

菊花组织培养技术研究

袁成志, 李 波, 杨蔚然

(齐齐哈尔大学 生命科学与工程学院 黑龙江 齐齐哈尔 161006)

摘 要:以菊花的叶片为外植体,在 MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 1.0 mg/L 培养基诱导叶片产生愈伤组织,并进行丛生芽的继代培养,研究 6-BA 和 NAA 不同配比对愈伤组织丛生芽的分化及不同浓度的 IBA 对根诱导的影响,并对试管苗的移栽成活率进行了比较。结果表明:丛生芽诱导的最适培养基为 MS+6-BA 3.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L;试管苗在 1/2MS+IBA 0.5 mg/L 的生根培养基上生根效果最佳;在练苗 3 d 时,试管苗移栽的成活率最高,达 95%以上。通过调节生长素与细胞分裂素的浓度比例可以有效的控制菊花丛生芽的分化、生长及生根。

关键词:菊花;激素;组织培养

中图分类号:S 682.1⁺1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2010)16-0154-03

菊花是菊科菊属的多年生宿根草本植物,在我国有悠久的栽培历史。主要靠扦插繁殖,但扦插繁殖均需较多的母株材料,且受季节和外界环境条件的限制,繁殖速度慢,对于一些名贵菊花品种和母株来源不足的品种更不能及时满足生产和市场的需要^[1-3]。组织培养技术除了可进行优良品种的快速繁殖外,还可以进行种质资源保存等。现在不同激素水平的培养基上进行菊花叶片丛生芽和根的诱导及试管苗移栽的研究,以期通过植物组织培养技术实现菊花植株的再生。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以菊花品种‘炼丹炉’为试材,由齐齐哈尔市龙沙公园提供,选择其叶片为外植体。

1.2 试验方法

1.2.1 取材与消毒 选取新鲜幼嫩的叶片,在自来水中洗 2~3 h,用 70%酒精消毒 30 s,用无菌水冲洗后再用 0.1% 升汞消毒 5~7 min,无菌水冲洗 4~5 次。

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。

收稿日期:2010-05-10

1.2.2 愈伤组织的诱导 将叶片切成 0.5 cm × 0.5 cm 小块,接种到 MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 1.0 mg/L 培养基中,每瓶接种 3~4 块外植体,在 25℃培养室中,散射光条件下培养 25 d。

1.2.3 不同激素水平丛生芽的分化 将有愈伤组织产生的叶片,切割成 0.5 cm × 0.5 cm 小块,分别接种在以 MS 为基本培养基,附加不同的 6-BA 和 NAA(表 1),培养 25 d 后统计分化芽的状况。培养条件为温度 25℃,光照强度 1 000~2 000 lx,光照时间 12 h/d。

1.2.4 丛生芽的继代培养 在丛生芽生长以后,把长有丛生芽的愈伤组织块分离或是对长成较高的无根苗切成段,接种于 MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L 的继代培养基。培养条件为温度 25℃,光照强度 1 000~2 000 lx,光照时间 12 h/d。

1.2.5 不同 IBA 浓度对根分化的影响 将产生的 2~3 cm 的芽苗分别接种在不同的 IBA(表 2)的 1/2MS 培养基上,进行诱导生根,弱光下培养 15 d 后观察统计不同 IBA 浓度对根诱导的影响。

1.2.6 练苗与移栽 在芽苗生根后,先将瓶塞打开,让其由无菌环境转至有菌且湿度较低的环境中进行练苗。选择 2、3、4 d 作为练苗时间。练苗后,取出试管苗,用清

a pollution rate 8.33% and survival rate was 33.33%. The optimum callus inducing medium was Murashige and Skoog (MS)+NAA 0.5 mg/L+6-BA 3.0 mg/L with an induction rate was 50.79%. Bulb putting were effectively generated and proliferated on MS+6-BA 3.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L with a differentiation rate was 98.2%. The best rooting medium was 1/2MS+NAA 0.1 mg/L with a rooting rate was 100%. The plantlet was transplanted with a transplanting survival rates up to 95% after a month.

Key words: *Tulbaghia violacea*; buds; callus; regeneration system

水冲洗试管苗上的培养基 而后分别移栽到沙子和土壤 1 : 4 的基质中, 移栽后的前几天要覆上塑料薄膜, 以增加叶表面湿度, 避免强光照射。

2 结果与分析

2.1 植物激素对菊花叶片愈伤组织丛生芽分化的影响

培养基中的生长素和细胞分裂素要有一定比率有利于芽的形成, 提高细胞分裂素的质量浓度, 有利于芽的形成^[1]。从表 1 可知, 当 NAA 浓度相同随着 6-BA 浓

度的变化而变化, 15 种培养基中以 6-BA (3.0 mg/L)和 NAA (0.5 mg/L)诱导丛生芽效果最好, 诱导率达到了 74.6%, 并且丛生芽生长状况良好, 芽高而粗壮。没有死亡和萎蔫的现象出现(图 1、2)。

由表 1 可知, 6-BA (1.0 mg/L)和 NAA (0.5 mg/L) 的浓度配比产生的丛生芽率也比较高, 在 68%左右, 但试验观察中发现, 这一激素配比的丛生芽生长状况不好, 芽小、不茁壮, 丛生芽的腋芽会有萎蔫死亡现象出现



图 1 叶片愈伤组织

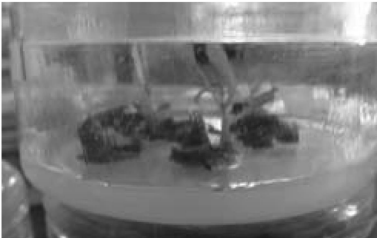


图 2 叶片愈伤组织产生的丛生芽



图 3 继代培养

当 6-BA 的浓度相同时, NAA 的用量以 0.5 mg/L 最好, 高于或低于这个浓度丛生芽的诱导率均有所下降, 最适丛生芽诱导的培养基为MS+6-BA (3.0 mg/L)+NAA (0.5 mg/L), 菊花叶片愈伤组织丛生芽的分化需要较高的细胞分裂素。

表 1 不同浓度的激素对丛生芽分化的影响

激素浓度/ mg · L ⁻¹		叶片 /块	丛生芽 /个	出芽率 /%
NAA	6-BA			
0.1	1.0	65	21	32.3
0.1	2.0	60	12	20.0
0.1	3.0	61	40	65.5
0.1	4.0	61	1	1.6
0.1	5.0	62	0	0.0
0.5	1.0	56	38	68.0
0.5	2.0	53	27	50.9
0.5	3.0	63	47	74.6
0.5	4.0	54	0	0.0
0.5	5.0	67	1	1.4
1.0	1.0	70	25	35.7
1.0	2.0	66	12	18.1
1.0	3.0	54	35	64.8
1.0	4.0	56	0	0
1.0	5.0	48	0	0

2.2 芽的继代培养和扩大增殖

长有丛生芽的愈伤组织块和切段的无根苗, 在 MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L 的继代培养基上 15 d 即可长成 2~3 cm 的无根苗(图 3), 因此, 此培养基可用于扩大培养增殖的培养基, 使其分化出更多的芽, 达到对分化的丛生芽进一步的扩大培养。

2.3 不同浓度 IBA 对丛生芽生根的影响

培养基中提高生长素质量浓度, 有利于根的形成,

据试管苗生根率、根的分化数目、根的平均长度和苗的高度 4 项指标进行综合评判, 在 3 种 IBA 的浓度的 1/2MS 培养基中均可诱导芽苗生根, 生根率在 100%, 但在 1/2MS+0.5 mg/L IBA 的培养基诱导生根壮苗效果最好, 能促进根的分化、根的生长和苗的生长, 根的平均长度为 32 mm, 苗平均高度为 33 mm(表 2 和图 4), 1/2MS+0.5 mg/L IBA 的培养基可作为诱导生根的最佳培养基。

表 2 不同 IBA 浓度对丛生芽生根的影响

IBA 浓度 /mg · L ⁻¹	根分化的平均数 /个	根的平均长度 / mm	苗高 / mm
0.1	2	18	21
0.5	5	32	33
1.0	4	25	16

2.4 试管苗的移栽

在练苗 3 d 时, 试管苗移栽的成活率最高, 达 95%以上, 少于或多于这一时间, 都会引起成活率下降. 这可能是练苗时间短, 幼苗还不能很好地适应环境变化; 而练苗时间过长, 则易感染细菌、病毒。

由于室内组织培养苗一直在比较优越的环境下生长, 幼苗抗病和抗干旱等能力较弱, 一旦出瓶种植, 环境发生了较大的变化, 幼苗的成活率将直接受到影响, 所以移栽初期的管理是移栽成功的关键^[3]。刚移栽的幼苗, 由于根系供水缓慢, 要避免强光照射和增加叶表面湿度。但这一时期不宜维持时间过长, 长时间的高湿度有利于猝倒病菌的繁殖, 幼嫩的菊苗最易受到病菌侵害, 所以在移栽 2 d 后要适当增加光照和减少湿度。



图4 试管苗生根



图5 生根苗移栽

3 讨论

愈伤组织是一种无特定结构和功能的组织, 一般认为诱发愈伤组织成败的关键不在于植物材料的来源, 而在于培养条件的好坏。植物的各种组织, 在合适的条件下, 都能形成愈伤组织。愈伤组织的形成和分化, 不仅与激素的绝对含量有关, 而且还取决于细胞分裂素和生长素的比例, 激素水平对愈伤组织再分化关系密切, 随激素水平的提高外植体的分化率增加, 芽的分化系数也提高, 但激素浓度过高和生长素与细胞分裂素配比失调, 易导致外植体的死亡和不生长, 为了研究激素对愈

伤组织再分化的影响, 设计了5个梯度的6-BA和3个梯度的NAA, 进行了对比试验, 不同培养基对丛生芽的分化有显著的差异。

培养基中的生长素和细胞分裂素要有一定比率, 比率正确与否是决定生芽和生根的关键。提高细胞分裂素的质量浓度, 有利于芽的形成; 提高生长素质量浓度, 有利于根的形成; 二者处于一定平衡质量浓度时, 则有利于愈伤组织的形成。该试验在促进外植体形成不定芽, 使用一定量分裂素和生长素, 一般浓度不能过高。否则不但使器官分化能力降低, 也使遗传性难以稳定。直接通过愈伤组织分化成丛生芽, 提高了出芽率和缩短了繁殖时间, 并筛选出丛生芽最适培养基。在根的诱导过程中, 降低了无机盐的浓度, 芽苗在含有生长素的IBA的培养基中均可生根。

参考文献

- [1] 曹孜义, 刘国民. 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.
- [2] 杨波, 康明. 非洲菊组培快繁技术研究[J]. 湖北农业科学, 2000(2): 48-49.
- [3] 周瑞玲, 吴雨龙. 菊花的组织培养及移栽技术初探[J]. 江苏林业科技, 2001, 28(2): 23-24.

Study on Tissue Culture of *Chrysanthemum*

YUAN Cheng-zhi, LI Bo, YANG Wei-ran

(College of Life Science and Engineering, Qiqihar University, Qiqihar, Heilongjiang 161006)

Abstract: Taking *Chrysanthemum* leaves as explant, the callus using MS+2.0 mg/L 6-BA+1.0 mg/L NAA medium on chrysanthemum leaves were induced, and the cluster buds were secondary culture the effects of NAA and 6-BA of different ratio on differentiation of cluster buds of callus were studied, the effects of IBA concentration on root inducing were studied. The results showed that cluster buds were growth best on the MS+3.0 mg/L 6-BA+0.5 mg/L NAA medium, the 1/2MS+IBA 0.5 mg/L medium was the best to induce root. Living tube seedlings transplanting survival rate over 95% for acclimatization 3 days. Differentiation, growth and rooting of cluster buds could be controlled by the regulation of concentration of auxin and cytokinin.

Key words: *Chrysanthemum*; hormone; tissue culture

关于启用全民阅读报刊行专用标识的公告

按照新闻出版总署的通知要求, 黑龙江省新闻出版局决定于2010年5月起在全省开展全民阅读报刊行活动, 旨在以全民阅读活动为主题, 开展系列宣传报道, 推介龙版优秀出版物, 营造全民阅读的良好氛围。出版局要求各级党报、生活报、新晚报、黑龙江晨报将开设“让书籍走进生活, 让阅读成为习惯”专栏。并请有关各报刊出版单位在专栏的适当位置统一采用专用标识。

