



诱导花托产生愈伤组织



花托愈伤组织分化出芽

切花非洲菊离体快繁

□ 石文山 刘学英 于得洋 考安都

非洲菊，别名扶郎花，是菊科大丁草属多年生常绿宿根草本花卉。花冠直径8~12cm，花朵硕大，花枝挺拔，花色多而艳，切花率高，水养期长。在温暖条件下能周年不断供应切花。本文介绍非洲菊试管繁殖的诱导、分化、继代、生根、移栽等工厂化生产过程。

无菌材料的准备

供试材料为黑心、橙红色花瓣的非洲菊优良品种，株高约30cm，花冠直径10cm，花梗长40~50cm，适于切花生产。

挑选温室中生长健壮、无病虫害的优良母株，移植于花盆，放于培养室中2周。切取0.5~1.0cm的花托及幼嫩未开花的生长点作为外植体，先用自来水冲洗10分钟，再用毛刷蘸40倍的84消毒液清洗一遍，最后用无菌水漂洗干净。在超净工作台上，用70%的乙醇消毒10秒

钟，用无菌水冲洗两次，再加两滴0.1%的氯化汞消毒8~10分钟，随后用无菌水反复冲洗约8次。

以MS作为基本培养基，附加30%的市售白砂糖，0.55%琼脂，在此基础上添加不同浓度的BA、IAA、PP₃₃₃等。用1N的盐酸或氢氧化钠调节pH值至5.8。培养室温度设定为25℃±2℃，光照强度2000~3000lux，每天光照13小时。

初代培养

花托培养 花托先用无菌滤纸吸干水分，切去花柄、花萼、苞片，用解剖刀或镊子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0.3~0.5cm。花托的背面朝下，接种于诱导培养基中，每瓶放一个。

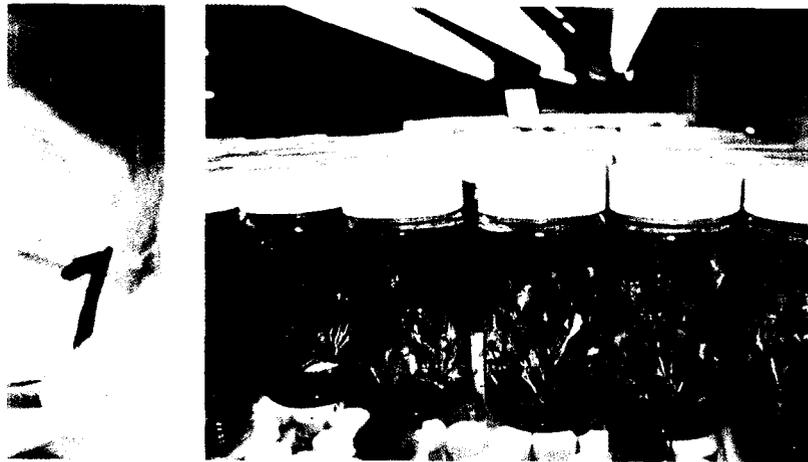
接种花托后，约7天左右切割的花托边缘开始膨大，陆续形成团状愈伤组织，

有黄、白、黄绿、深绿等颜色，形状呈瘤状突起或光滑细腻，并向外植体中央发展。材料逐渐转绿，培养1个月后，有的外植体绿色瘤状突起中央开始产生不定芽。由表1可见，不同的培养基对花托愈伤组织的诱导效果不同，6-BA浓度高于5mg/L以上时，愈伤组织的诱导率较高，其中以A7号培养基诱导率最高，不定芽诱导率也最高。

花托作为外植体取材比较方便，对母体基本不造成伤害，虽然品种之间存在差异，但在2个月内都能从愈伤组织上直接诱导产生不定芽，所以对材料较少尤其是稀有品种来说，花托是非洲菊组培快繁较为合适的外植体。

从出芽的统计结果分析，出芽数和芽的分化率随BA/IAA比值增高而递增，如图1所示。

生长点培养 生长点先用无菌滤纸



增殖培养基中的试管苗



用多效唑抑制试管苗生长

吸干水分，然后用镊子和尖头解剖刀剥去外层被消毒剂杀伤的1~2层叶柄及幼叶，茎尖保留0.5~1.0mm大小，接种于诱导培养基中，每瓶放一个。

茎尖剥离接种后，2~3天开始转绿，5~6天开始膨大，7~9天开始出现少许愈伤组织，2周以后芽慢慢开始分化。

由表2可见，不同的外植体都能诱导分化出芽，但芽的数量差别却很大。BA浓度较高的培养基出芽时间早，数量多，尤其以A6号培养基分化出芽的数量最多，形成了丛生芽，到50天时有一瓶已分化出了10多株，形成芽丛。

非洲菊的茎尖培养对培养基的要求比较宽。因此在材料充足的情况下，以茎尖作为外植体是最理想的组培快繁的材料。

继代增殖

将诱导出的不定芽，从外植体上完整地切下来，转接到16种快速繁殖培养基上，使其增殖，以达到快速繁殖的目的，还要保证试管苗的质量，以利于试管苗的生根和移栽，提高移栽成活率。第一次切割要尽量保证芽苗的完整，试管苗的基部稍留一点愈伤组织，以利于试管

苗的增殖。以后每次继代培养时最好用解剖刀分割，仍然在基部留一点愈伤组织，对丛生芽的形成有促进作用。试管苗的上部叶片可用剪刀或解剖刀去掉2/3，为丛生芽的分化和生长留出大量空间，也可以起到促进试管苗增殖的目的。第一次接种由于苗少，每瓶只接1~2株，生长2周时，分化苗达1.5cm，把分化出的小苗转接到新的增殖培养基上，每瓶接4株，以后随着苗数的增加每瓶接4株。每25天为一个周期。

在非洲菊的增殖试验中以不加多效唑的B3号培养基作为对照，可以看出添加多效唑的B3号培养基与对照相比增殖系数有所增加，苗的高度有所下降，叶数

表1 不同的激素组合对花托愈伤组织的诱导与出芽情况比较

激素组合 (mg/L)	外植体个数	愈伤组织诱导率 (%)	苗数 (个)	不定芽诱导率 (%)
A1(BA0.5+IAA0.25)	12	0	0	0
A2(BA1.0+IAA0.5)	12	25	0	0
A3(BA1.0+IAA0.1)	12	33	3	25
A4(BA2.0+IAA0.2)	12	50	4	33
A5(BA5.0+IAA0.2)	12	75	8	66
A6(BA10+IAA0.5)	12	66	6	50
A7(BA10+IAA0.1)	12	83	9	75
A8(BA0.2+IAA0.1)	12	—	0	0

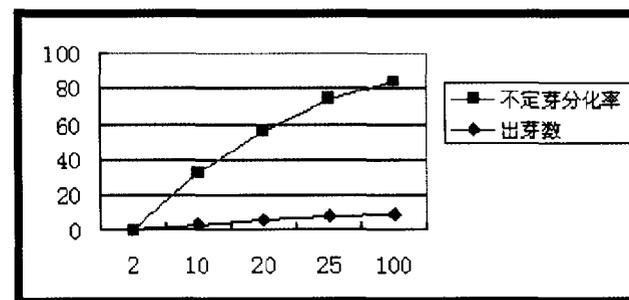
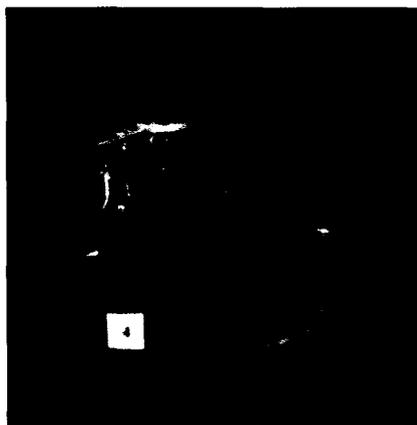


图1 BA/IAA 的比值对花托分化出芽的影响



A6号培养基茎尖分化出芽丛



C4号培养基试管苗生根

有所增加, 苗变得粗壮, 叶色变绿。

在增殖培养基中添加多效唑, 浓度以0.05mg/L为好, 当浓度达0.2mg/L时会严重抑制非洲菊试管苗的生长, 几乎所有培养基的试管苗生长速度都非常慢, 植株缩成一团, 增殖倍率都在3以下, 颜色呈现浓绿色。

非洲菊试管苗在上述B1~B8号增殖培养基中继代几次以后发现, 不能在每次继代增殖培养中都添加多效唑, 添加一次的效果可以维持2~3代。B6、B7、B8号培养基继代3次以后, 都会出现玻璃化现象。

分析结果表明6-BA浓度不宜高于1.0mg/L, BA浓度1.0mg/L以上时, 随BA浓度的增加, 增殖系数呈下降趋势。如果一味盲目提高繁殖系数而忽视试管

表2 不同培养基对茎尖诱导分化出芽的影响 (35天统计结果)

激素组合 (mg/L)	出芽数 (个)	不定芽分化率 (%)	出芽率 (%)
A1 (BA0.5+IAA0.25)	2	50	100
A2 (BA1.0+IAA0.5)	3	50	150
A3 (BA1.0+IAA0.1)	8	100	400
A4 (BA2.0+IAA0.1)	7	100	350
A5 (BA2.0+IAA0.2)	5	100	250
A6 (BA3.0+IAA0.2)	9	100	450

表3 不同培养基对试管苗增殖的影响

培养基激素组合 (mg/L)	接种苗数 (株)	增殖倍数	芽长 (cm)	叶数 (个)	叶片颜色
B1 (BA0.2+IAA0.1)	8	6.5	3.6	3.6	深绿
B2 (BA0.5+IAA0.1)	8	7.1	3.7	3.5	绿
B3 (BA0.5+IAA0.25)	8	7.3	3.6	3.75	绿
B4 (BA1.0+IAA0.1)	8	6.5	3.8	3.4	淡绿
B5 (BA1.0+IAA0.2)	8	6.8	3.4	3.25	淡绿
B6 (BA1.0+IAA0.5)	8	6.1	3.0	3.1	淡绿
B7 (BA2.0+IAA0.2)	8	6.4	2.7	3.1	黄绿
B8 (BA5.0+IAA1.0)	8	6.3	2.8	3	严重黄绿
B9 (BA0.2+IAA0.1)	8	2.1	0.7	2.5	浓绿
B10 (BA0.5+IAA0.1)	8	2.25	0.75	2.62	浓绿
B11 (BA0.5+IAA0.25)	8	2.37	0.75	2.62	浓绿
B12 (BA1.0+IAA0.1)	8	2.5	0.8	2.75	浓绿
B13 (BA1.0+IAA0.2)	8	2.5	0.8	2.75	浓绿
B14 (BA1.0+IAA0.5)	8	2.5	0.8	2.62	浓绿
B15 (BA2.0+IAA0.2)	8	2.62	0.75	2.5	浓绿
B16 (BA5.0+IAA1.0)	8	2.62	0.75	2.5	浓绿
B3 (不加多效唑)	8	7.1	4.8	3.6	黄绿

注: B1~B8号培养基添加PP₃₃₃0.05mg/L, B9~B16号培养基添加PP₃₃₃0.2mg/L

表4 不同培养基对生根的影响

培养基 (1/2MS) (mg/L)	平均根数 (条)	根长 (cm)	生根率 (%)
C1 (NAA0.01+ PP ₃₃₃ 0)	4.2	1.6	100
C2 (NAA0.03+ PP ₃₃₃ 0)	4.9	1.8	100
C3 (NAA0.01+ PP ₃₃₃ 0.02)	4.5	1.7	100
C4 (NAA0.03+ PP ₃₃₃ 0.02)	5.1	1.9	100



移栽成活后的试管苗



盆栽非洲菊试管苗开花

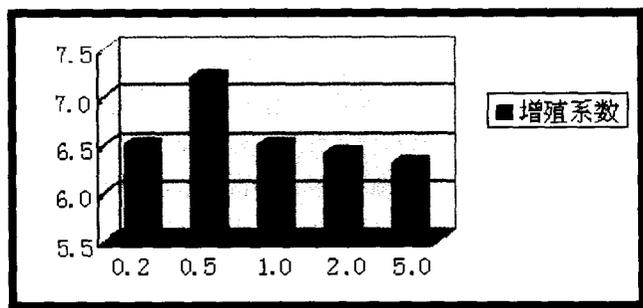


图2 BA 浓度对非洲菊增殖的影响

苗的质量, 往往造成试管苗生根困难和移栽成活率降低, 因此非洲菊试管苗的增殖应采用低浓度 BA, 以 0.5mg/L 比较适于非洲菊试管苗的继代增殖, 每 25 天继代一次 (见图 2)。

生根培养

将高度为 3.0~3.5cm 左右的非洲菊无根试管苗, 接种于表 4 的生根培养基中, 观察并记录试管苗的发根时间、根的生长速度、粗细和试管苗的长势与长相, 筛选出适合的生根培养基。

添加多效唑的两种培养基比不加多效唑的表现要好, 比对照提前一天生根, 根数和根长都有所增加, 生的根也比较粗壮, 同时叶片的颜色都表现为绿色, 很适于驯化移栽, 可提高移栽成活率, 尤以

C4 号培养基最好, 而对照的颜色都是黄绿色。

驯化移栽和养护

将根长为 0.5~1.5cm 的非洲菊试管苗转移到温室中, 炼苗 3 天, 然后打开封口膜继续炼苗 2 天, 倒入

少许清水摇动, 小心取出试管苗, 仔细洗去根系上附着的琼脂, 在 600~800 倍多菌灵溶液中浸泡 5~10 分钟, 移栽到草炭: 蛭石: 珍珠岩为 3: 2: 1 的混合基质中 (基质提前 1 天用水浸透)。注意移栽时苗要正, 尤其深浅要适宜, 以露出根颈部为准, 做到深不露颈、浅不露根。再用上述多菌灵溶液连苗带基质喷洒, 直至喷透, 覆膜保湿。如果温度过高则加盖遮阳网, 既可遮阳又能降温, 可以有效提高移栽成活率。2 周后逐渐揭膜通风, 并用 1/10MS 溶液喷洒, 1 周后可以去掉薄膜, 转入正常管理。

非洲菊移栽和定植时尽量浅栽, 即根颈与土面略齐, 否则易引起根颈腐烂。浇水时, 只宜在沟内灌水。

非洲菊喜偏微酸性的壤土, 每

1000m² 可用 300kg 腐熟菜饼、150kg 过磷酸钙、150kg 氮磷钾复合肥及 1500kg 腐熟的牛粪混合后翻入土中作为基肥。畦宽 1.2m, 畦高 25cm。每畦种 3 行, 株距 30~35cm。1000m² 共种 4000~5000 株。除炎热的夏季外其余时间均可定植。非洲菊根系中有一种横截面直径达 0.5cm 的老根, 被称为收缩根, 因为它具有收缩并把植株向下拉的能力。因此, 非洲菊的定植深度以浅栽为原则。要求根颈露出土表 1.0~1.5cm, 并浇好第一次定根水。反之, 如果栽种过深, 定植后生长慢, 甚至死亡。

在生长期应充分供给水分。冬季温室内需视温度和生长情况酌情少浇水。浇水时要注意叶丛中心不能积水, 保持干燥, 不然花芽容易腐烂。非洲菊只要温度适宜一年四季能开花不断, 因而在整个生育期要不断进行追肥, 以补给养分消耗。肥料以氮磷钾复合肥为主, 一般每 10~15 天施 1 次, 当发现花后叶弱、叶小、叶少时, 应适当增加氮肥。

应经常将非洲菊外层老叶摘除, 改善光照和通风条件, 减少病虫害的发生, 利于新叶和花芽的萌生, 促进开花, 提高单株切花量。■