

北京小菊组织培养和再生体研究

冯 慧¹, 王建红¹, 王茂良¹, 邵金丽¹, 樊清伟²

(1. 北京市园林科学研究所, 北京 100102;

2. 吉林省通化市绿化管理处, 吉林 通化 134001)

【摘 要】通过不同的基本培养基、不同浓度的6-BA和IBA对小菊叶片再生的影响, 本试验筛选出了最佳的不定芽分化培养基: 1/2MS+6-BA 2.0 mg/L+IBA 1.0 mg/L。

【关键词】北京小菊; 组织培养; 再生率

【中图分类号】S722.37 **【文献标识码】**A **【文章编号】**1671-7252(2006)03-0011-03

北京小菊是菊花 (*Dendranthema morifolium*) 中的一类地被矮生型小菊品种, 植株矮小, 花繁色艳, 花期各异, 花型多样, 在北京园林绿化美化中起到了重要的作用。建立北京小菊再生系统是开展转基因研究的前提条件, 为此, 我们在建立无菌体系的基础上, 对其再生系统进行了研究。

1 材料

1.1 植物材料

建立无菌体系时以生长健壮的北京小菊茎段为外植体, 研究小菊的再生时以在C培养基 (MS+6-BA 1.5mg/L+IBA 0.1mg/L) 上生长30天的健壮无菌苗叶片为试材。

1.2 培养基

本试验所用基本培养基为MS培养基, 大量元素减半的1/2MS培养基和N6培养基, 添加蔗糖30g/L, 琼脂6.0g/L, PH值为5.8~6.0。

1.3 生长素和细胞分裂素

生长素: 吲哚丁酸 (IBA)。

细胞分裂素: 6-苄基腺嘌呤 (6-BA)。

2 方法

2.1 材料的处理方法

建立无菌体系时, 将带有未萌发侧芽的幼嫩茎段除去叶片, 用自来水冲洗约1小时, 在每个侧芽的上下约0.5cm处将其剪成长约1cm的单芽茎段, 然后用1‰的升汞灭菌8分钟, 无菌水冲洗4次, 接种于快繁培养基上。研究再生时, 在超净工作台上用无菌剪刀将北京小菊叶片剪成约0.5cm²大小, 并将其主脉剪伤, 远轴面朝上, 接种于培养基表面。

2.2 培养条件

试管苗每天光照12小时, 光照强度约2000 Lux, 培养温度为25℃左右。

2.3 生长素和细胞分裂素浓度的筛选

采用正交试验设计L₉(3⁴), 将生长素和细胞分裂素按不同的浓度组合添加入三种基本培养基中 (MS、1/2MS、N6), 然后接种北京小菊叶片, 按其再生出植株的外植体的数量筛选出适合于小菊再生的生长素和细胞分裂素浓度及基本培养基。

3 结果

3.1 快繁

将外植体茎段灭菌后接种于C培养基上, 1

【收稿日期】2006-02-18

【作者简介】冯慧 (1974-), 女, 山东泰安人, 北京园林科学研究所工程师, 硕士。研究方向: 园林植物组织培养和转基因。

周后观察, 约有一半出现真菌污染, 另一半处于静止状态; 半个月后观察发现未污染的小菊茎段的腋芽开始萌发; 1 个月后将小芽切割下来, 分别转接于 MS + BA 0.5 ~ 2.0mg/L + IBA 0.1 ~ 0.5mg/L 培养基上, 结果发现小芽在上述培养基上生长良好, 增殖率约为 4, 分化出的小芽可正常伸长, 且生长健壮。因此, 我们认为该培养基适合小菊快繁。

3.2 不同的 BA 和 IBA 浓度组合及基本培养基对北京小菊叶片再生的影响

采用正交试验设计 $L_9(3^4)$, 研究不同的 BA 和 IBA 浓度组合及基本培养基对北京小菊叶

片不定芽再生的影响。小菊叶片接种到不同的培养基上, 7 天后, 叶片伤口处有绿色颗粒状愈伤, 10 天后开始有绿色的芽点出现, 20 天后部分不定芽已开始伸长, 30 天后有更多的不定芽长出, 有些不定芽已长至高约 1cm 左右, 40 天后 7 号培养基上的不定芽生长健壮, 部分已高约 2 ~ 3cm, 如图 1。此时将不定芽剪下, 接于分化培养基 C 上, 5 号和 9 号培养基上的叶片培养 40 天仍无不定芽产生, 如图 2。20 天、30 天、40 天后的统计结果见表 1。对 40 天后的不定芽再生率进行方差分析见表 2。

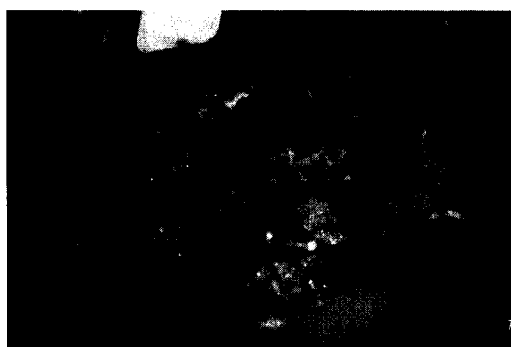


图 1 7 号培养基上培养 40 天小菊叶片再生出大量不定芽



图 2 9 号培养基上培养 40 天小菊叶片无不定芽产生

表 1 不同的 BA 和 IBA 浓度组合及基本培养基对北京小菊叶片再生的影响

培养 基号	6-BA (mg/L)	IBA (mg/L)	基本 培养基	20 天后不定芽 的再生率 (%)	30 天后不定芽 的再生率 (%)	40 天后不定芽 的再生率 (%)
1	1 (2.0)	1 (0.1)	1 (N6)	5.5	5.5	5.5
2	2 (5.0)	1	2 (MS)	5.0	10.4	22.5
3	3 (10.0)	1	3 (1/2MS)	2.3	5.8	27.4
4	1	2 (0.5)	3	32.3	43.5	69.1
5	2	2	1	0	0	0
6	3	2	2	13.8	19.6	27.5
7	1	3 (1.0)	2	35.7	65.8	75.0
8	2	3	3	12.3	30.0	34.0
9	3	3	1	0	0	0
X1	49.9	18.5	1.8			
X2	18.8	32.2	41.7			
X3	18.3	36.3	43.5			

注: X1 对应的 3 个数分别为 6-BA、IBA、基本培养基在 1 号因素下的平均再生率, X2 为其在 2 号因素下的平均再生率, X3 为其在 3 号因素下的平均再生率。

表2 方差分析

变差来源	SS	DF	MS	F	显著性
BA	1 959.7	2	979.9	8.9	--
IBA	524.8	2	262.4	2.4	--
基本培养基	3 326.7	2	1 663.4	15.2	*
剩 余	219.1	2			

注：显著水平 $\alpha = 0.1$

从表2 方差分析中可以看出，当 $\alpha = 0.1$ 时，基本培养基对不定芽的再生率的影响差异性显著，MS 和 1/2MS 培养基明显优于 N6 培养基，其中又以 1/2MS 培养基略优于 MS 培养基（基本培养基为 1/2MS 下的平均再生率 X3 高于 MS 和 N6 下的平均再生率 X2 和 X1）。6-BA 对不定芽再生率的影响虽然差异性不显著，但 6-BA 为 2.0mg/L 的平均再生率 X1 明显高于 6-BA 为 5.0mg/L 和 10.0mg/L 时的平均再生率 X2 和 X3，因此，最佳的 6-BA 浓度为 2.0mg/L。IBA 对不定芽再生率的影响差异性虽然也不显著，但 IBA 为 1.0mg/L 时的平均再生率 X3 高于 IBA 为 0.1mg/L 和 0.5mg/L 时的平均再生率 X1 和 X2，因此，最佳的 IBA 浓度为 1.0mg/L。据此最佳的基本培养基和 6-BA、IBA 浓度组合为 1/2MS + 6-BA 2.0mg/L + IBA 1.0mg/L。

3.3 生根及移栽成苗

切取高于 2cm 的不定芽，接种到添加不同浓度生长素的 1/2MS 培养基上。在 IBA 浓度为 0.5mg/L 的培养基上，不定芽生长 10 天左右，不定根开始形成，20 天左右形成完善的根系，生根率可达 90%。在不添加激素的 1/2MS 培养基和 IBA 浓度为 0.2mg/L 的 1/2MS 培养基上，

不定根生成的时间较晚（15 天），形成的不定根较细弱。在 IBA 浓度为 1.0mg/L 的培养基上，不定根的生长情况与 IBA 浓度为 0.5mg/L 的培养基上无显著差异，因此，适合小菊生根的最佳培养基为 1/2MS + IBA 0.5 ~ 1.0mg/L。小苗根系生长完善后，及时炼苗移栽至蛭石上，成活率可达 90% 以上。

4 小结

基本培养基对小菊不定芽再生的影响较大，本试验经方差分析，MS 培养基和 1/2MS 培养基显著优于 N6 培养基，这说明 MS 盐分和有机比 N6 更适合小菊叶片再生，其中 1/2MS 又略优于 MS 培养基。北京小菊叶片不定芽再生对激素的要求不严格，在较大的激素范围内（BA 2.0 ~ 10.0mg/L，IBA 0.1 ~ 1.0mg/L）均可诱导出不定芽。经方差分析，不同的浓度诱导产生的不定芽再生率差异不显著，但不同的浓度之间有一定差异，从本试验可以看出，BA 为 2.0mg/L 时，IBA 为 1.0，其不定芽再生率较高。

本试验筛选出适合北京小菊芽增殖的培养基为 MS + BA 0.5 ~ 2.0mg/L + IBA 0.1 ~ 0.5mg/L，适合小菊生根的培养基为 1/2MS + IBA 0.5 ~ 1.0mg/L。
(责任编辑 宋晓华)

Tissue Culture and Plant Regeneration of *Dendranthema Morifolium*

Feng Hui¹, Wang Jian Hong¹, Wang Mao Liang¹, Shao Jin Li¹, Fan Qing Wei²

(1. Beijing Institute of Landscape and Gardening, Beijing 100102, China; 2. Tonghua City Gardening Engineering Administration Office of Jilin Province, Tonghua Jilin 134001, China)

Abstract: The effect of different basic medium and different combination of 6-BA and IBA on the buds regenerating from leaves of *D. morifolium* was studied. The best medium for shoot buds induction and elongation was: 1/2MS + 6-BA 2.0mg/L + IBA 1.0mg/L.

Key Words: *Dendranthema Morifolium*, Tissue Culture, Regenerating Rate