

非洲菊花托愈伤组织的诱导研究

龚娜, 杨涛, 肖军, 陈珣, 王娜, 肇莹, 王红

(辽宁省农业科学院 创新中心, 辽宁 沈阳 110161)

摘要:以温室生长健壮、无病虫害的非洲菊品种太阳和诺苏娜为材料,选取花托为外植体,研究了2,4-D+6-BA和2,4-D+KT不同浓度对非洲菊愈伤组织诱导的影响。结果表明:太阳接种在 $MS+2,4-D 4.0 mg \cdot L^{-1} + 6-BA 0.5 mg \cdot L^{-1}$ 培养基中愈伤组织诱导率最高,为65.0%,太阳的外植体35 d左右开始有愈伤组织出现,诺苏娜愈伤组织诱导率低于太阳,其接种后40 d才出现愈伤组织,但愈伤组织诱导率均较低,诺苏娜接种在 $MS+2,4-D 4 mg \cdot L^{-1} + 6-BA 1.0 mg \cdot L^{-1}$ 培养基中愈伤组织诱导率最高,为45.0%。

关键词:非洲菊;花托;愈伤组织

中图分类号:S682.1⁺1

文献标识码:A

文章编号:1002-2767(2011)03-0021-03

非洲菊(*Gerbera jamesonii* Bolus),属菊科大丁草属多年生常绿宿根草本花卉,别名扶郎花、太阳花、灯盏花等,已成为继世界四大切花之后的第五大切花^[1]。非洲菊花色改良有较大的商业价值,尽管传统杂交育种手段仍是非洲菊遗传改良的主要途径,但以基因工程技术为基础的花色改良已受到众多关注。植物组织培养技术是生物工程研究的基础,是遗传转化、植物改良研究的基本环节之一。现对2种非洲菊品种太阳和诺苏娜愈伤组织诱导进行研究,为基因转化工作奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

试验于2010年2月在辽宁省农业科学院创新中心实验室进行。选用太阳和诺苏娜2个非洲菊品种,株高约30 cm,花梗长40~50 cm,温度适宜可周年开花,适宜于切花生产。

1.2 方法

1.2.1 培养基及培养条件 以MS为基本培养基,附加30%蔗糖和0.55%的琼脂,在此基础上添加不同种类和不同浓度的植物生长调节物质。用 $1 mol \cdot L^{-1}$ 的盐酸或 $1 mol \cdot L^{-1}$ 的氢氧化钠调节pH至5.8,每个培养瓶(200 mL三角瓶)分装30 mL培养基,用耐高温聚丙烯塑料薄膜封口。培养基、无菌水、滤纸、培养皿等均经高压蒸汽灭菌,灭菌压力为 $1.05 kg \cdot cm^{-2}$,保持20 min。光照

培养室温度设定为 $(25 \pm 2) ^\circ C$,光照强度为2 000~3 000 lx,每天光照13 h。

1.2.2 外植体的消毒 分别挑选温室中生长健壮、无病虫害的2个品种的优良母株,切取0.5~1.0 cm大小的花托作外植体,先用自来水流水冲洗30 min后,用毛刷蘸40倍的84消毒液清洗一遍,用无菌水漂洗干净。在超净工作台上,将花蕾用70%酒精浸泡5 s后,用0.1% $HgCl_2$ 消毒6 min,无菌水冲洗3~5次。接种前沥干水分,切去花柄、花萼、苞片,用解剖刀轻轻刮去花托上的管状花及周围的舌状花,根据花托的大小分切成2~4块直径约0.3~0.5 cm大小的外植体。花托的背面朝下接种于诱导培养基中,每瓶接种1个花托。

1.2.3 愈伤组织的诱导 将2个品种的外植体,分别接种在 $MS+2,4-D 4 mg \cdot L^{-1} + 6-BA 0.5 mg \cdot L^{-1}$, $MS+2,4-D 4 mg \cdot L^{-1} + 6-BA 1.0 mg \cdot L^{-1}$, $MS+2,4-D 4 mg \cdot L^{-1} + KT 0.5 mg \cdot L^{-1}$, $MS+2,4-D 4 mg \cdot L^{-1} + KT 1.0 mg \cdot L^{-1}$ 4种愈伤组织诱导培养基上,30 d后继代一次,每处理接种60块外植体,60 d后统计愈伤组织诱导率。整个愈伤组织诱导过程在黑暗条件下进行。

愈伤组织诱导率/% = 产生愈伤组织外植体数/接种外植体数 $\times 100$

2 结果与分析

2.1 不同培养基对外植体愈伤组织诱导速度的影响

将2个品种的外植体分别接种在各处理培养基中,二者愈伤组织的诱导速度不同,太阳的外植体产生愈伤组织的时间明显早于诺苏娜,且在15 d左右切口表面开始膨大,35 d左右开始有愈

收稿日期:2010-12-24

第一作者简介:龚娜(1982-),女,辽宁省沈阳市人,硕士,助理研究员,从事植物组织培养及分子育种等研究。E-mail: doll52133@163.com。

通讯作者:杨涛(1964-),男,辽宁省沈阳市人,博士,研究员,从事植物转基因抗病育种和微生物能源转化领域研究。

伤组织出现,首先都是白色柔软的半透明状非胚性愈伤组织,几天后在此基础上出现浅黄色、疏松、有一定硬度的、颗粒状胚性愈伤组织。白色非胚性愈伤组织生长较快,颗粒状的胚性愈伤组织分散于其中或集中在愈伤组织块中心,相对增殖缓慢,50 d左右各处理都产生愈伤组织。

2.2 不同培养基对愈伤组织诱导的影响

2.2.1 对太阳愈伤组织诱导的影响 由表1可知,2,4-D与6-BA或KT组合均能诱导太阳的花托球产生愈伤组织,但6-BA的效果优于KT,并且6-BA、KT均以低浓度为优;当6-BA、KT浓度为 $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,添加6-BA培养基的出愈率比添加KT培养基的高21.7%;当6-BA、KT浓度为 $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,添加6-BA培养基的出愈率比添加KT培养基的高10.0%;2,4-D $4\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +6-BA $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 是诱导愈伤组织最佳的激素组合,愈伤

组织诱导率最高,为65.0%,形成的愈伤组织大部分呈淡黄色、质地疏松、生长较快,非胚性愈伤比例少。各处理愈伤组织生长状况见图1。

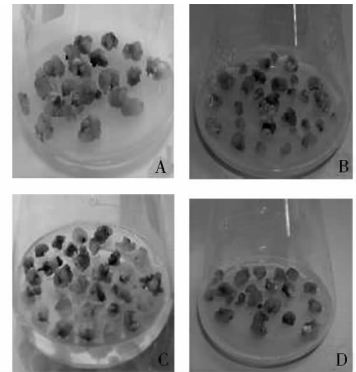


图1 不同培养基对愈伤组织诱导的影响

A:1号培养基;B:2号培养基;
C:3号培养基;D:4号培养基

表1 不同培养基激素配方对太阳愈伤组织诱导的影响

序号	培养基	外植体数 /个	产生愈伤外 植体数/个	愈伤 诱导率/%	愈伤组织状态
1	MS+2,4-D $4\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +6-BA $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$	60	39	65.0	淡黄色、质地疏松、颗粒状
2	MS+2,4-D $4\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +6-BA $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$	60	30	50.0	淡黄色、质地疏松、部分褐化
3	MS+2,4-D $4\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +KT $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$	60	26	43.3	白色、褐化
4	MS+2,4-D $4\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +KT $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$	60	24	40.0	淡黄色、颗粒状、质地疏松、部分褐化

2.2.2 对诺苏娜愈伤组织诱导的影响 由表2可知,诺苏娜虽能诱导出愈伤组织,但愈伤组织诱导率低于太阳,且愈伤组织产生时间明显晚于太阳。其接种后40 d才出现愈伤组织,65 d左右各处理都产生愈伤组织,但愈伤组织诱导率均较低,

相比较MS+2,4-D $4\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +6-BA $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 最好,为45.0%,由此分析,诺苏娜花托中内源细胞分裂素含量可能低于太阳,所以需较高浓度的6-BA。但诱导2个品种愈伤组织的培养基中均为添加2,4-D和6-BA最好。

表2 不同培养基激素配方对诺苏娜愈伤组织诱导的影响

序号	培养基	外植体数 /个	产生愈伤外 植体数/个	愈伤 诱导率/%	愈伤组织状态
1	MS+2,4-D $4\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +6-BA $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$	60	19	31.6	淡黄色、质地疏松
2	MS+2,4-D $4\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +6-BA $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$	60	27	45.0	淡黄色、质地疏松、颗粒状、褐化
3	MS+2,4-D $4\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +KT $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$	60	11	18.3	白色、褐化
4	MS+2,4-D $4\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +KT $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$	60	15	25.0	淡黄色、质地疏松、褐化

以非洲菊花托为外植体,诱导其脱分化所需要的时间与其它植物比相对较长,该试验所采用的2个品种的花托脱分化的时间均是30~40 d才逐渐开始愈伤组织的分化(见图2),而且愈伤组织分化率也相对较低,太阳的分化率最高为65.0%,诺苏娜的分化率最高为45.0%。

3 结论与讨论

非洲菊的组织培养研究在国内已有报道,采用茎尖、叶片、花托、花梗、花萼等外植体进行离体培养都有成功的报道。在众多离体培养的报道中,采

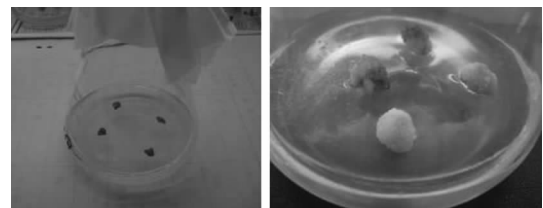


图2 外植体的接种和愈伤组织诱导情况

用花托作为外植体的报道较多。有试验结果表明,幼小的花托是非洲菊最适宜培养的外植体,用其它部位培养,如幼叶、幼叶柄及花梗仅诱导产生愈伤

组织而难以分化成苗,培养茎尖时可得到腋芽分化,但取材受到极大限制,同时也不易灭菌^[2]。

培养基是影响愈伤组织诱导的重要外部因素^[3],尤其是植物生长调节剂的种类及浓度。禾谷类作物组织培养和体细胞胚性诱导过程中,2,4-D的应用十分普遍,主要起脱分化作用。已有的大量研究表明^[4],在玉米幼胚培养中,添加2,4-D是诱导愈伤组织形成的关键因子。该试验研究结果也表明,愈伤组织诱导受其外加激素的影响,还要考虑到各激素之间的互作效应,太阳和诺苏娜均是接种在MS+2,4-D+6-BA培养基中愈伤组织诱导率最高,说明相比之下MS+2,4-D+6-BA培养基更适合非洲菊华托为外植体诱导出愈伤组织。

基因型是影响愈伤组织诱导以及分化的主因素,而培养基中激素配比也是影响愈伤组织诱导率及胚性的关键因素。该试验发现每一种基因型都有其对应的培养基激素配比,这就需要试验来

确定每种材料对应的培养基成分,才能诱导出高质量的胚性愈伤组织,太阳接种在MS+2,4-D 4.0 mg·L⁻¹+6-BA 0.5 mg·L⁻¹培养基中愈伤组织诱导率最高,为65.0%,诺苏娜接种在MS+2,4-D 4 mg·L⁻¹+6-BA 1.0 mg·L⁻¹培养基中愈伤组织诱导率最高,为45.0%,太阳的外植体35 d左右开始有愈伤组织出现,诺苏娜愈伤组织诱导率低于太阳,其接种后40 d才出现愈伤组织。

参考文献:

- [1] 鲁雪华,郭文杰,林勇. 几种因素对非洲菊离体培养再生植株的影响(简报)[J]. 植物生理学通讯,1999(10):372-374.
- [2] 叶华. 非洲菊组织培养和转基因研究概况[J]. 思茅师范高等专科学校学报,2010(3):10-12
- [3] 何遐义,张秀文,石和平,等. 玉米幼胚培养及其影响因素的研究[J]. 中山大学学报论丛,1996(2):19-25.
- [4] Carvalho C H S, Bohorova N, Bordallo P N, et al. Type II callus production and plant regeneration in tropical maize genotypes[J]. Plant Cell Rep., 1997, 17: 73-76.

Study on Callus Induction of *Gerbera Jiamesonii* Receptacle

GONG Na, YANG Tao, XIAO Jun, CHEN Xun, WANG Na, ZHAO Ying, WANG Hong

(Innovation Center of Liaoning Academy of Agricultural Sciences, Shenyang, Liaoning 110161)

Abstract: Taking the Taiyang and the Nuosuna *Gerbera jiamesonii* without diseases and insect as the materials, and the receptacle was selected as explant, the effects of different concentration of 2,4-D+6-BA and 2,4-D+KT on *Gerbera jiamesonii* callus induction were studied. The results showed that, the highest inductivity of the Taiyang callus which growing in MS+2,4-D 4.0 mg·L⁻¹+6-BA 0.5 mg·L⁻¹ medium was 65.0%. The Taiyang explants began to produce callus after 35 days, and the nuosuna explants produce callus after 40 days, due to its low callus inductivity. And the highest inductivity of the nuosuna callus was 45.0%, in MS+2,4-D 4 mg·L⁻¹+6-BA 1.0 mg·L⁻¹ medium.

Key words: *Gerbera jiamesonii*; receptacle; callus

玉米秸秆还田注意事项

秸秆还田可以增肥地力,改善土壤团粒结构和理化性状,提高粮食产量,是发展可持续农业的有效措施。但大多数农户对秸秆还田技术缺乏了解,导致玉米秸秆还田效果不佳,具体表现在部分玉米秸秆还田后的麦田出现出苗率低、苗黄苗弱甚至死苗现象。因此,玉米秸秆还田必须注意以下几点:

- 1 秸秆要切碎 把玉米秸秆趁鲜铡成3~6 cm长的短节,或用机械粉碎,以免秸秆过长土压不实,影响作物的出苗与生长。
- 2 足墒还田 玉米秸秆还田后,由于秸秆本身吸水和微生物分解吸水,会降低土壤含水量。因此,要及时浇水,以促使秸秆与土壤紧密接合。
- 3 补施氮肥 土壤微生物在分解作物秸秆时,需要一定的氮素,会出现与作物幼苗争夺土壤中氮素的现象。所以,要按每100 kg玉米秸秆加10 kg碳酸氢铵的比例进行补施,这样,可以避免作物苗期缺氮发黄。
- 4 数量要适宜 还田的玉米秸秆以4 500~6 000 kg·hm⁻²为宜,多了反而会危害作物根系生长。
- 5 耕翻深度要合理 玉米秸秆还田时,一般应埋入10 cm以下的土层中,耙平压实。同时还应注意本田秸秆还本田。
- 6 防病虫害传播 玉米秸秆还田时要选用生长良好的秸秆,不要把有病虫害的秸秆还田,以免病虫害蔓延和传播。