

亚菊组织培养技术研究

梅 忠

(金华职业技术学院 生物工程学院, 浙江 金华 321007)

摘 要:以亚菊侧芽为外植体,研究了不同浓度配比的 NAA 和 6-BA 对亚菊组织培养过程中芽的诱导、芽的增殖生根的影响。结果表明:亚菊茎段侧芽最佳诱导培养基 MS+6-BA 2.5 mg/L + NAA 0.1 mg/L,增殖培养基为 MS+6-BA 1.5 mg/L+NAA 0.3 mg/L,生根培养基最适蔗糖浓度为 2.5%。

关键词:亚菊;组织培养;NAA;6-BA
中图分类号:S 685.99 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2009)11-0187-02

亚菊(*Ajania pallsiana*),属菊科亚菊属,原产我国,在前苏联及朝鲜也有分布。常绿亚灌木,丛生,通常高 30~60 cm,最高可达 1 m。茎直立,株形开展整齐,易产生根蘖更新,叶背密被白毛,叶缘也呈银白色,深秋开金黄色小花,花量大。适应性强,不择土壤,有良好的抗热性,也较耐寒,在南方地区可以露地越冬,宜作地被,适于片植观赏。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为 1 a 生的亚菊,取其带节茎段为组织培养的外植体。

1.2 试验方法

外植体消毒灭菌:将亚菊茎段放在盛有洗衣粉溶液的烧杯中搅拌约 10 min 后,用自来水冲洗 10 min,除去残留洗衣粉溶液,去叶带少数叶柄。材料在超净工作台。用 0.1%的 HgCl₂ 溶液灭菌 8 min,倒去 HgCl₂ 溶液,用无菌水冲洗 5 次,然后将其切成 1 cm 左右长度的带节茎段。

1.3 培养条件

培养室温度为(23±1)℃,每天连续光照 12 h,光照强度为 1 500~2 000 lx 左右。

2 结果与分析

2.1 侧芽诱导

在无菌条件下,将亚菊外植体切成长度为 1 cm 的带节茎段,接种到诱导培养基上。以 MS 培养基为基本培养基,添加不同种类和浓度的激素进行试验。每个处

理共接种 50 个带侧芽的外植体,3 次重复。接种后 7 d 侧芽开始萌动,14 d 后侧芽开始打开,30 d 统计侧芽的诱导率。最后观察统计芽诱导的株数,比较选择最佳培养基配方。从表 1 可以发现,在不添加生长调节剂的情况下,侧芽的诱导率最低,而且诱导出的芽矮小;只使用 6-BA 而不添加 NAA 的诱导率也不高,且诱导出的侧芽生长情况比较差;而同时加入生长调节剂 6-BA 和 NAA,侧芽的诱导率则明显地提高。在相同浓度的 NAA 条件下,随着 6-BA 浓度的提高,侧芽的诱导率出现了先升后降的现象。在相同浓度的 6-BA 的条件下,随着 NAA 浓度的提高,诱导率出现了类似的情况。由此可见,高浓度的生长调节剂对亚菊茎段侧芽的诱导有抑制作用,适当浓度比率的细胞分裂素和生长素组合可提高侧芽的诱导率。由表 1 可见诱导亚菊茎段侧芽的最佳培养基为 MS+6-BA 2.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L。

表 1 不同浓度的生长调节剂对芽诱导的影响

处理	6-BA /mg·L ⁻¹	NAA /mg·L ⁻¹	接种数	分化数	诱导率 /%
1	0	0	50	11	22
2	1.5	0	50	12	24
3	2.5	0	50	15	30
4	3.5	0	50	13	26
5	1.5	0.1	50	24	48
6	2.5	0.1	50	36	72
7	3.5	0.1	50	28	56
8	1.5	0.2	50	22	44
9	2.5	0.2	50	31	62
10	3.5	0.2	50	25	50

2.2 增殖培养

芽增殖以 MS+6-BA 1.5 mg/L+NAA 0.3 mg/L 为最好,BA 含量低于 1.5 mg/L 芽的增殖率随之递减,高于此含量则将逐渐产生不良反应,直到最后产生玻璃化苗。一般以 25 d 为 1 个增殖周期,基本培养基以 MS 为较好,用 1/2MS 或 1/4MS 则 2 个星期后即产生黄化现象。

作者简介:梅忠(1968-),男,在读硕士,讲师,研究方向为植物遗传育种,现主要从事植物组织培养与植物生态学方面的研究工作。
E-mail: meizhongmz@163.com.
基金项目:金华市科技局资助项目(2004-1-230)。
收稿日期:2009-05-20

表 2 不同基本培养基对芽增殖的影响

处理	6-BA /mg·L ⁻¹	NAA /mg·L ⁻¹	基本培养基	20 d 观察
1	1.5	0.3	1/4MS	产生丛生芽,老叶黄化严重
2	1.5	0.3	1/2MS	产生丛生芽,老叶黄化比较严重
3	1.5	0.3	MS	产生丛生芽,叶色正常

表 3 不同浓度的生长调节剂对芽增殖的影响

处理	6-BA	NAA	增殖系数	20 d 观察
1	1.0	0.3	5.69	丛生芽稀疏叶色正常
2	1.5	0.3	7.58	丛生芽密集叶色正常
3	2.0	0.3	6.81	丛生芽较稀疏有玻璃化苗现象

2.3 生根培养

当试管苗长到 5~6 cm 时,切成 1.0~3.0 cm 左右长度的带节小段,接种到生根培养基。培养条件与增殖培养的条件相同,只是在培养基中除去 6-BA。观察生根情况,比较不同苗高对生根的影响。表 4 说明不同苗高对生根有较大的影响,苗太小太弱影响生根率,所以生根培养时尽量避免太小的苗,一般以 2~3 cm 长的较为健壮的小苗比较适合。

表 4 不同苗高对生根的影响

不同 苗高/cm	NAA /mg·L ⁻¹	接入 株数	10 d 生根情况 1 条 (生根率 %)	20 d 生根情况 1 条 (生根率 %)
1.0	0.1	85	52(61)	77(91)
1.5	0.1	85	76(89)	82(96)
2	0.1	85	79(95)	84(99)
3	0.1	85	82(96)	84(99)

选择相同长度,壮弱相差不多的小苗接种到含有不同蔗糖浓度的培养基中,比较不同蔗糖浓度对生根的影响。结果表明,蔗糖浓度太高或太低都不适宜小苗的生根,当蔗糖浓度为 2.5%时,生根率最高,平均生根数可以达到每株 1.45 条。

表 5 不同蔗糖浓度对根诱导的影响

蔗糖浓度 /%	接种数	平均生根率 /%	平均生根数 /条·株 ⁻¹	平均根长 /cm
1.5	40	77	1.23	0.97
2.0	40	83	1.39	1.21
2.5	40	94	1.45	1.48
3.0	40	88	1.41	1.33
3.5	40	81	1.34	1.26

2.4 练苗移栽

用自来水冲洗干净试管苗根部的培养基,基质可用

泥炭和腐熟锯屑以 3:1 方式混合配制,并加入一定量的多菌灵溶液,基质含水量以手捏指缝中水不滴下为度。移入基质中的小苗前期应注意保持适当的温度和保持 80%的相对湿度,这样练苗 20 d 后可移入营养钵中进入大棚中培养。

3 结论

在亚菊诱导培养的过程中,发现在相同浓度的 NAA 条件下,随着 6-BA 浓度的提高,侧芽的诱导率出现了先升后降的现象。在相同浓度的 6-BA 的条件下,随着 NAA 浓度的提高,诱导率也出现了类似的情况。由此可见,高浓度的生长调节剂对亚菊茎段侧芽的诱导有抑制作用,适当浓度比率的细胞分裂素和生长素组合可提高侧芽的诱导率。经过试验表明亚菊茎段侧芽最佳诱导培养基 MS+6-BA 2.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L,增殖培养基为 MS+BA 1.5 mg/L+NAA 0.3 mg/L,生根培养基最适蔗糖浓度为 2.5%。生根培养时小苗以长度为 2~3 cm 较为适宜,生根率较高。移栽基质用泥炭和腐熟锯屑以 3:1 的比例混合配制,移栽初期喷洒多菌灵以防止病害,并保持较高的相对湿度。

在植物组织培养中,蔗糖是最主要的碳源,也有用果糖和葡萄糖甚至红糖的^[1]。糖在培养基中的作用是维持一定的渗透势,同时影响细胞的生长和次生代谢产物的形成^[2]。当培养基中蔗糖含量过低时,就会影响植物的新陈代谢^[3]。有报道表明,糖对小麦侧根及不定根的形成有重要作用。同时也有试验证明蔗糖可以促进大白菜不定根的发生^[5]。一般认为蔗糖是通过影响植物内源激素的产生而影响不定根的发生的^[4]。

参考文献

[1] 谭文澄,戴策刚.观赏植物组织培养技术[M].北京:中国林业出版社,1991:55-58.
[2] 潘瑞炽,董愚得.植物生理学[M].3版.北京:高等教育出版社,1995.
[3] 刘庆昌,吴国良.植物细胞组织培养[M].北京:中国农业大学出版社,2003.
[4] 郭勇,崔堂兵,谢秀祯.植物细胞培养技术与应用[M].北京:化学工业出版社,2003:138-139.
[5] 李小芳,何玉科,汤章诚.生长素和模拟微重力效应对大白菜不定根发生的影响[J].实验生物学报,2000,32(2):179-187.

Studies on Tissue Culture of *Ajania pallsiana*

MEI Zhong

(Biological Engineering Institute, Jinhua College of Profession and Technology, Jinhua, Zhejiang 321007, China)

Abstract: This paper mainly deals with the study on the tissue culture of *Ajania pallsiana* which took the adventitious shoots as the explant. The result showed that the optimal media for the initiation of the explant was MS+6-BA 2.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L; and that for the proliferation of the bud clusters was MS+BA 1.5 mg/L+NAA 0.3 mg/L. The best sucrose concetration was 2.5%.

Key words: *Ajania pallsiana*; Tissue culture; NAA; 6-BA