

徐式近,徐忠传. 不同菊花品种高效直接再生体系的构建[J]. 江苏农业科学,2013,41(11):52-54,100.

不同菊花品种高效直接再生体系的构建

徐式近^{1,2}, 徐忠传²

(1. 苏州大学金螳螂建筑与城市环境学院,江苏苏州 215123; 2. 常熟理工学院生物与食品工程学院,江苏常熟 215500)

摘要:以 9 个菊花品种叶片、茎段为外植体,用 6 种分化培养基与 3 种生根培养基直接再生不定芽,研究激素组合及外植体对不同菊花品种直接再生的影响。结果表明,9 个品种的茎段与 6 个品种的叶片都有较高的再生能力,但品种“28”“5-17”的叶片未分化出不定芽,品种“11”的叶片再生率也不高;多数菊花品种茎段的再生能力高于叶片;再生率为 84%~100%,繁殖系数为 2.3~9.4,可应用于工厂化快繁与基因工程育种。

关键词:菊花;叶片;茎段;直接再生

中图分类号: S682.11 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)11-0052-03

菊花(*Dendranthema morifolium*)为菊科菊属多年生宿根草本植物,是我国十大传统名花之一,也是世界四大切花之一,其花色丰富、花形优美、品种多样,具有较高的观赏、药用价值。菊花再生体系研究起源于 20 世纪 60 年代^[1],目前已经建立了以叶片^[2-12]、叶柄^[2,4]、茎尖^[13]、茎段^[1-2,4-6,14]、花器官^[4,15]等为外植体的菊花再生体系。菊花再生体系研究中,常以 MS 培养基为基本培养基,6-BA 与 NAA 为生长调节剂^[2,5,7-9,11-13,15]。菊花再生受基因型限制,再生体系没有普遍性^[2-6,10-11,13-15]。愈伤组织再生不定芽容易产生遗传变异与嵌合体,直接再生不定芽能保持遗传性状、简化程序、缩短繁殖周期^[16-17]。本试验以 9 个菊花品种的叶片、茎段为外植体,以 6-BA、NAA 为生长调节剂直接诱导不定芽,旨在建立高效、简单、稳定的菊花直接再生体系。

1 材料与与方法

1.1 材料

以 9 个菊花切花品种的组培苗为试材(张家港骏马科技有限公司),用编号替代品种名:“3”“3-2”“28”“5-17”“17”“2”“9”“6”“11”。外植体为叶片与茎段。

1.2 培养条件

除生根试验以 1/2MS^[6,17]作为基本培养以外,其他试验均以 MS 作为基本培养基,添加 30 g/L 蔗糖与 8 g/L 琼脂,pH 值为 5.8~6.0,其中分化培养基分别附加:(1)6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L^[5];(2)6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L^[5,13];(3)6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L^[5,13];(4)6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L^[5];(5)6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L^[5];(6)6-BA 3.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L^[7]。生根培养基分别附加:(7)NAA 0 mg/L^[6,8];(8)NAA 0.05 mg/L^[5-6];(9)NAA 0.1 mg/L^[5-6];(10)NAA 0.2 mg/L^[5-6];(11)NAA 0.4 mg/L^[5,9]。培养温度(25±2)℃,日光灯光源,光照度 21~24 μmol/(m²·s),光照时间为 12 h/d。

收稿日期:2013-06-07

作者简介:徐式近(1988—),女,浙江绍兴人,硕士,从事园林植物与观赏园艺研究。E-mail:845497128@qq.com。

通信作者:徐忠传,博士,教授。E-mail:xuzc18@csig.edu.cn。

1.3 方法

1.3.1 组培苗扩繁 为了扩繁保存组培苗,将 9 个菊花品种的组培苗剪成带 1 个节的茎段与茎尖,接种到培养基(4)中,每瓶接种 6~8 个茎段或茎尖,3 周左右分化出不定芽,之后不定芽增多长大,6 周后分离不定芽,接种到 MS 培养基中,使其生长生根,长到 5 cm 左右后再重复上述操作,如此重复,直至获得充足的材料。

1.3.2 不定芽诱导 选择生长健壮、整齐一致的组培苗,剪取顶部 4~6 张叶面积大于 0.5 cm² 的幼嫩叶片^[8,10-11],沿着垂直于主脉方向剪 2 个刀口,正面朝上,水平放入分化培养基^[11],每瓶接种 6~7 张叶片。剪取长约 0.5 cm 左右带 1 个节的茎段,剪掉叶片,留少许叶柄以免损伤叶腋,形态学上端朝上,垂直插入分化培养基,每瓶接种 4~5 个茎段。每个处理至少 10 个外植体,重复 3 次。42 d 后统计长度为 0.5 cm 以上不定芽个数(不包括玻璃化芽),再生率与繁殖系数计算公式如下:再生率=分化出不定芽的外植体数/接种的外植体数×100%;繁殖系数=分化出的不定芽数/分化出不定芽的外植体数。

1.3.3 生根 以“3”“3-2”“5-17”3 个品种为例,当不定芽长至 3 cm 左右时,剪下生长健壮、整齐一致的不定芽接种到生根培养基,每瓶接种 4~5 个不定芽。每个处理取 8~10 个外植体,重复 2 次。14 d 后统计生根率、生根数、根长。

2 结果与分析

2.1 激素组合对菊花茎段直接再生的影响

将 9 个菊花品种的茎段接种于 6 种分化培养基中,1 周后茎段基部膨大,叶腋处发出 1 个腋芽,2 周后分化出不定芽,少数不能分化出不定芽或不定芽玻璃化(芽体透明、扭曲、易碎),3 周后不定芽迅速增多,形成丛生芽。由表 1、表 2 可知,在 6 种分化培养基上,9 个品种均能形成不定芽。激素组合对菊花茎段的再生率影响不大。综合考虑芽的生长情况与成本,9 个菊花品种茎段的最适分化培养基分别为:“3”“5-17”为培养基(2),“3-2”“6”为培养基(4),“28”“17”“2”“9”“11”为培养基(3)。9 个品种最适激素组合中 6-BA 与 NAA 的比例为(10~20):1,说明较高浓度的 6-BA(1~2 mg/L)与较低浓度的 NAA(0.1~0.2 mg/L)有利于不定芽

的直接分化。当 6-BA、NAA 浓度低于上述范围时,不定芽数量少;提高 6-BA、NAA 浓度,不定芽数量增多;当 6-BA、NAA 浓度高于上述范围时,不定芽生长受抑制、芽小,甚至玻璃化。由此可知,激素对芽分化与生长的作用不一致,最适激素浓度应平衡芽的分化与生长。不同激素组合下,9 个菊花

品种茎段的再生率差异不大,但繁殖系数存在明显差异。根据再生率×繁殖系数,9 个品种茎段的再生能力为:“3”(8.1)>“28”(7.6)>“2”(7.1)>“3-2”(6.8)>“5-17”(6.2)>“17”(6.1)>“6”(3.5)>“11”(3.3)>“9”(3.1),说明基因型对菊花茎段再生有影响。

表 1 激素组合对不同菊花品种茎段再生率的影响

培养基	再生率(%)								
	“3”	“3-2”	“28”	“5-17”	“17”	“2”	“9”	“6”	“11”
(1)	83±7.2b	100±0a	100±0a	100±0a	100±0a	100±0a	100±0a	89±2.4b	100±0a
(2)	86±2.6b	100±0a	96±7.2a	100±0a	100±0a	100±0a	100±0a	100±0a	100±0a
(3)	100±0a	100±0a	100±0a	100±0a	100±0a	100±0a	100±0a	100±0a	100±0a
(4)	87±4.4b	100±0a	100±0a	100±0a	100±0a	100±0a	100±0a	100±0a	95±8.3a
(5)	83±7.2b	100±0a	100±0a	100±0a	100±0a	100±0a	100±0a	100±0a	100±0a
(6)	100±0a	100±0a	100±0a	100±0a	100±0a	100±0a	100±0a	100±0a	100±0a

注:同列数据后不同小写字母表示差异显著($P<0.05$),下表同。

表 2 激素组合对不同菊花品种茎段繁殖系数的影响

培养基	繁殖系数								
	“3”	“3-2”	“28”	“5-17”	“17”	“2”	“9”	“6”	“11”
(1)	6.3±0.3b	5.5±0.4b	5.5±0.1c	5.4±0.4b	5.3±0.4b	3.8±0.2e	2.3±0.3b	1.8±0.1b	2.8±0.2b
(2)	9.4±0.4a	5.7±0.2b	4.4±0.3d	6.2±0.2a	3.5±0.3d	4.0±0.2e	2.9±0.1a	1.5±0.2c	2.1±0.1d
(3)	6.6±0.4b	6.1±0.3b	7.6±0.2a	4.8±0.3c	6.1±0.1a	7.1±0.1a	3.1±0.2a	3.3±0.1a	3.3±0.2a
(4)	5.5±0.1c	6.8±0.3a	4.8±0.3d	5.4±0.1b	5.8±0.2a	6.3±0.2b	1.3±0.2d	3.5±0.1a	2.0±0.2d
(5)	4.2±0.4d	3.4±0.3c	7.0±0.3b	4.6±0.1c	2.1±0.1e	4.5±0.4d	1.7±0.1c	3.3±0.1a	3.4±0.1a
(6)	2.8±0.5e	3.5±0.3c	5.9±0.1c	3.5±0.3d	4.6±0.2c	5.4±0.3c	1.3±0.1d	1.6±0.1bc	2.4±0.1c

2.2 激素组合对不同菊花品种叶片直接再生的影响

将 9 个菊花品种叶片接种于 6 种分化培养基,1 周后叶片膨大、卷曲,2 周后切口处出现绿色芽点,3 周后分化出不定芽,其中靠近叶柄与主脉的切口处不定芽较多,之后不定芽增多、长大,少数不能分化出不定芽或形成玻璃化芽。其中“28”的叶片均褐化,未分化出不定芽;“5-17”再生率小于 60%,故对这 2 个品种不做进一步研究。30~35 d 后 7 个品种叶片不定芽的生长情况如图 1。由表 3、表 4 可知,激素组合对不同菊花品种叶片再生率与繁殖系数影响较大。综合考虑芽的生长情况与成本,各菊花品种叶片最适分化培养基为:“3”“3-2”为(4),“17”为(3),“2”“6”为(5),“9”“11”为(2)。9 个品种最适激素组合中 6-BA 与 NAA 的比例为(4~20):1。较高浓度的 6-BA(1~2 mg/L)与较低浓度的

NAA(0.1~0.5 mg/L)有利于叶片不定芽再生,最适激素组合存在最适比例与最适浓度。根据再生率×繁殖系数,7 个品种叶片再生能力有明显差异:“3”(8.4)>“3-2”“17”“2”(4.7)>“9”(4.1)>“6”(2.2)>“11”(1.4),其中“11”叶片再生的不定芽均有轻度褐化,说明基因型对菊花叶片再生有影响。

2.3 外植体对不同菊花品种叶片与茎段直接再生的影响

7 个菊花品种的叶片与茎段均能直接分化出不定芽,但是 2 种外植体的再生能力存在差异。除“9”的叶片繁殖系数(4.3)高于茎段(3.1)外,其余 6 个品种的叶片繁殖系数均低于茎段,说明多数品种茎段的不定芽再生能力强于叶片。在最适激素组合中,9 个品种的茎段再生率为 86%~100%,繁殖系数为 3.1~9.4,6 个品种的叶片再生率为 84%~96%,

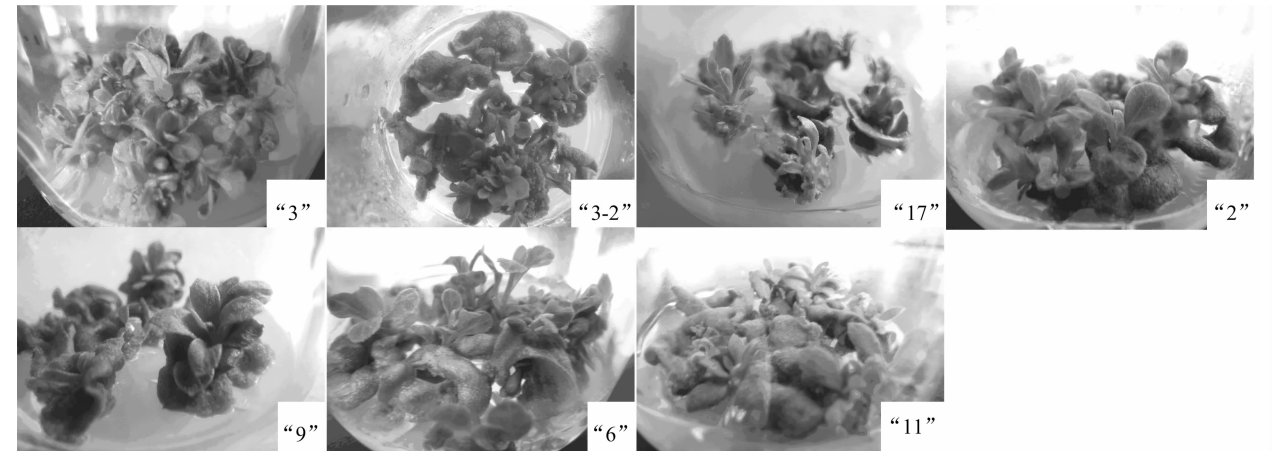


图 1 30~35 d 后不同菊花品种叶片不定芽生长情况

表 3 激素组合对不同菊花品种叶片直接再生的影响

培养基	再生率(%)						
	“3”	“3-2”	“17”	“2”	“9”	“6”	“11”
(1)	77 ± 10.0b	98 ± 3.9a	62 ± 3.9b	80 ± 6.7a	98 ± 3.9a	44 ± 3.9b	38 ± 3.9b
(2)	62 ± 3.9c	98 ± 3.9a	31 ± 3.8c	78 ± 13.9a	96 ± 3.9a	42 ± 3.9b	56 ± 3.9a
(3)	84 ± 3.9ab	84 ± 3.9a	84 ± 10.2a	78 ± 13.9a	71 ± 3.8b	42 ± 3.9b	42 ± 3.9b
(4)	96 ± 3.9a	93 ± 6.7a	76 ± 3.9a	82 ± 10.2a	98 ± 3.9a	24 ± 7.7c	40 ± 7.7b
(5)	80 ± 6.7b	87 ± 6.7a	84 ± 10.2a	96 ± 3.9a	98 ± 3.9a	93 ± 6.7a	31 ± 6.7b
(6)	96 ± 3.9a	91 ± 10.2a	91 ± 3.8a	76 ± 15.4a	69 ± 3.8b	13 ± 6.7c	36 ± 3.9b

表 4 激素组合对不同菊花品种叶片繁殖系数的影响

培养基	繁殖系数						
	“3”	“3-2”	“17”	“2”	“9”	“6”	“11”
(1)	3.6 ± 0.1b	1.4 ± 0.1d	5.7 ± 0.1a	3.8 ± 0.2bc	3.5 ± 0.1ab	1.1 ± 0.1d	2.1 ± 0.1bc
(2)	2.2 ± 0.1c	2.2 ± 0.2c	3.3 ± 0.1b	3.2 ± 0.2cd	3.9 ± 0.1a	3.8 ± 0.2a	2.5 ± 0.1b
(3)	3.7 ± 0.1b	2.8 ± 0.1b	5.6 ± 0.4a	2.9 ± 0.2d	2.1 ± 0.3c	2.3 ± 0.2c	2.9 ± 0.2a
(4)	8.7 ± 0.3a	3.5 ± 0.3a	3.2 ± 0.1b	1.9 ± 0.2e	3.3 ± 0.1b	3.0 ± 0.1b	2.1 ± 0.1bc
(5)	2.9 ± 0.1c	1.7 ± 0.1d	3.5 ± 0.1b	4.9 ± 0.3a	3.1 ± 0.2b	2.3 ± 0.3c	2.1 ± 0.1bc
(6)	2.3 ± 0.2c	1.8 ± 0.2d	3.9 ± 0.3b	4.2 ± 0.1ab	3.9 ± 0.1a	1.2 ± 0.1d	1.8 ± 0.1c

繁殖系数为 2.3~8.7,这些品种的叶片与茎段都可用来建立高效直接再生体系。

2.4 NAA 对不同菊花品种不定芽生根的影响

切取“3”、“3-2”、“3-2”的不定芽在 5 种生根培养基中生根,2 周后统计生根率、生根数、根长,结果(表 5)表明。3 个品种都极易生根,在不含任何激素的 1/2MS 培养基上生根率都是 100%。对“3”“3-2”而言,随着 NAA 浓度升高,生根

数与根长都呈先增后减趋势,但变化趋势不同步;对“5-17”而言,随着 NAA 浓度升高,生根数先减后增,而根长先增后减;说明 NAA 对根分化与生长的作用不一致。综合考虑生根数与根长,3 个品种的最适生根培养基如下:“3”为(10)，“3-2”为(9)，“5-17”为(7)。“5-17”生根数多,根较短,“3”“3-2”生根数一般,根较长,说明不同基因型菊花生根能力有差异。

表 5 NAA 对不同菊花品种不定芽生根的影响

培养基	“3”			“3-2”			“5-17”		
	生根率(%)	生根数(条)	根长(cm)	生根率(%)	生根数(条)	根长(cm)	生根率(%)	生根数(条)	根长(cm)
(7)	100 ± 0a	5.3 ± 0.2b	2.5 ± 0.1b	100 ± 0a	4.1 ± 0.1c	3.1 ± 0.2ab	100 ± 0a	14.4 ± 1.2a	2.0 ± 0.0c
(8)	100 ± 0a	5.3 ± 0.3b	3.1 ± 0.0a	100 ± 0a	4.4 ± 0.9b	3.6 ± 0.4a	100 ± 0a	13.6 ± 0.5a	2.2 ± 0.0c
(9)	100 ± 0a	5.5 ± 0.1ab	3.0 ± 0.2a	100 ± 0a	4.7 ± 0.1ab	3.3 ± 0.0ab	100 ± 0a	13.9 ± 1.0a	2.7 ± 0.0a
(10)	100 ± 0a	6.1 ± 0.3a	2.9 ± 0.1a	100 ± 0a	5.8 ± 0.0a	2.7 ± 0.2b	100 ± 0a	14.1 ± 0.1a	2.4 ± 0.1b
(11)	100 ± 0a	6.0 ± 0.1ab	1.7 ± 0.0c	100 ± 0a	5.4 ± 0.9a	1.5 ± 0.2c	100 ± 0a	17.8 ± 2.5a	1.8 ± 0.1d

3 结论与讨论

基因型对菊花不定芽再生有影响^[2-6,10-11,13-15]。本研究中 9 个菊花品种的茎段与 6 个菊花品种的叶片都有较高的再生能力,但品种“28”“5-17”的叶片未分化出不定芽,品种“11”的叶片再生率也不高,说明这些品种的叶片可能再生能力低,需采用其他激素种类或浓度进一步研究。激素组合对菊花不定芽再生有影响^[1,2,4-14]。最适激素组合存在最适比例,较高浓度的细胞分裂素(6-BA 1~2 mg/L)与较低浓度的生长素(NAA 0.1~0.5 mg/L)有利于不定芽的直接再生,这与 Annadana 等的研究结果^[14]一致,但与薛建平等的研究结果^[11]相反,这可能是品种不同所致。最适激素组合还存在最适浓度,一定范围内提高激素浓度有利于不定芽的分化,但激素浓度过高则会抑制芽的生长甚至导致玻璃化,这与袁成志等的研究结果^[7]一致。6-BA 与 NAA 这 2 种激素组合有助于菊花不定芽的再生^[2,5,7-9,11-13,15]。外植体对菊花不定芽再生有影响^[2,4,5,8,10,11,14]。外植体对菊花不定芽再生的影响包括外植体的类型^[2,4-5,11]、外植体的生理状态^[8,10,14]。本研究表明,多数菊花品种茎段的再生能力高于叶片,这与 Kaul

等的研究结果^[2]一致。叶片基部的不定芽多于中上部,主脉处多于叶缘处,这与薛建平等的研究结果^[11]一致,说明同一张叶片不同部位的生理状态不同。基部是叶片的发生处,激素浓度较高,主脉是激素运输的主要通道,其周围细胞较容易吸收培养基中的激素,促进了此处细胞的分化。姜宁宁等认为,植株中上部叶片作外植体可提高不定芽的分化能力^[8]。冯君伟等认为,植株上层幼嫩叶片分化率明显高于中下部^[10]。薛建平等研究发现,叶龄过老或过小都不利于再生,选择植株上部 2~3 张幼龄健壮叶作为培养材料有利于直接再生植株^[11]。本试验采用顶部 4~6 张叶面积大于 0.5 cm²的幼嫩叶片作为外植体。蒋细旺等将叶片切成 0.5 cm²叶盘并用镊子轻微刺伤叶片,再生率最低为 78%,繁殖系数最低为 1.6^[5]。本研究用剪刀在叶片中下部剪 2 刀,再生率最低为 84%,繁殖系数最低为 2.3,可见本试验方法更为简单有效。本研究以 9 个菊花切花品种的茎段与叶片为外植体,直接再生不定芽,2 个月内建立了高效、简单、稳定的再生体系,再生率为 84%~100%,繁殖系数为 2.3~9.4,可应用于工厂化快繁与基因工程育种。

右,并根据土壤沉实度调整插秧机适宜插秧深度小于 1 cm;根据秧盘的秧苗密度调整机插切块大小,确保每穴 3~4 苗。栽插密度指标:行株距 30 cm×13 cm,插 25.5 万穴/hm²,机插质量达到不漏插、行直、不漂不倒。

2.4 大田期管理

2.4.1 水分管理 插秧后 3 d 内田间白天灌浅水层护苗,夜间排水露田;插秧 3 d 后排水露田 2~3 d。插秧 6~7 d 后灌 3 cm 水层,施除草剂、分蘖肥,保持水层 5~6 d,缺水时及时补水。随后及时落干、沉实田土、通气促根,整个分蘖期薄水层间歇灌溉促分蘖。当苗数达到计划穗数,开沟分次搁田,控制无效分蘖,促进根系下扎、壮秆健株,提高分蘖成穗率。幼穗分化至扬花期保持浅水层,灌浆期间隙灌溉、干湿交替,保持田面湿润,收获前 7 d 断水。

2.4.2 施肥管理 本田期实行测土配方施肥,氮肥、磷肥、钾肥配合施用,一般氮肥、磷肥、钾肥的比例为 1:0.5:0.8。施肥方法:一般施氮比例为基肥:分蘖肥:穗肥为 4:3:3,磷肥全部用作底肥,钾肥基肥、穗肥各占 50%。分蘖肥在栽插后 5~6 d 施 10%,栽插后 15 d 施 20%。穗肥分 2 次施用,当叶龄余数为 2.5~3.0 张时施用 60%~70%,在叶龄余数为 1.5~1.0 张时施用 30%~40%。具体施肥量、施肥比例及施用时期按地区、品种、秧苗生长情况进行适当调整。

2.4.3 防治病虫害 种子用 16%咪鲜·杀螟丹 300 倍液浸种 48 h 后用清水洗净,再浸种至种子吸足水分,种芽露白播种,防治水稻恶苗病。播种盖土后,用 20%噻草·丁草胺乳油 2 250~3 000 mL/hm² 兑水喷雾除草。秧苗 1 叶 1 心期揭膜,用 5%氟虫脲悬浮剂 450~600 mL/hm² 或 10%吡虫啉可湿性粉剂 600 g/hm² 兑水喷雾 2~3 次,防治秧田灰飞虱、

稻蓟马等害虫。插秧后 6~7 d,结合施分蘖肥施用丁草胺或杀草丹防除杂草,将除草剂拌细土闷 1 h 左右,再与化肥搅拌均匀撒施,保持水层 5~6 d 确保防效。扬粳 4227 大田期主要病害包括纹枯病、稻瘟病、稻曲病等。孕穗中后期用 5%井冈霉素剂 2 250 mL/hm² 或 50%多菌灵可湿性粉剂 1 500 g/hm² 兑水对穗部喷雾防治稻曲病,兼治纹枯病。用 75%三环唑可湿性粉剂 375~450 g/hm² 兑水在始穗期稻叶初见少量病斑时对穗部喷雾防治稻瘟病。扬粳 4227 大田期主要虫害包括稻蓟马、螟虫、稻飞虱。在螟虫卵孵化前 1 周用苏云金杆菌或在卵孵高峰至幼虫危害初期用杀虫双防治。当百丛稻飞虱虫量达 1 500~2 000 头时,用吡虫啉对稻株中下部喷雾防治稻飞虱。当受稻蓟马危害的稻苗叶尖卷曲率在 10%以上、百株虫量 300 头以上时,用 20%三唑磷乳油 1 800~2 250 mL/hm² 或 10%吡虫啉可湿性粉剂 600 g/hm² 兑水喷雾防治稻蓟马。

参考文献:

- [1] 陆瑞平,葛 胜,陈长铭,等. 全量麦草旋耕还田窗纱早育苗抛秧稻栽培技术探讨[J]. 江苏农业科学,2007(2):21-23.
- [2] 凌启鸿,张洪程,戴其根,等. 水稻精确定量施氮研究[J]. 中国农业科学,2005,38(12):2457-2467.
- [3] 王宝和,戴正元,季红娟,等. 早熟晚粳扬粳 4227 高产栽培技术研究[J]. 扬州大学学报:农业与生命科学版,2011,32(2):53-56.
- [4] 王和平,谭长乐,刘震林,等. 机械化麦草还田技术操作规范[J]. 农业装备技术,2007,33(2):48-49.
- [5] 姜宁宁,付建新,戴思兰. 中国传统菊花品种‘小林静’再生及转化体系的建立[J]. 生物技术通报,2012(4):87-92.
- [6] 肖 政,范崇辉,金万梅. 生长调节物质对菊花“小金黄”叶片再生不定芽的影响[J]. 西北林学院学报,2009,24(6):50-53.
- [7] 冯君伟,佟友丽,赵 飞,等. 菊花新品系叶片外植体不定芽再生体系的研究[J]. 北方园艺,2009(2):56-59.
- [8] 薛建平,张爱民,常 玮. 安徽菊药叶片直接再生植株技术的研究[J]. 中国中药杂志,2004,29(2):132-135.
- [9] 王一娟,于 鑫,裴雁曦. 菊花品种黄金虎再生体系的建立[J]. 山西大学学报:自然科学版,2012,35(1):130-134.
- [10] 龚明霞,陈小凤,方锋学,等. 菊花离体快繁技术研究[J]. 北方园艺,2010(1):172-173.
- [11] Annadana S, Rademaker W, Ramanna M, et al. Response of stem explants to screening and explant source as a basis for methodical advancing of regeneration protocols for *Chrysanthemum* [J]. Plant Cell Tiss Org Cult, 2000, 62(1):47-55.
- [12] 丁世民,王泽宇,宋健宇,等. 不同品种菊花组织培养比较研究[J]. 北方园艺,2011(23):101-103.
- [13] 邓秀新,胡春根. 园艺植物生物技术[M]. 北京:高等教育出版社,2005:21-23.
- [14] 韩 伟. 菊花品种再生体系与遗传转化的初步探索[D]. 武汉:华中农业大学,2007.
- [15] Hill G P. Shoot formation in tissue cultures of *Chrysanthemum* ‘Bronze Pride’ [J]. Physiologia Plantarum, 1968, 21(2):386-389.
- [16] Kaul V, Miller R M, Hutchinson J F, et al. Shoot regeneration from stem and leaf explants of *Dendranthema grandiflora* Tzvelev (syn *Chrysanthemum morifolium* Ramat.) [J]. Plant Cell Tiss Org Cult, 1990, 21(1):21-30.
- [17] De Jong J, Rademaker W, Monique F, et al. Restoring adventitious shoot formation on *Chrysanthemum* leaf explants following cocultivation with *Agrobacterium tumefaciens* [J]. Plant Cell Tiss Org Cult, 1993, 32(3):263-270.
- [18] Song J Y, Mattson N S, Jeong B R, et al. Efficiency of shoot regeneration from leaf, stem, petiole and petal explants of six cultivars of *Chrysanthemum morifolium* [J]. Plant Cell Tiss Org Cult, 2011, 107(2):295-304.
- [19] 蒋细旺,刘国锋,包满珠. 菊花 9 个品种叶片和茎段快速高效再生体系的建立[J]. 华中农业大学学报,2003,22(2):162-166.
- [20] 晨 卉,王艳芳,陈素梅,等. 五种菊花近缘植物组织培养研究[J]. 南京农业大学学报,2009,32(3):30-35.
- [21] 袁成志,李 波,杨蔚然. 菊花组织培养技术研究[J]. 北方园艺,2010(16):154-156.

(上接第 54 页)

参考文献: