

“神马”菊组织培养技术研究^①

邱美欢¹⁾ 曲军远^{1)②} 覃和业¹⁾ 余雪标²⁾

(1 中国热带农业科学院种苗组培中心 海南儋州 571737;

2 中国热带农业科学院环境与植物保护研究所 海南儋州 571737)

摘要 利用“神马”菊花的茎段作外植体,采用不同的诱导、继代和生根培养基进行菊花组织培养技术研究,结果表明,丛生芽诱导的最佳培养基为 MS+6-BA 2 mg·L⁻¹,丛生芽继代培养的最佳培养基为 MS+6-BA 1.5 mg·L⁻¹+NAA 0.05 mg·L⁻¹,最佳生根培养基为 MS+NAA 0.1 mg·L⁻¹。

关键词 菊花;组织培养

分类号 S682.11; Q813.1

Tissue Culture of *Dendranthema morifolium*

QIU Meihuan¹⁾ QU Junyuan¹⁾ QIN Heye¹⁾ YU Xuebiao²⁾

(1 CATAS Tissue Culture Center, Danzhou, Hainan 571737;

2 Environment and Plant Protection Institute, CATAS, Danzhou, Hainan 571737)

Abstract Stem of *Dendranthema morifolium* were used as explant and cultured on different inducing, subculture and rooting mediums. The best mediums for inducing and subculture of cluster shoots, and for rooting were found to be MS + 6-BA 2 mg/l, MS + 6-BA 1.5 mg/l + NAA 0.05 mg/l, and MS + NAA 0.1 mg/l, respectively.

Keywords *Dendranthema morifolium* ; tissue culture

菊花(*Dendranthema morifolium*)为菊科菊属多年生宿根草本植物,原产我国,具有极高的观赏价值,是世界著名的切花品种之一。“神马”是1987年在日本静冈县滨松市特种园艺所培育成功的白色秋菊品种,该品种表现为植株整齐,叶色深绿,有深缺刻,叶片厚,有蜡质,光亮,叶片呈45°角向上生长,耐包装和远距离运输,在日本白菊市场上占有主导地位。由于“神马”为日本国内不受保护的菊花品种,我国菊花生产企业能够合法出口其到日本。近几年来,“神马”被大量引入我国,辽宁、河北、山东、江苏、福建、海南等省份均出现了大规模栽培,如今,“神马”已经成为我国切花菊对日出口的第一品种。有关“神马”的组织培养与快速繁殖国内尚未见报道。

1 材料和方法

1.1 材料

“神马”菊花嫩茎,取自中国热带农业科学院种苗组培中心苗圃。

1.2 方法

1.2.1 丛生芽的诱导培养

剪取优良健壮植株的嫩茎,用低浓度的洗衣粉水刷洗,自来水冲洗10 min,在超净工作台上用70%的酒精浸泡30 s,再用0.1% HgCl₂溶液(加吐温1~2滴)消毒10 min,无菌水冲洗5~6次,置于工作台消毒过的牛皮纸中切成1~2 cm带1~2个腋芽的茎段,分别接种于下列诱导培养基中:① MS+6-BA 3.0 mg·L⁻¹;② MS+6-BA 2.5 mg·L⁻¹;③ MS+6-BA 2.0 mg·L⁻¹;④ MS+6-BA 1.5 mg·L⁻¹。每处理接种30袋,每袋装1块材料。观察芽的分化

① 收稿日期:2007-11-08

责任编辑/孙继华

编辑部 E-mail: rdnk@chinajournal.net.cn 或 rdnk@163.com

② 通讯作者。联系电话:(0898)2330 0027; E-mail: Qjy168@scuta.edu.cn。

情况。

1.2.2 丛生芽的继代培养

将诱导出的丛生芽分别接种于下列继代培养基上：① MS+6-BA $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +NAA $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ；② MS+6-BA $1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +NAA $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ；③ MS+6-BA $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +NAA $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。每处理接种 15 袋，每袋接 2 个芽，20 d 后转接下一代培养，统计增殖率。

1.2.3 试管苗的生根培养

将继代培养基中高于 2 cm 的幼苗分别接种于下列生根培养基上：① MS+NAA $0.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ；② MS+NAA $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ；③ MS+NAA $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。每处理接 30 株幼苗，15 d 后统计生根情况。

以上 MS 培养基中蔗糖为 $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ，卡拉胶均为 $5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ，pH 值 5.6。培养条件为：温度 $22 \sim 24 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ；光照强度 $30 \sim 40 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ ；光照时间 $12 \text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$ 。

2 结果与分析

2.1 丛生芽诱导

“神马”菊嫩茎接种 7 d 后，腋芽开始萌动，10 d 出现愈伤组织，个别开始出现丛生芽，15 d 后丛生芽逐渐增多。从对各处理芽分化结果可以看出：4 种培养基对丛生芽的诱导率均为 100%，在诱导培养基①与②上，虽然形成丛生芽时间短，但芽过于密集，且成簇生状堆积于培养基上，不利于以后的转接；诱导培养基④上丛生芽形成时间长，数量不多；而诱导培养基③上丛生芽形成时间较①与②略长，但丛生芽数量较多，质量较高。因此，适宜“神马”菊组培的诱导培养基为：MS+6-BA $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

2.2 丛生芽继代培养

继代结果表明，丛生芽在继代培养基上培养 20 d 后，继代培养基②上的丛生芽生长快且健壮（图 1），增殖率也高，为 5.2；继代培养基①上的丛生芽生长缓慢，且不断分化新的丛生芽，增殖率虽高，达 5.8，但高于 2 cm 的苗数较少；继代培养基③上的丛生芽虽高，但其分化量少，增殖率较①与②低，为 3.7。由此可见，适宜菊花丛生芽生长的最佳培养基为 MS+6-BA $1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +NAA $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

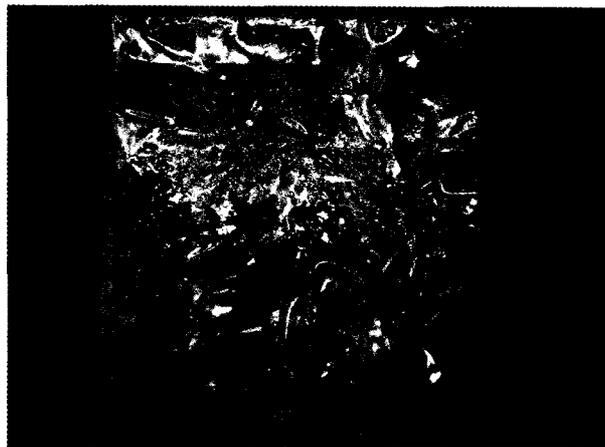


图 1 在培养基②上继代增殖 20 d 的“神马”

2.3 不定芽生根培养

观察不定芽生根情况可以看出，不定芽在 3 种生根培养基上均能生根，生根率均达 100%，且生根培养基①、②、③上不定芽平均根长无明显差异，根系长势健壮（图 2）。从经济的角度考虑，③号培养基可满足菊花组织培养生根的需要。因此，适宜菊花生根的最佳培养基为 MS+NAA $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。



图 2 在生根培养基③上生根 15 d 的“神马”

2.4 炼苗与移栽

当幼苗根长达到 4~5 cm 时，在大棚中炼苗 3 d 后，剪去生根袋袋口，继续炼苗 5 d，然后取出组培苗，洗净根部培养基，移栽入蛭石、珍珠岩、泥炭(1:1:1)混合的基质中，盖塑料薄膜保湿 7 d 左右，保持湿度 80%~90%，每天喷水 1~2 次，中午适当遮阴，半个月后移栽到大田，成活率达 82%，且长势良好。（下转第 33 页）

2.2 不定芽继代培养和快速繁殖

将培养基①中形成的愈伤组织切下转接到培养基②中, 培养 25 d 后, 从愈伤组织上分化出大量不定芽(直径 1 cm 的愈伤组织约分化 10~12 个不定芽), 将不定芽连同愈伤组织分割成 0.5 cm 小块, 接种到新配制的培养基②中, 不定芽大量增殖, 25 d 不定芽继代增殖 1 次, 增殖系数约为 3~4。

2.3 生根培养

将继代培养基中高于 1 cm 的幼苗切成单株, 分别接种于培养基③上, 培养 15 d 开始长根, 30 d 后, 每株芽长出 3~5 条长约 2~3 cm 的根, 生根率达 100%。

2.4 移栽

当小植株长到 3~5 cm 高时, 可进行移栽。移栽前先将幼苗置于室外炼苗 5~7 d(阳光过强时注意遮

阴)。然后剪开袋口将苗取出, 洗去根部培养基, 假植到椰糠、河沙(1:2)的混合基质中, 保持 85% 以上湿度, 10 d 后成活率达 98% 以上, 这时可上盆或出售小苗。

3 结论与讨论

本研究表明, 白掌茎尖组培诱导比较容易分化出芽, 试管苗增殖培养生长旺盛, 接种后幼苗很快长满整瓶, 增殖苗高度在 1 cm 以上均可获得壮苗。茎尖初代培养以 $MS+6-BA\ 2\ mg\cdot L^{-1}+AD\ 0.2\ mg\cdot L^{-1}+NAA\ 0.2\ mg\cdot L^{-1}$ 为宜, 试管苗的快繁培养基以 $MS+6-BA\ 2\ mg\cdot L^{-1}+NAA\ 0.2\ mg\cdot L^{-1}$ 为宜; $1/2\ MS+NAA\ 0.2\ mg\cdot L^{-1}$ 可以促进试管苗生根。在适宜遮荫的混合基质中, 白掌试管苗移栽成活率较高。

(上接第 31 页)

3 结论

综合 3 个培养基环节, 体现细胞分裂素 6-BA 对形成愈伤组织及促进芽分化起主导作用, 生长素 NAA 对芽的生长及生根有促进作用, 在不同阶段采用不同培养基, 可调控发展方向。从试验结果可得

出利用“神马”菊茎段组织培养程序: 茎段外植体 → 丛生芽诱导 $MS+6-BA\ 2.0\ mg\cdot L^{-1}$ → 丛生芽继代培养 $MS+6-BA\ 1.5\ mg\cdot L^{-1}+NAA\ 0.05\ mg\cdot L^{-1}$ → 不定芽生根培养 $MS+NAA\ 0.1\ mg\cdot L^{-1}$, 然后再栽培到合适的基质中培养成生产用苗。