

# 食用菊花花瓣组织培养初探

杨际双<sup>1</sup>, 范姗姗<sup>1</sup>, 李建国<sup>2</sup> (1. 河北农业大学园艺学院, 河北保定 071001; 2. 山东省鄞城县植保站, 山东鄞城 274700)

**摘要** 研究了食用菊花花瓣组织培养过程中不同植物生长调节剂和基因型对愈伤组织诱导和植株再生的影响, 结果表明: 附加 2,4-D 2.0 mg/L + KT 1.0 mg/L 的 MS 培养基愈伤组织诱导率较高, 愈伤组织只在 MS + NAA 0.5 mg/L + 6-BA 2.0 mg/L 培养基上诱导出不定芽。不定芽转移到无植物生长调节剂的 MS 培养基上, 可以得到再生植株。

**关键词** 食用菊花; 花瓣培养; 不定芽; 植株再生

**中图分类号** Q943.1 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2007)16-04831-02

## Preliminary Studies on Petal Culture of Edible Chrysanthemum

YANG Ji-shuang et al (College of Horticulture, Agricultural University of Hebei, Baoding, Hebei 071001)

**Abstract** The effect of plant growth regulators and genotypes on callus and plant regeneration from in vitro culture of edible chrysanthemum petal was studied. The results showed that the efficiency of callus in the MS medium supplemented with 2,4-D 2.0 mg/L and KT 1.0 mg/L were better than others. The adventitious bud only could be induced from callus in the MS medium supplemented with NAA 0.5 mg/L and 6-BA 2.0 mg/L. The regenerated plants were obtained, after the adventitious buds were transferred to MS medium without plant growth regulator.

**Key words** Edible chrysanthemum; Petal culture; Adventitious bud; Plant regeneration

菊花 (*Dendratema morifolium*) 是原产于我国的十大传统名花和世界最主要的切花之一。此外, 它还有食用、药用等多种价值。现代研究表明, 菊花花瓣中不仅含有多种营养物质, 而且含有抗氧化、抗衰老、抗 HIV 和癌细胞的成分<sup>[1-3]</sup>, 尤以食用菊花含量丰富。由于菊花是异质六倍体, 遗传背景复杂, 杂交后代性状分离严重, 并且自交不亲和性很高, 所以通过自交获得自交系不太可能。另外, 通过杂交培育食用菊花新品种需要的时间很长。切花菊通过组织培养诱变可培育出多个品种<sup>[4]</sup>, 但关于食用菊花组织培养研究仅有很少的报道。食用菊花花瓣组织培养中需经过愈伤组织途径产生的植株在花朵直径、花型等花器官特性上出现变异, 可以进行食用菊花诱变育种<sup>[5]</sup>。但是, 在培养过程中存在着植株再生率低等问题。笔者研究了食用菊花花瓣培养过程中不同植物生长调节剂和基因型对愈伤组织诱导和植株再生的影响, 旨在为食用菊花的组织培养、诱变和分子育种提供依据。

## 1 材料与方

**1.1 试验材料** 2005 年 9~10 月底, 选用栽植于河北农业大学标本园菊圃的 6 个食用菊花品种, 即“岩船”、“岩风”、“青森黄”、“延命乐”、“上田黄”和“日本晚菊”。这些品种都是 2004 年从日本引进的。

## 1.2 试验方法

**1.2.1 愈伤组织的诱导。** 从生长健壮、无病虫害的植株上取刚半开放的食用菊花幼嫩花瓣, 先将花瓣用洗洁精水浸泡 15 min, 再用蒸馏水将花瓣冲洗干净, 然后将花瓣放入超净工作台中, 放到 70% 酒精中灭菌 30 s, 用无菌水冲洗 1 次, 最后用 20% 次氯酸钠消毒 10~15 min, 无菌水冲洗 3~4 次。在无菌条件下, 将花瓣切成 0.3 cm 左右的小块, 直接平放于附加不同激素的愈伤组织诱导培养基上, 在温度 25 ℃、光照时间 16 h/d、光照强度约 2 000 lx 的条件下诱导愈伤组织。每瓶 20 块, 每个处理 4 瓶, 培养 3 周后统计愈伤组织的诱导率。

$$\text{愈伤组织诱导率}(\%) = \frac{\text{愈伤组织数}}{\text{外植体数}} \times 100 \quad (1)$$

**1.2.2 愈伤组织的分化。** 选择无污染、无褐变、生长良好的愈伤组织, 在超净工作台上将愈伤组织分割成直径 0.2~0.4 cm 的小块, 转接于附加 NAA 0.5 mg/L、6-BA 2.0 mg/L 和 NAA 0.5 mg/L、KT 3.0 mg/L 的 MS 培养基上诱导不定芽, 每瓶接 5~6 块, 每 2 周继代培养 1 次。在与诱导愈伤组织相同的条件下, 诱导愈伤组织的分化, 培养 30 d 后统计分化率。愈伤组织上分化出不定芽后, 在超净工作台上用手术刀切下愈伤组织上的不定芽, 转接到不添加植物生长调节剂的 1/2 MS 培养基上以促进不定芽生长, 并诱导生根。

$$\text{不定芽诱导率}(\%) = \frac{\text{不定芽数}}{\text{愈伤组织数}} \times 100 \quad (2)$$

$$\text{植株再生率}(\%) = \frac{\text{植株再生数}}{\text{愈伤组织数}} \times 100 \quad (3)$$

## 2 结果与分析

**2.1 植物生长调节剂对食用菊花愈伤组织诱导的影响** 食用菊花的幼嫩花瓣在 MS 附加不同激素的培养基上培养 1 周左右, 花瓣变厚, 开始膨大, 在切口处出现少量愈伤组织。培养 3 周时, 愈伤组织的出现达到高峰, 且形成的愈伤组织为松散颗粒状, 生长旺盛, 有利于进一步诱导芽的形成。表 1 表明, 在不同浓度组合的 NAA + 6-BA、NAA + KT、2,4-D + 6-BA、2,4-D + KT 培养基上, “岩船”的愈伤组织诱导率很低,

表 1 不同品种食用菊花愈伤组织诱导率 %

| 诱导培养基//mg/L | 诱导培养基//mg/L |       |      | 岩船   | 青森黄   | 岩风   |
|-------------|-------------|-------|------|------|-------|------|
|             | NAA         | 2,4-D | 6-BA |      |       |      |
| 0.1         | -           | 2.0   | -    | 25.0 | 100.0 | 78.8 |
| 0.1         | -           | -     | 2.0  | 17.5 | 90.0  | 88.8 |
| 0.5         | -           | 2.0   | -    | 13.8 | 100.0 | 90.0 |
| 0.5         | -           | -     | 2.0  | 22.5 | 93.7  | 93.4 |
| 1.0         | -           | 2.0   | -    | 20.0 | 92.5  | 85.0 |
| 2.0         | -           | 2.0   | -    | 12.5 | 97.5  | 85.0 |
| 2.0         | -           | -     | 1.0  | 12.5 | 95.0  | 86.3 |
| 2.0         | -           | -     | 2.0  | 10.0 | 100.0 | 87.5 |
| -           | 1.0         | 0.5   | -    | 0    | 91.3  | 90.0 |
| -           | 2.0         | 1.0   | -    | 31.3 | 97.5  | 75.0 |
| -           | 2.0         | -     | 1.0  | 16.3 | 92.5  | 92.5 |

而其他 2 个品种的诱导率均在 75% 以上。Endo 等把食用菊

**基金项目** 河北农业大学留学回国人员科研启动基金项目(2004-897)。  
**作者简介** 杨际双(1970-), 男, 山东鄞城人, 博士, 副教授, 从事花卉种质资源与创新研究工作。

**收稿日期** 2007-03-04

花花瓣培养在附加 IAA + KT 的培养基上,其愈伤组织诱导率在 65% 以上<sup>[5]</sup>。而毛洪玉等把地被菊的花瓣附加在附加不同浓度的 2,4-D、6-BA、NAA 和 KT 的培养基上,愈伤组织的诱导率也在 87% 以上<sup>[6]</sup>。该研究表明,食用菊花幼嫩花瓣是诱导愈伤组织的良好材料。另外,某些食用菊花品种的幼嫩花瓣形成愈伤组织受培养基中植物生长调节剂的种类和浓度的影响。

**2.2 植物生长调节剂和基因型对不定芽诱导及植株再生的影响** 将愈伤组织分割成直径约 0.2~0.4 cm 的小块转接于 MS 继代培养基上后,发现只有在附加 NAA 0.5 mg/L + 6-BA 2.0 mg/L 的继代培养基上的愈伤组织继续膨胀,约培养 2 周后这些愈伤组织变为浅绿色。在某些诱导培养基上得到的愈伤组织继代到附加 NAA 0.5 mg/L + 6-BA 2.0 mg/L 的继代培养基上 3 周左右,在愈伤组织表面发生皱褶,并伴随有绿色芽点突起,绿芽点比较集中于愈伤组织的边缘,而中部分布比较少。4 周后,不定芽开始从边缘芽点上长出,随后中部芽点也开始分化出不定芽。愈伤组织的不定芽诱导率随诱导培养基不同而有所不同,而且由于基因型不同,其不定芽诱导率的差异也很大。在试验过程中,除“岩船”的愈伤组织未形成不定芽外,其余品种均在某些诱导培养基的愈伤组织上诱导出不定芽。表 2 表明,不定芽诱导率和植株再生率也受到基因型和诱导培养基中植物生长调节剂的影响。由此可见,食用菊花花瓣培养与切花菊叶片培养<sup>[7]</sup>一样,不同植物生长调节剂的浓度和组合可以有效地控制食用菊花花瓣培养过程中不定芽的分化和植株的再生。研究发现,有 4 个品种的花瓣在附加 2,4-D 2.0 mg/L + KT 1.0 mg/L 的 MS 培养基上形成的愈伤组织上诱导出不定芽,并且得到了再生植株,表明该培养基诱导出的愈伤组织的分化能力较强。

### 3 小结与讨论

试验表明,食用菊花幼嫩花瓣是诱导愈伤组织的良好材料,在附加 2,4-D 2.0 mg/L + KT 1.0 mg/L 的 MS 培养基上愈伤组织诱导率达 75% 以上,并且诱导出的愈伤组织结构疏松,易于分割,生长旺盛,易于诱导不定芽。在附加 NAA 0.5 mg/L + 6-BA 2.0 mg/L 的继代培养基上,愈伤组织不定芽分化率可达 92% 以上。因此,以食用菊花花瓣作为外植体,愈伤组织诱导率和不定芽分化率都比较高。这为利用花瓣组织培养选育新品种打下了良好的基础,也为今后食用菊花的

诱变和分子育种提供了一定的依据。

表 2 植物生长调节剂对不同品种食用菊花不定芽诱导和植株再生率的影响 %

| 品种   | 诱导培养基//mg/L |       |      |     | 不定芽诱导率 | 植株再生率 |
|------|-------------|-------|------|-----|--------|-------|
|      | NAA         | 2,4-D | 6-BA | KT  |        |       |
| 青森黄  | 0.5         | -     | 2.0  | -   | 12.5   | 75.0  |
|      | 2.0         | -     | -    | 1.0 | 39.5   | 30.2  |
|      | 2.0         | -     | -    | 2.0 | 26.3   | 13.8  |
|      | -           | 1.0   | 0.5  | -   | 47.9   | 31.5  |
|      | -           | 2.0   | 1.0  | -   | 28.2   | 15.4  |
|      | -           | 2.0   | -    | 1.0 | 14.9   | 9.5   |
| 岩风   | 2.0         | -     | 2.0  | -   | 13.2   | 7.4   |
|      | -           | 2.0   | -    | 1.0 | 60.4   | 23.0  |
| 延命乐  | 0.5         | -     | -    | 2.0 | 16.4   | 5.5   |
|      | 2.0         | -     | -    | 1.0 | 28.2   | 15.5  |
| 上田黄  | 2.0         | -     | 2.0  | -   | 32.4   | 11.3  |
|      | 2.0         | -     | -    | 2.0 | 13.3   | 4.0   |
|      | -           | 1.0   | 0.5  | -   | 39.7   | 17.6  |
|      | -           | 2.0   | -    | 1.0 | 12.2   | 2.7   |
| 日本晚菊 | 0.5         | -     | 2.0  | -   | 96.3   | 92.5  |
|      | 2.0         | -     | 2.0  | -   | 76.0   | 49.3  |
|      | 2.0         | -     | -    | 2.0 | 23.4   | 11.7  |
|      | -           | 2.0   | -    | 1.0 | 43.6   | 43.6  |

### 参考文献

- [1] MURAYAMA T, YADA H, KOBORI M, et al. Evaluation of three antioxidants and their identification and radical scavenging activities in edible chrysanthemum[J]. J Japan Soc Hort Sci, 2002, 71(2):236-242.
- [2] LEE J S, KIM H J, LEE Y S. A new anti-HIV flavonoid glucuronide from chrysanthemum morifolium[J]. Planta Med, 2003, 69(9): 859-861.
- [3] SINGH R P, AGRAWAL P, YIM D, et al. Acacetin inhibits cell growth and cell cycle progression, and induces apoptosis in human prostate cancer cells: structure-activity relationship with linarin and linarin acetate[J]. Carcinogenesis, 2005, 26(4): 845-854.
- [4] MANDAL K A, CHAKRABARTY D, DAITTA S K. Application of in vitro techniques in mutation breeding of chrysanthemum[J]. Plant Cell Tiss Org Cult, 2000, 60:33-38.
- [5] ENDO M, SASAKI T. Creation of mutants through tissue culture of edible chrysanthemums, chrysanthemum morifolium Ram. I. Especially the relationship among the different explants and variation in their regenerated plants[J]. J Faculty Agri Iwate Univ, 1990, 20:17-33.
- [6] 毛洪玉, 李晓辉, 刘志刚, 等. 地被菊幼嫩花瓣组织培养研究[J]. 沈阳农业大学学报, 2005, 36:68-71.
- [7] KIM Y H, PARK S H, KIM G H, et al. High frequency shoot regeneration from leaf explants of some chrysanthemum cultivars[J]. J Plant Biotech, 2004, 6:51-54.

(上接第 4761 页)

株高度影响。春季番茄群体内部太阳辐射值明显高于冬季;同一季节植株上部明显高于下部;植株群体密度越大内部光照环境越差,其中种植密度最大的密度①主要生产部位的第 3 叶层内总辐射值一直处于番茄光合作用光饱和点之下,限制了番茄植株群体下部光合生产;同时株高影响番茄群体内部的光分布,适当降低株高可以缓解群体内的光胁迫。

### 4 结论

日光温室内长季节栽培番茄,植株群体光环境的主要影响因子包括日照时数、冠层上部总辐射、植株群体结构

(株高、密度等)等。在日光温室番茄生产过程中,从以上几个方面进行田间栽培管理,对改善、提高作物群体光环境将起到一定的积极作用。

### 参考文献

- [1] 郗庆炉,梁云娟,段爱旺.日光温室室内光照特点及其变化规律研究[J]. 农业工程学报, 2003, 19(3):200-204.
- [2] 贺芳芳,吴元中.玻璃温室室内植物层中总辐射分布规律[J]. 气象, 2001, 27(2):25-28.
- [3] 刘克长.山东日光温室温光性能的实验研究[J]. 中国农业气象, 1999, 20(4):34-37.
- [4] 孙治强,王吉庆.黄淮改良型日光温室的设计与性能研究[J]. 农业工程学报, 1996, 12(2):41-47.
- [5] 张福漫.设施园艺学[M]. 北京:中国农业大学出版社, 2001.
- [6] 王铁良,孟少春.单坡温室设计与建造[M]. 沈阳:辽宁科学技术出版社, 2003.