

# 激素配比对不同基因型菊花再生体系的调控

勾 畅, 武 慧, 将 达, 宁 思 淇, 吕 童, 周 晓 馥

(吉林师范大学 植物资源科学与绿色生产吉林省重点实验室, 吉林 四平 136000)

**摘 要:**以“大金菊”、“桃花仙子”、“紫菊”、“黄半球”4个菊花品种为试材,取花瓣作为外植体,研究了不同激素配比对4种基因型菊花丛生芽及根诱导的影响,进而筛选出适宜不同基因型菊花生长的最优培养基。结果表明:最佳灭菌方法为4% NaClO 灭菌45 s;最佳芽诱导培养基“桃花仙子”为MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L,“紫菊”为MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L,“大金菊”和“黄半球”均为MS+6-BA 1.5 mg/L;“大金菊”最佳生根培养基为1/2MS+NAA 0.05 mg/L+AC 0.4 g/L,其余3个品种均为NAA 0.10 mg/L+AC 0.4 g/L。

**关键词:**基因型;菊花;激素配比;丛生芽;再生体系

**中图分类号:**S 682.1<sup>+</sup>1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)13-0135-03

菊花(*Chrysanthemum morifolium*)属多年生菊科草本植物,具有易成活、花色丰富、观赏价值高等特点。自Hill 1968年利用芽尖诱导愈伤组织进而建立菊花的再生体系以来,国内外对其再生体系进行了大量研究,但大多数都是运用茎段、叶片、茎尖通过产生愈伤组织再诱导分化出芽<sup>[1]</sup>。由于花瓣发育程度高,由它经组织培养产生的幼苗,能够较好地保持原品种的优良特性<sup>[2]</sup>。近年来以花瓣作为外植体的研究越来越多,但大多需要先形成愈伤组织,再生体系建立的周期长<sup>[3]</sup>。且菊花种类繁多,不同种基因型之间最适生长条件存在差异<sup>[4]</sup>,不同基因型菊花最适生长条件会存在差异。

该试验以4种平瓣菊花品种“大金菊”、“桃花仙子”、“紫菊”、“黄半球”为试材,研究了不同激素配比对4种基因型菊花丛生芽及根诱导的影响,以期为进一步深入研究最适再生体系提供技术基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

选取温室培育的4个品种优质的平瓣菊花初开放花瓣作为外植体。

### 1.2 试验方法

1.2.1 外植体消毒 选取长势较好的初开放花蕾,剪去萼片,用洗洁精溶液(立白洗洁精)震荡浸泡10 min,再用自来水冲洗20 min,放入超净工作台中,用70%酒精

浸泡1 min,再用无菌水冲洗1次,然后将花瓣放入不同浓度NaClO溶液中浸泡45 s,取出后用无菌水冲洗4~5次,用无菌滤纸吸干水分待用。

1.2.2 培养基配制 以MS为基础培养基,分别添加浓度配比为4、7.5、10、20倍的6-苄氨基嘌呤(6-BA)和生长素萘乙酸(NAA),琼脂质量浓度为0.7%,蔗糖质量浓度为3.0%,pH 5.6~6.0,经121℃高温高压蒸汽灭菌后,在超净工作台中将培养基分装,做好标记,贮存于-4℃冰箱中待用。

1.2.3 外植体接种与培养 做好消毒工作后,先用镊子剥去花蕾外层的苞片,在不伤到花瓣基部的基础上适当切去花托,取下单个完整的花瓣,对较大花瓣进行切割,长度控制在1 cm内。接种好的外植体放于人工气候培养箱中,培养温度(25±3)℃,光照周期为12 h光照/12 h黑暗,光照强度2 000~3 000 lx。待长出芽后转入继代培养基,培养条件同上,待植株长出6片以上叶子,转入生根培养基,最终形成完整植株。

### 1.3 项目测定

每3 d观察统计数据,计算启动率、出芽率和生根率。启动率=(启动数/未污染且未褐化致死外植体数)×100%,出芽率=长出丛生芽的外植体数/接种的外植体数×100%。

### 1.4 数据分析

试验数据采用统计软件SAS 8.2中的ANOVA过程进行差异显著性分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 NaClO 浓度对4种基因型菊花花瓣灭菌效果的影响

花瓣因其组织结构脆弱,使用灭菌力强、毒性大的

**第一作者简介:**勾畅(1989-),女,硕士研究生,现主要从事菊花遗传转化等研究工作。E-mail:993379790@163.com

**责任作者:**周晓馥(1964-),女,博士,教授,硕士生导师,现主要从事植物基因工程等研究工作。E-mail:zhouxiaofu@jlnu.edu.cn

**基金项目:**国家自然科学基金资助项目(31070224)。

**收稿日期:**2013-03-04

灭菌方式如升汞、氯气等会对花瓣活性造成较大影响。该试验综合考虑选择相对适中的次氯酸钠灭菌法。由表 1 可以看出,不同浓度次氯酸钠对花瓣活性和染菌情况影响不同。随 NaClO 浓度升高,4 种基因型菊花启动率和染菌情况均呈下降趋势,在 NaClO 浓度到达 3.0%

时“桃花仙子”无污染情况,而“大金菊”、“紫菊”、“黄半球”在 NaClO 浓度达到 4.0%时才无污染情况。综合考虑,选取 NaClO 浓度 4.0%为 4 种基因型菊花共同的最优灭菌条件,此时灭菌效果最好且对外植体活性损伤最小。

表 1 不同 NaClO 浓度对 4 种基因型菊花花瓣灭菌效果的影响

Table 1 Effects of different concentrations of NaClO on the sterilization of four chrysanthemum genotypes's petals

NaClO 浓度/%	“大金菊”		“桃花仙子”		“紫菊”		“黄半球”	
	启动率/%	污染情况	启动率/%	污染情况	启动率/%	污染情况	启动率/%	污染情况
0.5	79.76	++	80.47	++	90.19	++	78.04	++
1.0	80.95	++	77.38	+	84.31	++	73.17	++
2.0	73.81	+	69.05	+	82.35	+	61.44	++
3.0	64.28	+	62.19	—	92.16	+	57.83	+
4.0	65.48	—	51.19	—	80.39	—	44.57	—
5.0	46.43	—	30.95	—	78.43	—	25.61	—

注:++污染率较高;+污染率较低;—无污染。

## 2.2 不同激素配比对 4 种基因型菊花丛生芽诱导的影响

从表 2 可以看出,不同浓度配比的 6-BA 和 NAA 处理对不定芽诱导率的影响差异明显。“大金菊”在 6-BA 1.5 mg/L 处理时,不定芽的增殖数较多,显著高于其它培养条件的结果( $P<0.05$ );“桃花仙子”随 6-BA 与 NAA 比例升高出芽率逐渐升高,在 6-BA 1.5 mg/L 和 6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L 处理时,显著高于其它培养条件的结果( $P<0.05$ );“紫菊”在 5 种浓度配比处理下出芽率先升高再降低,在 6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L 处理时,芽点的增殖数较多,显著高于其它培养条件的结果( $P<0.05$ );“黄半球”随 6-BA 与 NAA 比

例升高出芽率经历降低,升高再降低过程,最低比例和最高比例时差异不显著,在 6-BA 1.5 mg/L 处理时,不定芽的增殖数较多,显著高于其它培养条件的结果( $P<0.05$ )。

在相同激素配比下,不同基因型菊花平均出芽率存在差异,其中“大金菊”和“黄半球”差异性最小。通过综合分析,不同基因型的菊花在不同的培养条件下,所诱导不定芽情况差异显著,应结合不同菊花基因型的自身生长条件确定激素配比。6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L 为“桃花仙子”芽诱导最适培养基,6-BA 1.5 mg/L 为“大金菊”、“黄半球”芽诱导最适培养基,6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L 为“紫菊”芽诱导最适培养基。

表 2 不同激素配比对 4 种菊花花瓣芽诱导的影响

Table 2 Effects of different combinations of hormone on buds' induction from petals in four chrysanthemum cultivars

激素浓度 /mg·L <sup>-1</sup>	“大金菊”		“桃花仙子”		“紫菊”		“黄半球”	
	出芽率/%	形态	出芽率/%	形态	出芽率/%	形态	出芽率/%	形态
MS+6-BA 2.0+NAA 0.5	46.50aB	+	13.82cD	++	16.02cC	+	29.13bBC	+
MS+6-BA 1.5+NAA 0.2	36.13aBC	++	25.06bC	+	18.73bC	+	20.48aBC	+
MS+6-BA 1.0+NAA 0.1	45.87aB	+	36.94aB	+	73.60aA	+++	43.25aB	++
MS+6-BA 1.5+NAA 0.0	68.60aA	++	57.46bA	+++	42.68bAB	++	67.60aA	+++
MS+6-BA 2.0+NAA 0.1	27.27abC	+	61.47aA	+++	35.23bB	++	29.73aBC	++

注:以上试验重复 3 次,每次重复 3 盘以上,每盘接种 10 个外植体,试验结果为 3 次重复的平均值;不同大写字母表示同列数据之间差异显著( $P<0.05$ ),不同小写字母表示同行数据之间差异显著( $P<0.05$ );“+++”丛生芽为绿色,生长迅速,极少有畸形芽;“++”丛生芽为黄绿色,生长较为迅速,畸形芽较少;“+”丛生芽为黄绿色呈半透明状,矮小肿胀,生长较慢,畸形芽较多。

## 2.3 不同激素配比和活性炭浓度对 4 种基因型菊花生根的影响

以 1/2MS 为基本培养基,加入适宜浓度激素和对

生根有很大促进作用的活性炭。由表 3 可知,不同浓度的 NAA 和活性炭的组合对不同菊花再生植株的生根效果不同。

表 3 不同生根培养基对 4 种菊花生根率的影响

Table 3 Effects of different root medium on rooting rate in four chrysanthemum

处理组合	培养基	生根率/%			
		“大金菊”	“桃花仙子”	“紫菊”	“黄半球”
1	1/2MS+NAA 0.05 mg/L	66.67±0.843c	43.23±0.776d	73.69±0.927d	47.61±0.598d
2	1/2MS+NAA 0.10 mg/L	54.22±0.296d	83.04±1.681c	80.64±0.777c	56.00±0.620c
3	1/2MS+NAA 0.05 mg/L+AC 0.4 g/L	93.38±1.116a	86.87±0.170b	95.71±0.377b	63.01±0.996b
4	1/2MS+NAA 0.10 mg/L+AC 0.4 g/L	73.69±0.649b	100.00±0.00a	100.00±0.00a	76.11±0.184a

注:以上试验重复 3 次,试验结果为 3 次重复的平均值。同列数据后不同小写字母之间表示差异显著( $P<0.05$ )。

4种基因型菊花在添加活性炭为0.4 g/L的2种处理中生根率均高于未添加的。“大金菊”在处理3中生根率最高,且处理1大于处理2,所以在NAA 0.05 mg/L时“大金菊”生根效果好。“桃花仙子”、“紫菊”、“黄半球”在处理4时生根率最高,NAA 0.1 mg/L时生根效果好。

### 3 结论与讨论

该试验以4种基因型菊花花瓣作为外植体,不经脱分化产生愈伤组织阶段,直接诱导产生丛生芽,再进行继代和生根培养,建立完整再生体系,既节约时间又节约成本。菊花茎段、叶片等被覆绒毛容易包藏细菌,该试验中选用相对洁净的花瓣作为外植体,其染菌率较低。对于个别染菌较轻个体可采用适当浓度抗生素(如氨苄青霉素)配制灭菌水<sup>[5]</sup>对其进行冲洗或在培养基中加入适量浓度氨苄青霉素配制抑菌培养基,但过高浓度会对植物生长产生影响。

基因型是影响菊花组织培养条件的重要因素,该试验结果表明,4种基因型菊花在激素配比相同的培养条件下丛生芽诱导率不同,表明4种基因型菊花的再生培养条件不同。许多研究者对菊花最适的芽诱导激素配比进行探究但结果不尽相同,如李力艺等<sup>[6]</sup>、肖志坚等<sup>[7]</sup>指出,丛生芽诱导的最佳培养基为6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L。该试验得出4种菊花最适的芽诱导培养基分别为MS+6-BA 1.5 mg/L(“大金菊”和“黄半球”)和MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L(“桃花仙子”)和MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L(“紫菊”)。这可能与所选菊花基因型不同有关。菊花较易生根,党云萍等<sup>[8]</sup>指出基础培养基或添加少量NAA、IBA都能产生根系,但添加活性炭的处理较少。在培养基中加入活性炭能大大缩短生根时间,促进生根及根的

伸长生长<sup>[9-10]</sup>,还促进组培苗上部叶片浓绿,生长旺盛,添加0.2%~0.4%的活性炭诱导生根效果最好<sup>[11]</sup>。该试验的最佳生根培养基为1/2MS+NAA 0.05 mg/L+AC 0.4 g/L(“大金菊”)和1/2MS+NAA 0.1 mg/L+AC 0.4 g/L(其余3个品种),生根快且根系粗壮发达。

虽然对菊花再生体系建立的研究已较为完善,但在不同基因型与激素配比之间的关系还有待进一步深入研究,该研究成功建立了“大金菊”、“桃花仙子”、“紫菊”、“黄半球”的花瓣诱导稳定再生体系。为不同基因型菊花的进一步研究如基因转化等提供技术基础。

### 参考文献

- [1] 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.
- [2] 丁世民,王泽宇,宋健云,等.不同品种菊花组织培养比较研究[J].北方园艺,2011(23):101-104.
- [3] 曾凡力.菊花花瓣的组织培养[J].北方园艺,2007(9):207-208.
- [4] 吴友根.菊花外植体分化诱导及植株再生研究初报[J].中国农学通报,2007,23(12):63-67.
- [5] 高建莉.菊花组织培养中细菌污染的防止[J].云南农业科技,2005(3):24-25.
- [6] 李力艺,侯志钢.菊花组织培养技术初探[J].山西农业科学,2004,32(2):50-52.
- [7] 肖志坚,纪艳,刘德江,等.菊花的组织培养技术[J].园艺与种苗,2012(3):21-23.
- [8] 党云萍,丁媛媛,刘盼盼,等.矮化菊花试管苗生根研究[J].北方园艺,2012(20):112-114.
- [9] 贾春兰,王纪方,杨健荣,等.葡萄试管苗繁殖技术研究[J].中国果树,1992(1):25-27.
- [10] 刘根林,梁珍海,朱军.活性炭在植物组织培养中的作用概述[J].江苏林业科技,2001(10):46-48.
- [11] 张素勤,邹志荣,耿广东,等.几种因素对非洲菊试管苗生根的影响[J].西南大学学报(自然科学版),2007,8(29):76-78.

## Effects of Different Hormone Combinations on the Regeneration of Four Different Chrysanthemum Genotypes

GOU Chang, WU Hui, JIANG Da, NING Si-qi, LV Tong, ZHOU Xiao-fu

(Key Laboratory of Plant Resources Science and Green Production of Jilin Province, Jilin Normal University, Siping, Jilin 136000)

**Abstract:** Taking four genotypes of chrysanthemum ‘Dajinju’, ‘Taohuaxianzi’, ‘Ziju’, ‘Huangbanqiu’ as materials, petals as explants, the effects of different hormone combinations on cluster buds and roots induction of four chrysanthemum genotypes were investigated. The optimal medium for the regeneration of different chrysanthemum genotypes were screened. The results showed that the best method for sterilization was 4% NaClO 45 s; the best medium for buds induction of ‘Taohuaxianzi’ was MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L, for ‘Ziju’, it was MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L, MS+6-BA 1.5 mg/L was the best medium for ‘Dajinju’ and ‘Huangbanqiu’; the best medium for rooting of ‘Dajinju’ was 1/2MS+NAA 0.05 mg/L+AC 0.4 g/L, for the others, the best medium was NAA 0.1 mg/L+AC 0.4 g/L.

**Key words:** genotypes; chrysanthemum; hormone combinations; regeneration system