

菊花珍品梨香菊离体快繁技术研究

邵会会 (唐山园林科学研究所, 河北唐山 063000)

摘要 以梨香菊的幼嫩叶片为外植体, MS为基本培养基, 研究了不同植物生长调节剂及基本培养基对其愈伤组织诱导、增殖、分化及丛生芽增殖和生根的影响, 旨在建立离体快繁体系。结果表明: 用MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.4 mg/L作为培养基可以较快地建立间接再生体系, 诱导愈伤组织; 愈伤组织增殖的最佳培养基为MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 1.0 mg/L; MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.05 mg/L为最佳的分化培养基, 分化的芽数较多, 芽体健壮饱满; MS+6-BA 1.0 mg/L最适合丛生芽增殖, 增殖系数高, 芽体粗壮、质量好; 1/2MS+NAA 1.0 mg/L培养基中梨香菊生根最好。

关键词 梨香菊; 组培; 增殖; 分化

中图分类号 S682.1 **文献标识码** A

文章编号 0517-6611(2023)11-0070-03

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2023.11.016



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Study on the Technique of *in vitro* Rapid Propagation of *Chrysanthemum curiosa* Lixiangju

SHAO Hui-hui (Garden Institute of Tangshan, Tangshan, Hebei 063000)

Abstract The leaves of Lixiangju were used as explant, plant growth regulators and basic mediums were studied on callus induction, multiplication, differentiation and shoot multiplication, rooting and growth. The results showed that use MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.4 mg/L as culture medium to establish indirect regeneration system and induce callus more faster and better. MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 1.0 mg/L was the best culture medium for callus multiplication. MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.05 mg/L was the best culture medium for callus differentiation, the number of buds was more than some other treats, buds stronger and fuller. The vigor of buds was best. When used MS+6-BA 1.0 mg/L as culture medium for shoot multiplication and growth, multiplication coefficient higher, the length of buds longer significantly than other treats. The best rooting medium was 1/2MS+NAA 1.0 mg/L.

Key words Lixiangju; Tissue culture; Multiplication; Differentiation

梨香菊又名白梨香, 花色洁白、素雅, 因具有酷似鸭梨的香味而得名。轻轻晃动花头就有酷似鸭梨的香气扑鼻而来, 更有“盈手生香”的说法, 中花期前香味较浓, 后随花朵绽放程度的提高香味逐渐变淡, 栽培历史达数百年, 是目前中国数千个菊花品种中唯一一个具有特殊香味的菊花品种^[1]。梨香菊的花和茎中含有高浓度的挥发油, 是普通药用菊花的3~10倍, 其绿原素和黄酮类成分含量也较高, 是目前我国药用菊花中黄酮类成分含量最高的菊花品种之一。因此, 其具有较高的保健、药用作用及经济价值。植物组织培养的研究历史可以追溯到19世纪中期, 其发展的理论基础是植物细胞全能性及植物生长调节剂的应用^[2]。采用组织培养的方法对植物进行离体培养, 不仅繁殖系数高、繁殖速度快, 而且还可以进行品种的脱毒复壮、种质资源的离体保存等研究。长期以来, 梨香菊均由扦插和分株的方式进行繁殖, 品种特性有不同程度的退化, 而目前国内外关于梨香菊的相关研究尚鲜见报道。笔者选用梨香菊幼嫩叶片为外植体材料, 旨在建立一套梨香菊的高效再生体系, 为今后其脱毒育苗、育种及其他方面的研究工作提供理论和实践依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料 梨香菊幼嫩叶片。

1.2 试验方法

1.2.1 无菌体系的建立。 选取梨香菊健壮的幼嫩叶片, 流水冲洗20 min, 在无菌条件下用75%乙醇消毒30 s, 再用无菌水冲洗2次, 然后用1.0% NaClO溶液消毒5 min, 最后用无

菌水冲洗4~5次, 将消毒后的叶片于接种盘内切去四周后, 再切成0.5 cm×0.5 cm的小块, 接种在愈伤组织诱导培养基上。

1.2.2 愈伤组织增殖、分化培养。 将获得的梨香菊愈伤组织切成1.0 cm×1.0 cm的小块, 接种于愈伤组织增殖、分化培养基中, 25 d后统计增殖、分化系数, 实时观察其生长状况并记录。

1.2.3 丛生苗增殖培养。 将分化培养获得的无菌苗切成单株, 分别接种于增殖培养基中, 观察侧芽长势, 20 d后统计增殖系数。

1.2.4 试管苗生根培养。 将增殖培养获得的无菌苗接种于生根培养基中, 观察根系生长情况, 20 d后统计生根率。

1.3 试验条件 以上试验均以MS为基本培养基^[3], 添加琼脂7 g/L、蔗糖30 g/L, pH 5.8, 每处理接种10瓶, 每瓶接种3块(株), 光照强度2 000 lx, 光周期12 h/8 h, 温度(25±1)℃。

1.4 数据分析 采用Excel进行数据计算整理, SPASS 16.0进行方差分析, LSD进行多重比较($P < 0.05$)。

增殖系数=增殖后的愈伤组织重量(侧芽数)/接种时愈伤组织重量(芽数)

再生率=再生出不定芽的愈伤组织数/接种愈伤组织数×100%

生根率=生根芽数/接种芽数×100%

2 结果与分析

2.1 无菌体系的建立 将梨香菊叶片消毒后接种在MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.4 mg/L的培养基上, 发现接种5 d后叶片明显膨起、变大, 颜色浅绿, 7 d时叶片表面有透明凸起和丝状体, 叶片边缘有愈伤组织出现, 20 d时整块叶片分化形

基金项目 河北省建设科技研究计划项目。

作者简介 邵会会(1985—), 女, 河北沧州人, 工程师, 硕士, 从事园林植物育种与栽培养护研究。

收稿日期 2022-07-29

成较大的愈伤组织(图 1)。

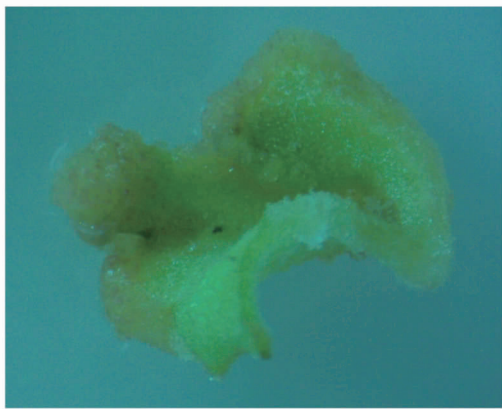


图 1 叶片诱导愈伤组织形成

Fig. 1 Leaf induced callus formation

2.2 不同植物生长调节剂对梨香菊愈伤组织增殖的影响 由表 1 可知,低浓度 6-BA 搭配高浓度的 NAA 对梨香菊愈伤组织增殖具有显著的促进作用,6-BA 与 NAA 的浓度比值为 1:2 时增殖系数明显增高,浓度比为 1:1 时增殖系数明显降低。当 6-BA 1.0 mg/L、NAA 2.0 mg/L 时愈伤组织增殖系数为 4.5,但愈伤组织颜色暗黄,有褐化迹象,活性较差,当 6-BA 0.5 mg/L、NAA 1.0 mg/L 时,愈伤组织增殖系数为 4.7,显著高于其他处理,且愈伤组织黄绿色、质地松脆,表面有小颗粒状凸起(图 2),活性好。因此,该处理为梨香菊愈伤组织增殖最佳植物生长调节剂配比组合。

表 1 不同植物生长调节剂对梨香菊愈伤组织增殖的影响

Table 1 Effect of plant growth regulator on callus multiplication of Lixiangju

生长调节剂浓度 Plant growth regulator concentration//mg/L		增殖系数 Multiplication coefficient	愈伤组织长势 Growth vigor of callus
6-BA	NAA		
0.5	0.5	2.3 e	+
0.5	1.0	4.7 a	+++
0.5	2.0	3.8 c	++
1.0	0.5	3.3 d	++
1.0	1.0	2.1 f	+
1.0	2.0	4.5 b	++

注:同列不同小写字母表示处理间差异显著($P<0.05$)。

Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant differences between treatments ($P<0.05$).

2.3 不同植物生长调节剂对梨香菊愈伤组织分化的影响 由表 2 可知,当 NAA 浓度一定时,不同浓度 6-BA 对梨香菊愈伤组织分化有明显的影响,随着 6-BA 浓度的增加,再生率不断提高,分化的芽数增加,侧芽长势逐渐变好,当 6-BA 浓度为 4.0 mg/L 时,愈伤组织分化情况显著高于其他处理,但不定芽矮小、细弱,部分芽发生了玻璃化,整体分化情况较差。此外,添加低浓度的 NAA 对愈伤组织分化有显著的促进作用,不定芽叶色鲜绿,生长健壮(图 3)。因此,梨香菊愈伤组织分化的最优培养基为 MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.05 mg/L。



图 2 愈伤组织增殖

Fig. 2 Callus proliferation

表 2 不同植物生长调节剂对梨香菊愈伤组织分化的影响

Table 2 Effect of plant growth regulator on callus differentiation of Lixiangju

植物生长调节剂浓度 Plant growth regulator concentration//mg/L		再生率 Regeneration rate//%	平均芽数 Average number of buds	芽的生长状况 Growth vigor of buds
6-BA	NAA			
0.5	0	40.0	2.5 g	++
0.5	0.05	53.3	2.7 f	++
0.5	0.10	46.7	1.6 h	+
1.0	0	66.7	2.9 e	++
1.0	0.05	63.3	3.4 c	++
1.0	0.10	53.3	3.1 d	+
2.0	0	70.0	3.4 c	++
2.0	0.05	76.7	3.8 b	+++
2.0	0.10	60.0	3.5 c	++
4.0	0	73.3	3.8 b	+
4.0	0.05	86.7	4.2 a	+
4.0	0.10	70.0	3.9 b	+

注:同列不同小写字母表示处理间差异显著($P<0.05$)。

Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant differences between treatments ($P<0.05$).

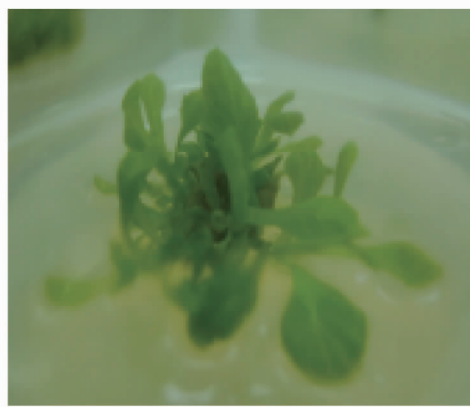


图 3 愈伤组织分化

Fig. 3 Callus differentiation

2.4 不同植物生长调节剂对梨香菊丛生芽增殖的影响 由表 3 可知,添加 NAA 对梨香菊侧芽的增殖具有一定的抑制作用,不同浓度 6-BA 对梨香菊的增殖有明显的影响,随着

6-BA 浓度的增大,增殖系数和侧芽长势均出现不同程度的先增加后降低的迹象,6-BA 为 2.0 mg/L、NAA 为 0 时,增殖系数最高,达 9.5,但芽的长势不强,当 6-BA 浓度为 1.0 mg/L、NAA 为 0 时,虽然增殖系数有所降低,但从生芽健壮饱满,叶色鲜绿,叶片较宽,侧芽长度显著大于其他处理(图 4)。因此,梨香菊丛生芽增殖的最佳培养基为 MS+6-BA 1.0 mg/L。

表 3 不同植物生长调节剂对梨香菊丛生芽增殖的影响

Table 3 Effect of plant growth regulator on shoot multiplication and growth

植物生长调节剂浓度 Plant growth regulator concentration//mg/L		增殖系数 Multiplication coefficient	侧芽长度 Length of buds//cm	侧芽长势 Growth vigor of buds
6-BA	NAA			
0.5	0	6.9 e	2.21 a	++
0.5	0.1	3.2 h	1.62 f	+
1.0	0	8.6 c	2.03 b	+++
1.0	0.1	5.7 g	1.80 d	+
2.0	0	9.5 a	1.97 c	++
2.0	0.1	6.0 f	1.87 d	+
4.0	0	8.9 b	1.73 e	+
4.0	0.1	7.3 d	1.57 g	+

注:同列不同小写字母表示处理间差异显著($P<0.05$)。

Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant differences between treatments ($P<0.05$).



图 4 丛生芽增殖

Fig. 4 Cluster bud proliferation

2.5 不同浓度 NAA 和基本培养基对梨香菊试管苗生根的影响 培养 5 d 时观察到试管苗基部有根系发出,后随培养时间的增加根系不断伸长、长粗。由表 4 可知,随 MS 培养基中无机含量的逐渐降低,梨香菊的生根效果先升高后降低,1/2MS 培养基中生根效果最好。随着 NAA 浓度的升高,生根效果先增加后降低,1/2MS+NAA 1.0 mg/L 培养基中梨香菊生根率 100%,平均根数为 7.1,平均根长 7.36 cm,根系粗壮,植株生长健壮(图 5),显著优于其他处理,生根效果最好。

表 4 不同浓度 NAA 和基本培养基对试管苗生根的影响

Table 4 Effect of different concentration of NAA and basic medium on rooting of test tube seedlings

NAA 浓度 Concentration of NAA//mg/L	基本培养基 Basic medium	生根率 Rooting rate//%	平均根数 Meaning number of roots	平均根长 Meaning length of roots//cm	生长状态 Growth vigor
0.5	1/4MS	100	5.5 g	5.31 g	+
1.0	1/4MS	100	6.7 b	6.79 c	++
2.0	1/4MS	100	5.3 h	4.62 h	+
0.5	1/2MS	100	6.5 c	6.40 e	++
1.0	1/2MS	100	7.1 a	7.36 a	+++
2.0	1/2MS	100	5.9 e	6.17 f	++
0.5	MS	100	5.7 f	6.28 d	++
1.0	MS	100	6.2 d	7.24 b	+++
2.0	MS	100	4.1 i	4.02 i	+

注:同列不同小写字母表示处理间差异显著($P<0.05$)。

Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant differences between treatments ($P<0.05$).



图 5 根系生长情况

Fig. 5 Root growth situation

3 结论与讨论

植物组织培养的理论基础是植物细胞全能性,这种全能性是植物细胞的基本属性,但也只是一种可能性,把这种全能性表现出来植物细胞需经历 2 个过程^[4],一是脱分化,即离体培养条件下生长的细胞、组织或器官经过细胞分裂或不分裂,逐渐失去原来的结构和功能而恢复分生状态,形成无组织结构的细胞团或愈伤组织或未分化细胞特性的细胞的过程^[2];二是再分化,即已经脱分化的细胞在特定条件的刺激下,经过器官发生或胚状体途径形成完整植株的过程^[5]。该研究以梨香菊叶片为外植体,探索了梨香菊细胞脱分化、再分化的培养条件,建立了梨香菊间接再生体系。

目前,关于菊花组培方面的研究较多,马丽华^[6]研究认
(下转第 103 页)

也提升了社会效益。也可以通过在一定的业务范围内减免税收和提供市民补贴,鼓励企业参与海洋牧场日常管理和维护。

4.4 技术保障体系 落实各类科研项目,积极推动科研成果的市场转化。海洋牧场属于新型的应用交叉学科,需要从生物学、生态学、信息学和管理学等各学科的人才。只有争取到各类的海洋牧场项目落户山东,才会吸引全国各地的人才聚集于此。同时,充足的科研经费也是重要保障。各级各部门需要多渠道筹集科研资金,完善科研资金的投入机制,建立海洋牧场专项科研资金。

通过对山东省目前经营性休闲型海洋牧场建设的条件及现状梳理不难看出,虽然海洋牧场建设的自然资源优势非常重要,但是后期对海洋牧场的规划和建设统筹也不容小觑。休闲类海洋牧场的建设仍然应该将生态环境保护放在首要位置,同时将文化、经济、社会价值也纳入建设规划的范畴。在未来海洋牧场的发展必定会给沿海渔村渔民带来良好的经济收益,同时渔村渔民也会反向带动海洋服务业的发展,真正实现三产融合,休闲型海洋牧场必将成为推动海洋产业融合、维护海洋生态平衡的行业典范。

参考文献

- [1] 阙华勇,陈勇,张秀梅,等. 现代海洋牧场建设的现状与发展对策[J]. 中国工程科学,2016,18(3):79-84.

(上接第 64 页)

- [8] 姜伟. 长江上游珍稀特有鱼类国家级自然保护区干流江段鱼类早期资源研究[D]. 武汉:中国科学院水生生物研究所,2009.
- [9] 周岐兵,程飞,王震,等. 长江上游合江江段鱼类早期资源与向家坝水库生态调度效果初步研究[J]. 中国环境监测,2022,38(1):95-103.
- [10] 曾燊,陈永柏,李钟杰. 嘉陵江鱼类资源利用与保护现状[J]. 天津农

(上接第 72 页)

为,菊花“晚熟红”在 $1/2MS+NAA 0.1 \text{ mg/L}$ 培养基中产生的须根数量多且根系比较粗壮;周杨^[7] 研究认为,“中国红”叶片最适分化培养基为 $MS+6-BA 2.0 \text{ mg/L}+NAA 0.2 \text{ mg/L}$;周洲等^[3] 研究认为,小黄花不定芽诱导的最佳培养基为 $MS+6-BA 2.0 \text{ mg/L}+NAA 1.0 \text{ mg/L}$;张红^[8] 研究认为, $MS+6-BA 0.2 \text{ mg/L}+NAA 0.1 \text{ mg/L}$ 最适合绿牡丹的增殖生长。该研究得出的结论与前人的研究略有不同;汪晓沙等^[9] 研究认为,在 $6-BA 1.0 \text{ mg/L}$ 培养基中添加 0.1 mg/L NAA 菊花丛生苗增殖效果最好,而该研究发现,一定浓度的 $6-BA$ 培养基中添加 NAA 对梨香菊丛生苗的增殖具有一定的抑制作用;岳圆圆等^[10] 研究认为,菊花在 $3/4MS$ 培养基中生根效果最好,在 $1/2MS$ 培养基中试管苗地上和地下部分长势均较弱,该研究发现,梨香菊试管苗在含一定浓度 NAA 的 $1/2MS$ 培养基中生根效果最好。

- [2] 赵奇蕾,陈新军. 中国省域休闲渔业竞争力评价与建议[J]. 水产学报,2021,45(8):1415-1429.
- [3] 林淑华,毕田田,丛文君. 山东省海洋资源产业结构及发展趋势的数据分析[J]. 商场现代化,2021(10):179-181.
- [4] 陈斌,徐永臣,徐承芬,等. 山东省海洋空间开发保护现状、问题及对策[J]. 海洋开发与管理,2021,38(3):3-8.
- [5] 山东省人民政府. 山东省人民政府关于印发山东省海洋主体功能区规划的通知[J]. 山东省人民政府公报,2017(26):1-33.
- [6] 刘有刚. 山东省海洋牧场建设现状及管理对策[J]. 海洋开发与管理,2017,34(S2):20-22.
- [7] 丁金强,王熙杰,孙利元,等. 山东省海洋牧场建设探索与实践[J]. 中国水产,2020(1):40-43.
- [8] 于晴. 山东省典型人工鱼礁区增殖效果评价[D]. 青岛:中国海洋大学,2015.
- [9] 张震. 基于海洋牧场建设的休闲渔业开发研究[D]. 青岛:中国海洋大学,2015.
- [10] 贾应云,田涛,尹增强,等. 以山东省贝壳堤岛为例规划历史文旅特色海洋牧场的策略研究[J]. 中国水产,2021(8):59-62.
- [11] 杨红生,杨心愿,林承刚,等. 着力实现海洋牧场建设的理念、装备、技术、管理现代化[J]. 中国科学院院刊,2018,33(7):732-738.
- [12] 陈勇. 中国现代化海洋牧场研究与建设[J]. 大连海洋大学学报,2020,35(2):147-154.
- [13] 李苗,罗刚. 韩国海洋牧场建设经验与借鉴[J]. 中国水产,2020(3):26-28.
- [14] 刘福利,梁洲瑞,张朋艳,等. 中国海带养殖向离岸深水区发展的初步探讨[J]. 渔业科学进展,2019,40(1):161-166.
- [15] 宋昱瑾,田涛,杨军,等. 海洋牧场背景下的休闲渔业旅游发展模式研究[J]. 海洋开发与管理,2022,39(1):110-116.
- [16] 王恩辰. 海洋牧场建设及其升级问题研究[D]. 青岛:中国海洋大学,2015.
- [17] 姜昭阳,郭战胜,朱立新,等. 人工鱼礁结构设计原理与研究进展[J]. 水产学报,2019,43(9):1881-1889.

业科学,2014,20(2):60-62,87.

- [11] 曾燊. 嘉陵江干流鱼类群落生态结构分析[J]. 长江流域资源与环境,2012,21(7):850-857.
- [12] 蒋志刚,马克平,韩兴国. 保护生物学[M]. 杭州:浙江科学技术出版社,1997.
- [13] 罗颖,祁洪芳,闫丽婷,等. 夏季青海湖浮游动物群落结构特征[J]. 海洋湖沼通报,2020(2):137-143.

参考文献

- [1] 郑志华,朱晓华. 浅谈“梨香菊”的栽培要点[J]. 中国园林,1994,10(2):16.
- [2] 巩振辉,申书兴. 植物组织培养[M]. 北京:化学工业出版社,2007.
- [3] 周洲,尹新明,张德强,等. “小黄”菊遗传转化再生体系的建立[J]. 北京林业大学学报,2004,26(5):36-39.
- [4] WHITE P R. A handbook of plant tissue culture[J]. Soil science,1943,56(2):151.
- [5] 程越. 菊花脑再生体系建立的研究[D]. 南京:南京农业大学,2014.
- [6] 马丽华. 菊花高效不定芽再生体系建立及品种间 RAPD 分析[D]. 太原:山西大学,2010.
- [7] 周杨. 菊花再生及遗传转化体系的建立[D]. 沈阳:沈阳农业大学,2016.
- [8] 张红. 菊花珍品绿牡丹的组培技术研究[J]. 北方园艺,2008(3):195-196.
- [9] 汪晓沙,曾丽,彭勇政,等. 不同菊花品种的组培扩繁技术[J]. 上海交通大学学报(农业科学版),2013,31(2):19-23,29.
- [10] 岳圆圆,陈慧,全英杰,等. 菊花“红粉”×“延红”杂交种组培快繁技术[J]. 延边大学学报,2019,41(1):47-50.