 d,然后揭开瓶盖进行练苗2~3 d,最后取出小苗,小心洗净根部培养基,放在0.1% KMnO₄溶液中浸泡1 min,移栽到腐质土:泥炭土=1:1的基质上,用塑料薄膜覆盖5 d,然后逐渐揭去薄膜,定期肥水管理,成活率在90%以上。

3 结论与讨论

对2个菊花品种的组培快繁进行了系统地研究,比较发现:不同品种相同外植体再生能力差异很大,同为茎尖培养,‘神马’不定芽诱导分化能力比‘黄绣球’要强,后者在6-BA和NAA各种组合的培养基上的诱导分化率都不高,最高为54.55%,为提高其不定芽分化率,适宜的激素种类和浓度配比尚有待于进一步研究。适宜的培养基条件也因基因型的不同而异,在不定芽诱导分化阶段和增殖阶段均如此。在菊花组织培养过程中,观察到了玻璃化丛生芽的现象,这与培养基中细胞分裂素6-BA的浓度过高有关系,其它方面的原因和预防方法有待进一步研究。张鹏等^[6]认为植物组织培养是在密闭或半密闭的容器中进行的,因此植物细胞会产生乙烯并逐渐积累,而使培养物的生长受到影响,不但导致植株生长畸形和玻璃化现象,而且也抑制植株再生,Ag⁺可起到抑制乙烯活性,达到促苗分化和壮苗的作用。

参考文献

- [1] 顾昌华,郑利锋.世界名菊——墨菊花的组织培养与快速繁殖技术[J].种子,2006,25(6):93-94.
- [2] 蒋细旺,刘国锋,包满珠.菊花9个品种叶片和茎段快速高效再生体系的建立[J].华中农业大学学报,2003,22(2):162-166.
- [3] 王丽娟,沈默,吴绛云等.名种菊花快速繁殖技术[J].北方园艺,2002(3):61.
- [4] 刘军,赵兰勇,丰震等.菊花叶片离体高效再生体系的建立[J].山东农业大学学报(自然科学版),2004,35(2):177-182.
- [5] 李辛雷,陈发棣,王红等.菊花外植体再生体系的研究[J].上海农业学报,2004,20(2):13-16.
- [6] 张鹏,傅爱国,王爱国.AgNO₃在植物离体培养中的作用及可能机制[J].植物生理学通讯,1997,33(5):376.

Research on Rapid Propagation Technology of Famous Chrysanthemum *in vitro*

GONG Ming-xia CHEN Xiao-feng, FANG Feng-xue HUANG Xiong-juan, LIANG Jia-zuo

(Vegetable Research Institute of Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning, Guangxi 530007)

Abstract: Using the stem strips of two chrysanthemum cultivars as explants for tissue culture, the effect of genotype and hormone combinations on differentiation, proliferation and rooting of shoots were investigated. The results showed that optimized differentiation media respectively were: ‘Jinba’: MS+6-BA 1 mg/L+NAA 0.1 mg/L; ‘Yellow Embroidered Ball’: MS+6-BA 2 mg/L+NAA 0.1 mg/L. Optimized proliferation media respectively were: ‘Jinba’: MS+6-BA 1 mg/L+NAA 0.2 mg/L; ‘Yellow Embroidered Ball’: MS+6-BA 1 mg/L+NAA 0.5 mg/L. Optimized rooting medium for them both was 1/2MS+NAA 0.2 mg/L.

Key words: chrysanthemum; stem tip culture; hormone