

菊花组培再生体系研究进展

丁晓霞^{1,2}

(1. 大连市林业调查与资源监测中心, 辽宁 大连 116021; 2. 大连市林业调查规划院, 辽宁 大连 116021)

摘要:该文综述了近年来菊花再生体系的研究中影响再生体系建立的几点因素,并对菊花再生体系建立过程中存在的问题提出了展望。

关键词:菊花;组织培养;再生体系

中图分类号: S722.37 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-1714(2018)04-0064-03

菊花 *Dendranthema morifolium* 为菊科菊属多年生宿根草本植物,在我国有 20 余种菊属植物分布,栽培菊花品种达 3000 余个。菊花花色丰富、形态优美、品种多样,具有较高的观赏性和药用价值,在城市园林、绿化等方面均有广泛应用。然而随着市场花卉品种竞争的不断加大,市场需求量不断提高,加之传统方式的菊花繁殖速度较慢,新品种培育较为困难,现有的培育方式已经很难满足供给,因此建立菊花的组织培养及新品种选育高效再生体系已成为菊花繁育研究的必然选择。目前已经建立了一些菊花的再生体系,但受各种因素影响,菊花再生体系没有普遍性,有些品种的再生不稳定、再生周期长,这在很大程度上限制了菊花的发展,因此优化培养条件、改善培养基及激素配比,建立与各种基因型相适应的再生体系,已成为研发新品种、快速繁殖的必要前提条件,本文对菊花再生体系建立过程中的一些影响因素进行探讨,为今后获得优良的再生体系及其遗传转化提供参考。

1 外植体的影响

再生体系的建立过程中,外植体的选择尤为重要。不同的外植体由于生长部位、生理状态等存在差异,因此在愈伤组织的诱导、不定芽的分化以及不定芽生根等过程中所得出的结果就会有很大差异,如菊花的茎段、叶片、花器官等均可用于愈伤组

织的诱导。目前,外植体大多选择茎段和叶片,通常在春季剪取幼嫩茎段或新生叶片,先用 75% 酒精震荡浸泡,再用 0.1% 的升汞溶液消毒,具体消毒时间要根据取材部分的幼嫩程度进行筛选。高亦珂等^[1]以地被菊和传统菊花的叶片和茎段为外植体进行再生培养,结果表明在相同条件下以茎段为外植体的诱导愈伤率高于叶片,而叶片的直接分化率高于茎段,叶柄的诱导率最低。裴红美等^[2]对瓜叶菊‘小丑’系列品种的试管苗进行再生体系的研究发现,叶片的再生能力优于叶柄,可能与其不同的组织结构及品种相关。李辛雷等^[3]用不同菊花品种的叶片、茎段等进行再生培养,结果表明不同外植体对相同激素水平的反应不同。刘清波等^[4]以甜叶菊无菌苗的叶片、茎段为外植体,对甜叶菊离体培养及再生体系的建立进行研究,比较 2 种外植体愈伤组织生长情况、愈伤组织诱导率、不定芽出芽率等,结果表明以甜叶菊茎段为外植体要优于以叶片为外植体。程密密等^[5]以翠菊品种库蕾娜的叶片、叶柄、茎段的再生研究表明,茎段为再生体系的最佳外植体,并获得其再生体系。

2 植物激素的影响

植物组织培养过程中,生长素和细胞分裂素对芽、根诱导和增殖分裂起关键作用。生长素单独使用或与细胞分裂素配合使用可以有效促进细胞的

收稿日期:2018-02-28

作者简介:丁晓霞(1979-),女,工程师,主要从事林业勘察设计研究。E-mail:82629693@qq.com。

增殖和持续生长,从而更利于形成愈伤组织。生长素和细胞分裂素浓度的适宜配比不但可以诱导细胞的分裂和生长,还能控制细胞分化和形态建成。菊花再生体系建立中通常使用的生长调节剂有6-BA、IAA、NAA等。杨华等^[6]研究激素配比对非洲菊花托产生不定芽及继代增殖的影响,结果表明,MS+6-BA 10.0 mg·L⁻¹+NAA 0.2 mg·L⁻¹能够促进不定芽的形成,MS+6-BA 1.0 mg·L⁻¹+NAA 0.2 mg·L⁻¹有利于不定芽的增殖,MS+NAA 0.25 mg·L⁻¹+IAA 0.25 mg·L⁻¹能促进生根。周洲等^[7]建立了‘小黄’菊再生体系,筛选出最适分化培养基分别为MS+6-BA 2 mg·L⁻¹+NAA 1 mg·L⁻¹和MS+6-BA 1 mg·L⁻¹+NAA 0.1 mg·L⁻¹,最佳生根培养基为1/2MS+NAA 0.1 mg·L⁻¹。赵子刚等^[8]筛选出万寿菊最适分化培养基为MS+6-BA 3.0 mg·L⁻¹+IAA 3.0 mg·L⁻¹+蔗糖 30.0 g·L⁻¹+植物凝胶 6.0 g·L⁻¹,不定芽分化率达97.5%;而单独使用NAA或6-BA时,叶片均不能分化出芽。刘冰等^[9]建立了2个切花菊品种的不定芽再生体系,结果表明:较高浓度的激素会导致不定芽和再生小苗玻璃化,不利于植株再生,植物激素还影响再生植株的生根。研究表明,菊花再生体系建立中通常选择的基本培养基主要为MS培养基,1/2MS和1/4MS培养基因其所含的各无机盐浓度减少会使组培苗的长势下降,而在生根培养时多选用1/2MS基本培养基。激素添加以6-BA和NAA为主,少有IAA等其它激素,不同品种对培养基类型和激素配比均不同,因此对不同菊花品种进行再生体系建立时要对激素的种类和浓度进行筛选。

3 植株基因型的影响

已有研究表明,外植体的基因型直接影响其再生能力,外植体的再生能力受基因所调控,在选择外植体时,应对同一种植物的不同基因型的外植体进行再生能力筛选,从而选择再生能力强的基因型为外植体。不同的基因型对菊花的分化频率和外植体的再生芽数有较大的差异,因此基因型也是影响菊花叶片再生的一个重要因素。由于不同基因型的外植体的最佳培养基不同,在筛选时应选用不同培养基来比较不同基因型外植体的再生能力。不同激素配比下不同品种的再生率和再生不定芽数量差异较大,而不同品种在同种培养基上不定芽再生率差异也较大,这可能与不同品种内源激素含量不同有关。勾畅等^[10]以4个菊花品种为试材,研

究不同激素比对4种基因型菊花丛生芽及根诱导的影响。在相同的激素配比下,不同基因型的菊花平均出芽率存在差异。应结合不同基因型的自身生长条件来确定激素配比,即基因型的不同也决定培养条件的不同。目前,基因型与不同激素配比之间的关系还有待进一步研究完善。

4 其他因素的影响

再生体系的建立过程中,除了基因型、激素配比、外植体的选择等影响,还有很多其他因素的影响,如AgNO₃、苗龄、叶片着生部位、光照条件等。已有研究表明,AgNO₃对不定芽的分化有抑制作用;幼嫩组织生理活性高,形态发生能力和分化能力高,同时发现,叶片外植体的再生能力与苗龄呈负相关关系;同苗龄同植株不同着生位置的叶片外植体生理状态也有差异,对不定芽的诱导有很大影响;暗处理可以促进愈伤组织的形成但不利于芽的分化。此外,在移栽炼苗过程中,基质的选择、温湿度及光照时间是影响成活率的关键。通常使用腐殖土:珍珠岩=1:1为基质;温度控制在25℃左右,低于20℃会影响幼苗根的发育,高于30℃幼苗易腐烂死亡;湿度控制在90%以上,并注意通风。

5 展望

目前,在菊花再生体系研究中大多都选用叶片与茎段作为外植体,也有使用叶柄、花器官等作为外植体,再生效率也较高。对于某些叶片与茎段再生效果不理想的品种,可以采取多种外植体多方面多手段进行研究,以期获得优良的再生体系,为今后遗传转化做好基础。有些品种受基因型影响,愈伤组织诱导率较低,分化也比较困难。不同品种外植体芽分化率差异也较大,今后可以针对不同基因型对培养基选择、激素种类和浓度选择,以及培养环境和条件进行改良,提高诱导率和分化率,从而建立起一套高效率的再生体系。

参考文献:

- [1] 高亦珂,赵勃,丁国勋,等.菊花茎叶外植体再生体系的研究[J].北京林业大学学报,2001,23(1):32-33.
- [2] 裴红美,韩科厅.瓜叶菊‘小丑’系列品种再生体系的研究[J].北京林业大学学报,2011,33(1):108-114.
- [3] 李辛雷,陈发棣,王红,等.菊花外植体再生体系的研究[J].上海农业学报,2004,20(2):13-16.
- [4] 刘清波,黄红梅,谢淑燕.甜叶菊离体(下转第68页)

间伐时以定性选择目标树为主,定量控制林分密度。具体施工时,按克拉夫林木分级法,将林木划分为I~V级木^[5],凡定性为I、II、III级木的为目标树,全部保留,V级木全部砍除,IV级木原则上全部砍除,最后满足于定量间伐株数为止。

2.5 修枝

修枝时间:幼林郁闭后,当树冠下部出现2~3轮枯死枝或濒死枝时,即开始修枝。修枝间隔期4~5 a,可结合抚育间伐作业同时进行。修枝在树液停止流动期间进行。

修枝强度:每次修枝可修掉2~3轮活枝,最后修枝高度达到8 m以上。

修枝方法:要使切口截面与树干平行,不留枝桩,切口断面力求最小,避免损伤树皮,忌用棒击树枝。修下的枝条要平铺在林地上,任其自然腐烂,对林内有侵蚀沟的用树枝平铺沟内,以防水土冲蚀林地。

2.6 冠下经济植物栽培

①灌木类:不需要采取耕作或起床作业;选择的经济植物有刺五加、刺龙牙等。刺五加栽植株行距1.5 m×0.5 m;刺龙牙栽植株行距1 m×1 m。

②草本类:需要采取耕作或起床作业;选择的适宜经济植物有细辛、人参等,此类方式林地利用面积控制≤5 hm²,耕作面或床长≤15 m,上下耕作面或床之间保留≥2 m的原有植被隔离带,每隔10床顺山保留≥5 m宽的隔离带。沟谷(溪流)、山脊与垦植区之间保留≥20 m的原有植被区。

3 红松果材兼用林培育模式

3.1 培育目标

培育红松果实兼顾大径级林木收获。

3.2 立地条件选择

选择海拔高800 m以下,坡度在≤30°,土层深度(A+B层)≥30 cm,坡的中下腹,排水良好,忌选择冲风口处,土壤类型为棕壤或暗棕壤。

3.3 培育质量要求

树干8 m以下无死节、无杈,90%林木树干通直。平均胸径≥32 cm,林木保留株数约300株·hm²。

3.4 森林作业法

①整地:同“红松大径材培育兼顾林下经济复合经营模式”。

②苗木:同“红松-阔叶异龄复层混交林培育模式”。

③栽植:同“红松大径材培育兼顾林下经济复合经营模式”。栽植密度为1600~2500株·hm²,即株行距2.5 m×2.5 m或2 m×2 m。

④抚育:同“红松大径材培育兼顾林下经济复合经营模式”。

⑤截干:对达到一定主干利用高度的林分,可按林分最终保留密度下限进行间伐后,对红松采取截干措施,不同地位指数的截干时间要在规定标准高度以上,截去距主梢第4轮枝上部主干,截干部位距第4轮枝10 cm左右,选择有经验的人员用锯或高枝剪进行截干作业,要求截面平整,截干时间在结实丰年果实采收后的秋或冬季进行。

⑥修枝:同“红松大径材培育兼顾林下经济复合经营模式”。

参考文献:

- [1] 顾希泉. 红松果材兼用林培育措施的探讨[J]. 防护林科技, 2007(5):128-129.
- [2] 李玲玲, 李凤日, 贾炜玮, 等. 红松人工林林木果实产量预估模型[J]. 植物研究, 2014, 34(3):349-355.
- [3] 刘景智, 赵明. 红松果材兼用林适宜密度的探讨[J]. 山东林业科技, 2011(3):63-64.
- [4] 刘胜利, 刘树仁, 段秀梅. 辽东山地森林可持续经营模式探讨——以清原县为例[J]. 林业资源管理, 2014, (3):141-149.
- [5] 国家林业局. 全国森林经营规划(2016—2050)[S]. 2016.
- [6] 辽宁省林业厅. 辽宁省森林经营规划(2016—2050)[S]. 2016.

(责任编辑:苑 辉)

(上接第65页)

- 培养再生体系的建立[J]. 农业工程, 2012, 2(10):58-61.
- [5] 程密密, 杨霞, 杨玉灿, 等. 翠菊品种库蕾娜叶片和叶柄及茎段的再生研究[J]. 黑龙江农业科学, 2014(10):20-22.
 - [6] 杨华, 阮颖, 刘春林, 等. 非洲菊离体再生体系的建立[J]. 湖南农业科学, 2002(2):53-54.
 - [7] 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.

- [8] 赵子刚, 曾丽, 唐克轩, 等. 色素万寿菊叶片再生体系的建立及优化[J]. 园艺学报, 2010, 37(4):655-660.
- [9] 刘冰, 杨际双, 肖建忠, 等. 切花菊高效不定芽再生体系的建立[J]. 河北农业大学学报, 2011, 34(1):25-29.
- [10] 勾畅, 武慧, 将达, 等. 激素配比对不同基因型菊花再生体系的调控[J]. 北方园艺, 2013(13):135-137.

(责任编辑:张素清)