

菊花花瓣的组培快繁技术研究

邓年方, 吴桂容

(贺州学院 生化系, 广西 贺州 542800)

[摘要]以菊花的花瓣作外植体进行组培快繁技术研究,结果表明:外植体用0.1%升汞消毒10min为宜;诱导愈伤组织的最佳培养基为MS+6-BA 1.5mg/L+NAA0.1mg/L;丛生芽形成的最佳培养基为MS+6-BA1.5mg/L+NAA0.1mg/L;用1/2MS+NAA0.5mg/L作生根培养基,生根率可达100%。

[关键词]菊花花瓣;组织培养;快繁

[中图分类号]Q94 **[文献标识码]**A **[文章编号]**1673-8861(2007)03-0144-02

菊花是菊科菊属的多年生宿根草本植物,是我国的传统名花和世界四大切花之一^[1]。长期以来菊花采用分株、扦插等无性繁殖方法进行繁殖^[2],但是传统的繁殖方法易受环境影响,繁殖周期长,随着市场需求的急剧增加,已经不能满足市场日益发展的需要。植物组织培养具有增殖效率高、繁殖速度快的特点,可以用较短的时间和较少的空间生产出大量的试管苗^[3]。比起菊花的茎尖、叶片、茎段、花托等其它外植体,花瓣不仅病毒量少,而且其组织培养具有取材容易、易消毒、繁殖系数高的特点^[4]。本研究以菊花花瓣为材料进行组培快繁试验,旨在为菊花苗的工厂化生产提供更可靠的技术依据。

1 材料与方法

1.1 材料:菊花花瓣

1.2 方法:

将菊花的花瓣用自来水冲洗20min,用70%的酒精浸泡30s,再用0.1%的升汞分别消毒5min、8min、10min、15min,每个处理接种20瓶(表1)。无菌水冲洗4-5次,用无菌滤纸吸干水分。在无菌条件下将花瓣切成5mm×5mm小块,接于不同激素浓度配比的诱导培养基上(表2),每个处理接种20瓶,25d后统计愈伤组织诱导情况。

将愈伤组织转接在诱导丛生芽的分化培养基上(表3),培养15d后统计其分化率;再将丛生芽切成单株后接种到不同浓度激素的生根培养基中(表4),培养14d后统计其生根率及根的生长情况。

培养条件:培养温度为(25±2)℃,光照强度

2000Lx,光照时间为12h/d,空气相对湿度为65%左右。培养基pH值均为5.8-6.0。

在试管苗高3-4cm,且长出根时将瓶口打开,炼苗3d后取出,洗净根部的培养基,移栽到土壤:蛭石=1:1的培养基质中。

2 结果与分析

2.1 消毒时间对外植体存活率的影响用0.1%升汞对菊花花瓣进行消毒,从表1得知,消毒的处理时间过短,消毒不彻底,外植体接种后易感染,时间过长,外植体虽没被杂菌污染,但逐渐枯萎死亡,成活率低。对菊花花瓣而言,消毒的最适时间是10min。

表1 消毒时间对外植体存活率的影响

消毒时间 (min)	5	8	10	15
污染率 (%)	38.0	5.6	0	0
成活率 (%)	42.5	60.3	86.6	36.1

2.2 6-BA浓度对诱导愈伤组织的影响

以MS培养基为基本培养基,加入生长素NAA 0.1mg/L,因6-BA浓度的不同设计了4组试验。

表2 6-BA浓度对诱导愈伤组织的影响

培养基	6-BA (mg/L)	NAA (mg/L)	愈伤组织诱导率 (%)	生长情况 (mm×mm)
1	0.5	0.1	76.2	黄绿色 2.5×1.0
2	1.0	0.1	84.3	黄绿色 1.5×1.5
3	1.5	0.1	99.8	黄绿色 2.5×2.0
4	2.0	0.1	80.6	白色 1.0×0.5

由表2可知,菊花的花瓣切块在4种培养基上

[收稿日期]2007-09-16

[作者简介]邓年方(1979-),女,湖北荆州人,硕士。主要研究方向:植物细胞工程。

大多能形成愈伤组织,但随着6-BA浓度的不同,其愈伤组织的启动和生长速度存在差异:第4种培养基最后长出愈伤组织,愈伤块小,且颜色为白色;1、2种培养基也能较快诱导出黄绿色愈伤组织,但诱导率不高;第3种培养基最先诱导出黄绿色愈伤组织,诱导率高,是诱导愈伤组织的最佳培养基。

2.3 不同培养基对丛生芽形成的影响

以MS培养基为基本培养基,将上步得到的愈伤组织转接在诱导丛生芽的分化培养基上(每个处理接种20瓶),因激素浓度和种类的不同设计了4组实验。培养1周左右,观察到愈伤组织表面陆续长出不定芽(见图1),从表3可以看出,第2种培养基中,平均每块愈伤组织有14个萌芽,是诱导丛生芽的最佳培养基。

表3 不同培养基对丛生芽形成的影响

培养基	6-BA (mg/L)	NAA (mg/L)	IBA (mg/L)	平均每块愈伤组织 出芽数(个)
1	0.8	0.1	0	10
2	1.5	0.1	0	14
3	0.8	0	0.1	5
4	1.5	0	0.1	7

2.4 不同培养基对生根的影响

以1/2MS培养基为基本培养基,因生长素浓度及种类的不同设计了4种不同的生根培养基。将2-3cm高的苗切下来,转移到生根培养基(每个处理接种20瓶),7d左右观察发现大部分试管苗根部开始分化出小根突,再过7d后看到约3-4cm长的根(见图2)。从表4可以看出,第2种培养基中生根状况最好,生根率100%,且根系发达,植株健壮。

表4 不同培养基对对试管苗生根的影响

培养基	NAA (mg/L)	IBA (mg/L)	生根率 %	根的生长情况
1	0.1	0	95.8	根少,苗生长较缓慢
2	0.5	0	100	根长,根系发达,生长快
3	0	0.1	93.4	根少,有愈伤块
4	0	0.5	98.9	根短、粗,有愈伤块



图1: 从愈伤组织分化出的丛生芽



图2: 菊花植株生根

3 小结与讨论

(1) 外植体表面携带有各种污染微生物,在把植物接种到培养基上之前必须进行彻底的表面消毒^[5]。消毒剂的种类很多,除了本试验用的0.1%升汞外,次氯酸钠、次氯酸钙、溴水等也可以使用。但要注意的是,表面消毒剂对植物组织也是有毒的,应正确选择消毒剂的浓度和处理时间,尽量减少组织的死亡,本试验中用0.1%升汞对菊花花瓣消毒,处理10 min效果最佳。

(2) 在菊花花瓣组培快繁的试验中,6-BA和NAA对促进愈伤组织诱导、丛生芽的形成具有显著的效果。诱导愈伤组织和丛生芽的最佳培养基是MS+6-BA 1.5mg/L+NAA 0.1mg/L。

(3) 在生根培养试验中发现,NAA、IBA均易于诱导生根,但1/2MS+NAA 0.5mg/L是最佳生根培养基,植株根系发达,移栽后存活率高。

[参考文献]

- [1] 任旭琴,单志娟.菊花快繁系统中的优化研究[J].安徽农业,2004(12):15-17.
- [2] 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.
- [3] 侯玉杰,朱涛,王晓涛.菊花的组织培养研究[J].信阳师范学院学报,2005,18(3):323-325
- [4] 牛颜冰,姚敏,孟庆章,等.杭白菊花花瓣组织培养初探[J].中草药,2007,38(1):130-133.
- [5] 李俊明,朱登云.植物组织培养教程(第三版)[M].北京:中国农业大学出版社,2005,19-20.