

菊花愈伤组织诱导的影响因素研究

李翠香, 胡元森, 姜孝先, 李心屹

(河南工业大学 生物工程学院, 河南 郑州 450001)

摘要:以市售盆栽菊花为试材,研究了离体条件下不同外植体来源、外植体大小和不同激素浓度培养基对菊花愈伤组织诱导的影响。结果表明:2 mm 长的茎段作为外植体诱导愈伤组织分化最佳;愈伤组织诱导的最佳培养基为 MS+6-BA 2.0 mg/L+KT 0.5 mg/L,出愈率可以达到 100%,且愈伤组织生长良好,适于进行根苗分化。

关键词:菊花;影响因素;愈伤组织

中图分类号:S 682.1⁺1 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2013)09-0132-02

菊花(*Chrysanthemum morifolium* L.)属菊科菊属多年生宿根草本植物,原产我国,现已成为世界性的重要花卉,其产销量居四大切花之首^[1]。菊花目前主要以扦插和分株进行繁殖,但存在着繁殖系数低、幼苗质量差等问题^[2]。利用组织培养技术进行菊花的快速繁殖,已成为菊花繁殖的重要手段,在菊花种苗生产中得到了广泛应用^[3-6]。该试验针对菊花愈伤组织诱导中的一些重要因素进行了研究,以期对菊花的产业化生产奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试菊花为市售盆栽菊花,外植体试验分别选用叶片、茎和叶柄为试材,不同激素浓度和不同外植体大小试验选用茎为试材。

1.2 试验方法

1.2.1 外植体的消毒和愈伤组织诱导 剪取菊花地上幼嫩部分,用自来水冲洗 2~3 h,在超净工作台内用 70%酒精表面消毒 30 s,再用 2% NaClO 处理 15 min,无菌水冲洗 3 次,然后放入盛有无菌滤纸的培养皿中吸干水分,叶片切成 1.0 cm×1.0 cm 的小块接种于培养基中,茎和叶柄分别切成 0.5 cm 长的小段。每处理接种 8 皿,每皿接 4 块外植体,25℃暗培养,每 2 周转 1 次,愈伤组织产生后转入光照培养,记录接种时间,观察并记录愈伤组织形成、分化情况。

1.2.2 培养条件 以 MS 为基本培养基,其中含蔗糖 30 g/L,琼脂 8 g/L,pH 6.0,高压高温灭菌 30 min。培养基中添加不同激素(表 1)。在室温 25℃、光照时间 12 h/d、光照强度 1 500 lx 条件下培养。

表 1 菊花愈伤组织诱导的激素处理浓度 mg/L

| 激素 | 处理 | | | | | | |
|-------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| | A ₁ | A ₂ | A ₃ | B ₁ | B ₂ | C ₁ | C ₂ |
| IBA | 2.0 | 2.0 | 2.0 | — | — | 3.0 | 3.0 |
| KT | 0 | 0.5 | 1.0 | — | — | — | — |
| 2,4-D | — | — | — | 2 | 4 | — | — |
| NAA | — | — | — | — | — | 0.5 | 1.0 |

2 结果与分析

2.1 不同外植体来源对愈伤组织诱导的影响

叶片小块接种 8 d 后,叶缘向上翻卷,切口处细胞开始膨大;14 d 时切口部位出现明显的愈伤组织,呈黄绿色颗粒状,边缘不规则。而在此期间,茎段切口部位也产生愈伤组织(图 1),而大多数叶柄未发生变化,只有少数材料切口处出现不规则细胞团。接种 14 d 后比较了不同外植体的出愈率。由表 2 可知,茎的出愈率最高,达到 100%;而叶柄的出愈率最低,仅 25%;叶片的出愈率介于二者之间,达到 84%。

表 2 不同外植体对愈伤组织诱导的影响

| 外植体 | 接种数/块 | 愈伤数/块 | 出愈率/% |
|-----|-------|-------|-------|
| 叶片 | 32 | 27 | 84 |
| 茎 | 32 | 32 | 100 |
| 叶柄 | 32 | 8 | 25 |

2.2 外植体大小对愈伤组织诱导的影响

由表 3 可以看出,茎段越短,出愈率越高。当茎段长度约为 2 mm 时出愈率达到最高,为 100%。

表 3 外植体大小对愈伤组织诱导的影响

| 茎段长度/mm | 接种数/块 | 愈伤数/块 | 出愈率/% |
|---------|-------|-------|-------|
| 2 | 32 | 32 | 100 |
| 5 | 32 | 29 | 91 |
| 10 | 32 | 27 | 84 |

2.3 不同激素浓度对愈伤组织诱导的影响

由表 4 可知,A₁、A₂、A₃ 培养基均能诱导出黄绿色、颗粒状的愈伤组织,但产生的愈伤组织数目和大小不

第一作者简介:李翠香(1973-),女,硕士,实验师,研究方向为植物生物技术。E-mail:licuixiang2005@126.com

收稿日期:2013-01-17

同,其中 A₂培养基分化出的愈伤组织最大,出愈率最高,达 100%;B₁培养基上的材料出愈率 96%,但后来多数都变褐、长根,B₂培养基上的材料出愈率虽然也达到 100%,但愈伤组织色泽暗淡,含水量较多,14 d 时完全褐化;接种在 C₁、C₂培养基上的材料不仅出愈率低(分别为 84%和 78%),而且愈伤组织后期培养中也出现褐化现象,相比之下 A₂(即添加 IBA 2.0 mg/L+KT 0.5 mg/L 的 MS 培养基)产生的愈伤组织为最佳,且后期苗分化较好(图 2)。

表 4 不同激素浓度对愈伤组织诱导的影响

| 诱导结果 | 处理 | | | | | | |
|---------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| | A ₁ | A ₂ | A ₃ | B ₁ | B ₂ | C ₁ | C ₂ |
| 接种数/块 | 32 | 32 | 32 | 32 | 32 | 32 | 32 |
| 14 d 后产生愈伤数/块 | 30 | 32 | 27 | 31 | 32 | 27 | 25 |
| 出愈率/% | 93 | 100 | 84 | 96 | 100 | 84 | 78 |



图 1 茎段愈伤组织



图 2 茎段愈伤组织长出的苗

3 讨论与结论

在菊花的组织培养中,一些研究者利用花瓣^[7]、花蕾^[8]或花托^[9]作为研究材料,虽然取得了很好的结果,但取材容易受季节的限制,而以营养器官为材料不但节省了成本,而且取材广泛,适用于大量生产,被研究者广为应用^[10-13]。激素是影响愈伤组织诱导率的重要因素,在菊花组织培养研究中,多选用 6-BA、NAA 的组合诱导愈伤组织^[14-15]。该研究中主要以茎段为外植体,在 MS 培养基+IBA 2.0 mg/L+KT 0.5 mg/L 上进行培养,也获得了较好的效果,为试管苗的大规模生产奠定了基础。

材料消毒是组织培养中最为关键的一步,它决定了

整个试验的成败,而材料的选择对消毒是否彻底至关重要。在该研究中发现,选用较老的材料作为外植体时,即使经过严格的消毒,仍出现了大量污染的情况,不仅如此,较老的材料组织分化成熟,不容易产生愈伤组织,但选择很嫩的材料时,用消毒剂进行表面消毒过程中常会褐化。所以在进行组织培养时,必须选择发育程度适中的材料,并且根据材料选择合适浓度的消毒剂,并把握好处理时间的长短。

参考文献

- [1] 梁称福,易诚,范适,等.菊花组培快繁技术研究[J].湖南环境生物职业技术学院学报,2006,12(3):242-244.
- [2] 于红芳,许刚,李永华,等.菊花品种唐宇金秋组织培养研究[J].河南农业科学,2009(11):114-117.
- [3] 袁成志,李波,杨蔚然.菊花组织培养技术研究[J].北方园艺,2010(16):154-156.
- [4] 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.
- [5] 齐向英,郑丹,张超,等.菊花组织培养研究[J].江苏农业科学,2009(3):63-64.
- [6] 王仁睿,李明福,李桂芬,等.菊花品种“日本红”的脱毒和组织培养[J].植物生理学通讯,2009,45(8):797-798.
- [7] 邓年方,吴桂荣.菊花花瓣的组培快繁技术研究[J].贺州学院学报,2007,23(3):144-145.
- [8] 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.
- [9] 陈海霞,李茂娟.非洲菊不同发育时期的花托诱导愈伤组织的研究[J].广西农业科学,2008,39(1):1-5.
- [10] 晨卉,王艳芳,陈素梅,等.五种菊花近缘植物组织培养研究[J].南京农业大学学报,2009,32(3):30-35.
- [11] 陈雪鹏,吴珏,李雪珂,等.芙蓉菊组培快繁技术的研究[J].中南林业科技大学学报,2012,32(7):100-104,127.
- [12] 郇旭芳,孔祥生,张妙霞,等.勋章菊组培快繁技术研究[J].北方园艺,2011(23):111-113.
- [13] 姜宁宁,付建新,戴思.中国传统菊花品种“小林静”再生及转化体系的建立[J].生物技术通报,2012(4):87-92.
- [14] 李秋杰,陈春燕,张吉,等.6-BA 和 NAA 对菊花叶片离体再生的影响[J].长江大学学报(自然科学版),2007,9(4):31-34.
- [15] 郑杰,李素琴,黄红梅.万寿菊组织培养体系的建立[J].北方园艺,2012(6):111-114.

Study on the Factors Affecting the Induction of Callus of *Chrysanthemum morifolium* L.

LI Cui-xiang, HU Yuan-sen, JIANG Xiao-xian, LI Xin-yi

(College of Bioengineering, Henan Technology University, Zhengzhou, Henan 450001)

Abstract: Taking market *Chrysanthemum morifolium* L. as material, the effect of different explants, size of explants and culture media with different kinds and concentrations of hormones on callus induction of *Chrysanthemum morifolium* L. were studied *in vitro*. The results showed that 2 mm stem sections as explants was suitable for callus induction. The best callus induction medium was MS+IBA 2.0 mg/L+KT 0.5 mg/L, with induction rate 100%. Callus developed well, and suitable for seeding differentiation.

Key words: *Chrysanthemum morifolium* L.; influence factors; callus