

非洲菊愈伤组织和不定芽的诱导

蔡小东, 胡文静

(长江大学 园艺园林学院, 湖北 荆州 434025)

摘要:以非洲菊带芽短缩茎为外植体, 研究了不同生长调节剂组合对其愈伤组织和不定芽诱导的影响。结果表明: 外植体表面灭菌时间以 0.1%HgCl₂ 处理 10 min 为宜; 愈伤组织诱导适宜培养基为 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.05 mg/L, 而不定芽诱导适宜培养基为 MS+6-BA 2.5 mg/L+NAA 0.05 mg/L。不定芽经过增殖培养和生根培养, 最终再生了生长健壮、叶色浓绿的植株。

关键词:非洲菊; 组织培养; 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(2010)21-0183-03

非洲菊(*Gerbera jamesonii*)是世界六大切花之一, 也是我国重要的商品切花。传统上非洲菊主要以扦插、分株和嫁接进行繁殖, 易受季节和外界环境条件的限制, 且繁殖周期长、速度慢、幼苗质量差^[1-3]。采用组织培养快速繁殖非洲菊, 可以在短时间内大量繁殖种苗, 生产无病毒种苗, 培育新品种, 保持品种资源。近年来, 有关非洲菊的组培快繁已有很多成功的报道。前人研究认为, 花托、茎尖、嫩叶和种子均可作为非洲菊组织培养的外植体^[4-8], 尤其是花托培养^[5-6], 能很好地保持良种的种性。但王红梅^[9]认为花托培养需经过愈伤组织再生阶段, 诱导分化时间长。

带芽短缩茎作外植体, 具有诱导分化时间短、芽苗增殖率高、取材容易、消毒简单等优点。该研究以非洲菊幼嫩带芽短缩茎为外植体, 进行非洲菊愈伤组织和芽的诱导并进行植株再生, 旨在筛选最佳的外植体灭菌时间、探讨不同培养基配方对非洲菊茎段愈伤组织和芽诱导的影响以及植物激素对芽增殖和生根的影响, 探寻适宜非洲菊茎段快速繁殖的方法。为非洲菊的种苗生产提供依据, 以降低成本, 保证产量和质量, 满足市场的更高需求, 并为非洲菊基因工程育种奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

从非洲菊(*Gerbera jamesonii*)新抽出的嫩枝上采集

幼嫩带芽短缩茎, 每一茎段长约 10 cm。

1.2 试验方法

1.2.1 外植体处理 将外植体用自来水冲洗 30 min 后, 在无菌条件下先用 75%酒精浸泡 10 s, 再用 0.1% HgCl₂ 溶液消毒。消毒时间分别设置 5、10 及 15 min 3 个时间梯度, 消毒处理后分别用无菌水冲洗 5~6 次。将表面消毒后外植体切成约 1 cm 长的带 1 个的芽茎段备用。

1.2.2 愈伤组织和芽的诱导 以 MS 为基本培养基, 通过添加不同浓度 6-BA (1.0、2.5、5.0 mg/L)和 NAA (0.01、0.05、0.1 mg/L), 共设计 9 种培养基(表 1)。所有培养基均添加 30 g/L 蔗糖和 7.0 g/L 琼脂, pH 5.8。每种培养基接种 10 瓶, 每瓶接种 3 个外植体。在温度 (25±2)℃、光照时间 14 h/d 条件下培养 30 d 后统计愈伤组织和芽的诱导率。

表 1 诱导培养基激素配方			mg · L ⁻¹
编号	6-BA	NAA	
A	1.0	0.01	
B	1.0	0.05	
C	1.0	0.10	
D	2.5	0.01	
E	2.5	0.05	
F	2.5	0.10	
G	5.0	0.01	
H	5.0	0.05	
I	5.0	0.10	

1.2.3 芽的增殖培养及生根培养 将再生的芽用手术刀片切下, 转移到培养基 J (MS+6-BA 1.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L)上进行增殖培养。每瓶接种 1 个芽, 60 d 后观察芽的增殖情况。将 2~3 cm 长芽切下并接种到生根培养基 K (1/2MS+NAA 0.1 mg/L+0.5 g/L 活性炭)上, 30 d 后观察生根情况。

第一作者简介: 蔡小东(1978-), 男, 博士, 讲师, 现主要从事园艺植物生物技术方面的研究工作。E-mail: caixiao.dong@163.com。
基金项目: 长江大学博士启动基金资助项目(801190010101)。
收稿日期: 2010-07-29

2 结果与分析

2.1 不同灭菌时间对非洲菊外植体灭菌效果的影响

植物组织培养中污染是一个普遍存在的现象,尤其是田间栽培植株作为外植体时,表面消毒是十分重要的环节。非洲菊外植体对 HgCl₂ 消毒时间的长短反应很敏感(表 2)。用 0.1%HgCl₂ 处理 5 min, 处理后的材料仍保持绿色,无死亡材料,但污染率高达 38.3%;HgCl₂ 处理 15 min 时,污染率降低,但材料褐化严重,而且培养后不能恢复正常,死亡率升高。HgCl₂ 处理 10 min 污染率为 22.2%,处理后外植体部分褐色,但培养几天后转为正常,死亡材料很少。因此,对于非洲菊外植体的表面灭菌处理时间,以 0.1%HgCl₂ 处理 10 min 为宜。

如表 3 所示,不同种类、浓度的激素对非洲菊茎段愈伤组织和芽的诱导作用不同。用 1.0 mg/L 的 6-BA 与 0.05 mg/L 的 NAA 组合诱导愈伤组织,即 B 培养基,愈伤组织诱导率最高,达 60%。其次为培养基 C 和 H,诱导率达 53.3%。培养基 A 的愈伤组织诱导率也达到 50%,诱导率最低的是培养基 D 和 G。适合非洲菊茎段诱导愈伤组织的适宜培养基为 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.05 mg/L。激素对芽的产生也是必不可少的。NAA 是产生丛生芽数量的决定因子,当 NAA 的浓度为 0.01 mg/L 时,产生的丛生芽较少,芽的诱导率仅为 3.3%~6.7%;当 NAA 的浓度增加到 0.05 mg/L 时,产生的丛生芽数量明显增加,培养基 E 中芽的诱导率高达 20.0%;但其浓度增加到 0.1 mg/L

表 2 不同处理时间对非洲菊外植体灭菌的影响

外植体	HgCl ₂ 处理 时间/min	外植体数/	污染数/个	污染率/%
带芽短缩茎	5	81	31	38.3
	10	81	18	22.2
	15	81	11	13.6

时,反而对丛生芽的产生具有一定的抑制作用,培养基 H 和 I 中甚至不出芽。因此,适合丛生芽产生的最佳培养基为培养基 E,即 MS+6-BA 2.5 mg/L+NAA 0.05 mg/L。

2.2 培养基中激素对比对诱导愈伤组织和芽的影响

在不同培养基上外植体诱导分化情况不同。培养过程中发现,茎段在培养基 B 上培养 6~7 d 后,基部膨大(图 1A)。继续培养几天后,开始生成小且多、晶莹剔透稍带绿色的愈伤组织颗粒(图 1B),而后愈伤组织慢慢褐化(图 1C)。在培养基 A 上培养 12~15 d 后,腋芽萌发为长约 1.2 cm 的嫩绿色小芽(图 1D)。

2.3 芽的增殖及生根培养

为了获得更多的再生植株,植物离体培养中往往需要将已诱导出的芽进行增殖培养,以获得足够量的芽。试验中由于污染及再生芽的褐化等原因,得到的芽并不多,因此必须将获得的芽增殖。将诱导出的芽转移至培养基 J 中进行增殖培养,在光照条件下培养 30 d 后,获得了大量丛生芽(图 1E)。当增殖培养中的无根苗长至 2~3 cm 时,挑选部分较为健壮的无根苗进行根的诱导,以获得完整的非洲菊植株。将切下的芽接种到生根培养基 K 上,光照培养 10 d 即开始出现白色根状突起。

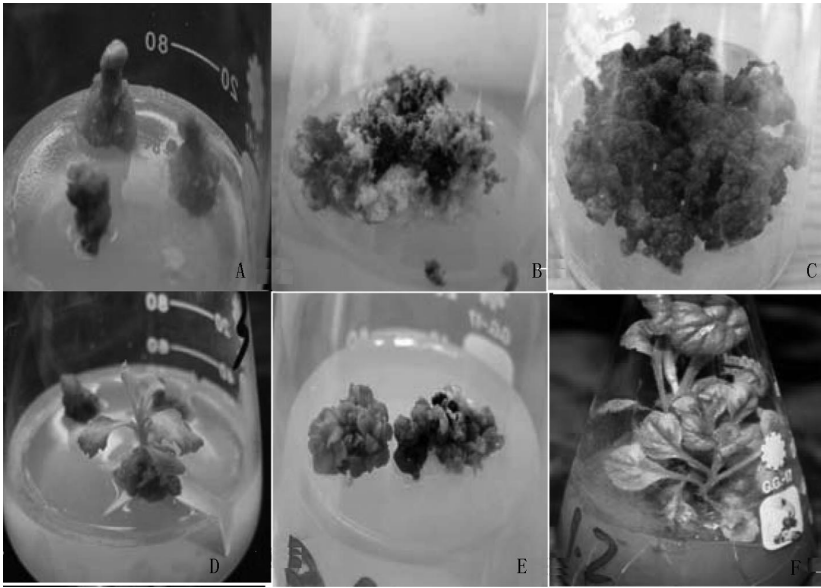


图 1 非洲菊带芽短缩茎的植株再生

注:A.培养 6~7 d 后的芽短缩茎 B.愈伤组织形成 C.愈伤组织褐化 D.再生芽 E.芽增殖 F.完整植株再生

表 3 不同激素对比对非洲菊外植体愈伤组织和芽诱导的影响

培养基种类	接种外植体数/个	再生愈伤组织数/个	愈伤组织诱导率/%	再生芽数/个	芽诱导率/%
A	30	15	50.0	1	3.3
B	30	18	60.0	2	6.7
C	30	16	53.3	1	3.3
D	30	8	26.7	1	3.3
E	30	14	46.7	6	20.0
F	30	10	33.3	1	3.3
G	30	8	26.7	1	3.3
H	30	16	53.3	0	0.0
I	30	12	40.0	0	0.0

15 d 后,根陆续长出、伸长。培养 30 d 后,所有无根苗均生根。根系生长正常,根数多而整齐,白色,细长,平均每株再生 4~6 条根。再生植株生长健壮,叶色浓绿(图 1F)。

3 结论与讨论

在植物组织中,外植体污染直接影响初代培养中无性系建立的速度。选用生长健壮、无病虫害的植株,采取适当的消毒方法,可以在一定程度上降低污染率。试验中发现非洲菊茎段消毒时间过长,茎段褐化严重,易导致坏死;消毒时间过短,消毒不彻底,污染率大幅度上升。而用 0.1%HgCl₂ 灭菌 10 min 消毒效果最好,污染率最低。这与余义和等^[8]的研究较一致。但研究结果也显示污染率还是很大,有待于进一步的研究去解决。

6-BA 和 NAA 对比对非洲菊愈伤组织和芽的诱导有较大影响。该研究中发现用 1.0 mg/L 的 6-BA 与 0.05 mg/L 的 NAA 诱导愈伤组织的效果最好。邓衍明^[10]指出,滁菊诱导芽的萌发采用较高浓度的 6-BA 与低浓度的 NAA 具有较好的萌芽效果。试验中诱导芽萌

发时,2.5 mg/L 6-BA 与 0.05 mg/L NAA 组合诱导出的芽长势良好,诱导率也是最高。激素对于愈伤组织和芽的诱导必不可少,试验中发现较高的激素浓度容易导致非洲菊外植体的褐化、坏死,李辛雷等^[11]也报道了这一现象。总之,组织培养可为大批量培育非洲菊优良品种提供技术保证,为利用基因工程对非洲菊进行遗传改造等方面的研究打下基础。

参考文献

[1] 鲁雪华,郭文杰,林勇.几种因素对非洲菊离体培养再生植株的影响[J].植物生理学通讯,1999,35(5):372-374.
[2] 刘军,赵兰勇,风霞,等.非洲菊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):177-182.
[3] 刘忠荣,洪波.培养因素对非洲菊组织培养的影响[J].广西农业科学,2004(1):19-21.
[4] 曾长立,陶婷,陈禅友.非洲菊的组织培养与快速繁殖[J].江汉大学学报(自然科学版),2005 33(4):35-38.
[5] 高艳明,李建设,李晓娟.非洲菊花托组织培养的研究[J].西北农业学报,2006 15(4):200-202.
[6] 郑秀芳,李名扬.非洲菊花托培养和植株再生[J].西南农业大学学报,2001,23(2):171-173.
[7] 徐立,李克烈,李志英,等.非洲菊的组织培养和快速繁殖[J].热带农业科学,2000(2):26-27.
[8] 余义和,李桂荣,王新娟.非洲菊离体培养体系的优化[J].陕西农业科学,2006(4):36-38.
[9] 王红梅.非洲菊的组培快繁技术研究[M].兰州:甘肃农业出版社,2000.
[10] 邓衍明,石淑稳.滁菊组织培养脱病毒技术与脱毒苗的应用研究[D].武汉:华中农业大学,2006.
[11] 高亦珂,赵勃,丁国勋,等.非洲菊茎叶外植体再生体系的研究[J].北京林业大学学报,2001,23(1):32-33.

Callus and Shoots Induction of *Gerbera jamesoni*

CAI Xiao-dong, HU Wen-jing

(College of Horticulture and Gardening, Yangtze University, Jingzhou, Hubei 434025)

Abstract: The stem nodes with buds of *Gerbera jamesoni* were used as explants, the effects of different hormone combinations on callus and shoots induction were studied. The results showed that the explants were treated by 0.1% HgCl₂ for 10 min. The optimum medium for callus induction was MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.05 mg/L, and MS+6-BA 2.5 mg/L+NAA 0.05 mg/L was suitable for shoots induction. The shoots was multiplied and induced to form roots, and finally vigorous plantlets with dark green color were regenerated.

Key words: *Gerbera jamesoni*; tissue culture; callus; shoot