

木本菊的组织培养及快繁技术研究

杨玉田, 朱宗贵, 刘富先 (山东省枣庄市农科院, 山东枣庄 277322)

摘要 以木本菊茎段为外植体, 研究了木本菊的组织培养及快繁技术。结果表明, 最佳芽分化培养基是 MS + 1.0 mg/L 6-BA + 0.1 mg/L IAA + 1.0% 糖, 约 60~70 d 可诱导出丛生芽; 在 MS + 0.5 mg/L 6-BA + 0.2 mg/L NAA + 1.0% 糖的培养基上增殖速度最快, 每升 10 g 的蔗糖浓度也最有利于芽的增殖; 最适的扎根培养基是 1/2 MS + 0.1~0.3 mg/L NAA + 1.0% 糖或 1/2 MS + 0.05 mg/L 6-BA + 0.5 mg/L NAA + 1.0% 糖, 6~10 d 可扎根, 35~40 d 可移栽。

关键词 木本菊; 组织培养; 快繁技术

中图分类号 Q943.1 **文献标识码** B **文章编号** 0517-6611(2007)19-05740-01

Studies on Tissue Culture and Rapid Propagation Technique in Woody Chrysanthemum

YANG Yu-tian et al (Zaozhuang Academy of Agriculture Science of Shandong Province, Zaozhuang, Shandong 277322)

Abstract The lab test with stem segment of woody chrysanthemum as explant showed that the optimum bud differentiation medium was MS + 1 mg/L 6-BA + 0.1 mg/L IAA + 1.0% sugar, which induced the cluster bud after culturing for 60~70 days. The multiplication speed on the medium of MS + 0.5 mg/L 6-BA + 0.2 mg/L NAA + 1.0% sugar was the highest. The cane sugar concentration 10.0 g/L was most in favor of bud multiplication. The optimum rooting medium was 1/2 MS + 0.1~0.3 mg/L NAA + 1.0% sugar or 1/2 MS + 0.05 mg/L 6-BA + 0.5 mg/L NAA + 1.0% sugar, which could take the root at 6~10 days and transplanted at 35~40 days.

Key words Woody chrysanthemum; Tissue culture; Rapid propagation

木本菊为多年生的灌木植物, 主干直径可达 50 cm, 有的品种能存活几十年, 甚至几百年, 花谢后仍然枝繁叶茂, 朝气蓬勃, 且不受季节限制, 可人为控制应时开花。而且木本菊木桩苍老奇特极富古朴野趣, 在无花期亦具有很高的观赏价值, 可广泛用于制作各种树桩盆景和菊艺造型, 集树、花、盆景的美学价值于一体, 使菊花的审美价值得到了升华。同时, 木本菊能和各种草本菊花进行亲和, 通过嫁接、矮化、剪扎造型等技术生产各色盆景, 其市场前景非常广阔。木本菊的国内资源奇缺, 为了满足市场需求, 笔者进行了木本菊的组织培养及快繁技术研究。

1 材料与方法

1.1 植物材料 供试材料为木本菊嫩茎顶部 3~4 cm 的茎段。

1.2 方法

1.2.1 外植体消毒。 切取木本菊嫩茎顶部 3~4 cm 的茎段, 剪去叶片, 用自来水冲洗 30 min, 75% 的酒精浸泡 10 s, 用 0.1% 的升汞(HgCl₂)浸泡 5~6 min, 无菌水冲洗 5~6 次, 无菌滤纸吸干表面水分, 置无菌条件下接种。

1.2.2 初代和增殖培养。 以 MS 为基本培养基, 添加不同浓度配比的 6-BA(6-苄基氨基嘌呤)0.5~2.0 mg/L, IAA(吲哚乙酸)0.1~0.5 mg/L, NAA(萘乙酸)0.2 mg/L, 糖 1.0%~3.0%, 琼脂 6 g/L, pH 值 5.7。将木本菊的嫩茎顶部切成 0.1 cm 大小接种于事先配好的培养基中, 约需 60~70 d, 愈伤组织分化出丛生芽, 将含有丛生芽的愈伤组织切成带有 6~8 个丛生芽的芽块放到增殖培养基中, 每瓶转接 3 块, 每个配比转接 10 瓶, 培养 40 d 后统计增殖芽数, 并剪取最高 10 株测量株高。

1.2.3 生根培养。 当继代培养苗高 1 cm 时, 将其剪下转入 1/2MS 基本培养基中, 添加 6-BA 0.05 mg/L, NAA 0.5 mg/L, 1.0% 的糖, 琼脂 6 g/L, pH 值 5.7。培养条件: 光照强度 1 600~3 000 lx, 光照时间 14 h, 温度 24~26 ℃。

2 结果与分析

2.1 不同激素配比对芽分化的影响 木本菊茎尖接种后, 先形成愈伤组织, 而后愈伤组织分化, 长出不定芽。芽分化速度的快慢与激素的配比有关, 在 MS 附加 6-BA 1.0 mg/L 和 IAA(吲哚乙酸)0.1 mg/L 的培养基中, 最有利于芽的分化。木本菊愈伤组织形成时间相对较长, 芽的诱导形成需 60~70 d。

2.2 不同的激素配比对芽增殖的影响 由表 1 可知, 木本菊茎尖经诱导产生的丛生芽, 在 MS 附加 6-BA 0.5 mg/L, NAA 0.2 mg/L 和 1% 糖中, 芽的增殖速度最快, 叶片明显大, 叶色深绿, 茎生长明显。当 6-BA 的浓度加大到 1~2 mg/L 时, 分化的芽稠密, 叶片极小, 茎生长不明显, 很难进行生根培养。

表 1 不同激素配比对芽增殖的影响

代号	培养基成分	转接块数	分化芽数	叶片大小	叶色	茎高
①	MS + 0.5 mg/L 6-BA + 0.1 mg/L IAA + 3.0% 糖	30	619	小	鲜绿	不明显
②	MS + 1.0 mg/L 6-BA + 0.5 mg/L IAA + 3.0% 糖	30	423	稍小	下部叶变褐	不明显
③	MS + 2.0 mg/L 6-BA + 0.2 mg/L NAA + 3.0% 糖	30	728	小	鲜绿	不明显
④	MS + 0.5 mg/L 6-BA + 0.2 mg/L NAA + 2.0% 糖	30	698	稍大	绿色	0.64 cm
⑤	MS + 0.5 mg/L 6-BA + 0.2 mg/L NAA + 1.0% 糖	30	929	明显大	深绿	0.91 cm

2.3 不同的蔗糖浓度对木本菊快繁的影响 由表 1 可知, 蔗糖的浓度对木本菊的快繁也是一个重要的影响因素。实验结果表明, 在含 30.0 g/L 蔗糖的培养基中, 6-BA 的浓度从 0.5~2.0 mg/L 分化地芽紧密的连在一起, 茎生长不明显。当蔗糖的浓度降到 20.0 g/L, 培养 40 d 的茎高为 0.64 cm; 蔗糖的浓度降到 10.0 g/L, 培养 40 d 的茎高为 0.91 cm, 同时木本菊芽的增殖数量增多, 单株芽健壮, 叶片颜色变深, 因而在 10.0 g/L 的蔗糖浓度下最有利于芽的增殖, 蔗糖的浓度超过 10.0 g/L 时, 芽的增殖受到抑制。

2.4 生根培养与移栽 当木本菊的增殖芽长至 1 cm 时, 即可将其剪下转接于生根培养基中, 其适合的生根培养基的配

(下转第 5774 页)

作者简介 杨玉田(1962-), 女, 山东枣庄人, 高级农艺师, 从事组织培养工作。

收稿日期 2007-03-01

(丹顶红白和段红白)、白色及黄色为主,搭配数尾德国系的浅黄秋翠,上午 10:00 采用一次胸鳍注射法人工催产。雌鱼注射鱼用 $5 \mu\text{g/kg}$ LRH-A₂,雄鱼剂量减半,注射后将亲鱼放入产卵池中。1 号产卵池放入注射催产剂后的雌鱼 17 尾,雄鱼 20 尾;2 号产卵池放雌鱼 18 尾,雄鱼 20 尾。注射激素到亲鱼发情产卵的效应时间为 18~20 h,产卵过程可持续 3~5 h。

1.2.2.4 采卵孵化^[2]。产卵结束后,将粘附鱼卵的鱼巢从产卵池中取出,用 5% 食盐水浸泡 10 min 后,平均分成 2 批,分别放入 2 个设置在鱼苗培育池的网箱中孵化,平均水温 24.5℃,55~60 h 后可以孵出鱼苗。孵化期用水要求采用清新无污染并且经过曝气的地下水作水源,溶解氧充足,pH 值为 7~8。孵化期间用“水霉净”泼洒,使网箱内及其周围局部浓度达到 0.3 mg/L,以防止鱼卵感染水霉;每天用刷子刷洗网箱外测 1 次,保证箱内外水体顺利交换。

1.2.3 鱼苗培育技术。待鱼苗能够平游后,需在网箱中暂养 3 d,投喂鸡蛋黄滤出液。3 d 后要及时撤掉网箱放苗,操作时要轻柔。次日开始用豆浆饲养法饲养,每天投喂 3 次,坚持“三边两满塘”的泼洒方法。适时加注新水保持水位在 1.0 m 左右。经过 20 多 d 的培育,鱼苗可长至 3 cm 左右,此时即可选苗、出售或分池饲养。分池前要经过 3 次拉网锻炼,每天一次。第 1 天先用鱼苗网把鱼赶到池塘一侧,不起网,困 10 min 后把鱼放掉;第 2 天把鱼赶到池塘一角,不起网,困 20 min 后放鱼;第 3 天把鱼赶到池塘一角起网后,在网内困 10 min 放鱼。经过 3 次拉网锻炼后,即可进行分池操作和选苗工作。每次挑选时间间隔为 20 d 左右,目的是去劣留优^[3]。一般经过 3~4 次挑选后,剩下的锦鲤夏花即可出售或作为鱼种进行饲养。每次挑选后,全池泼洒二氧化氯制剂一次,使制剂在池水中浓度达 0.5 mg/L。

2 结果与分析

2.1 最佳试验条件 采用 LRH-A₂ 胸腔一次注射法催产日本锦鲤可以达到较好的人工繁殖效果,平均水温 22.5℃时,效应时间约为 18~20 h。

2.2 怀卵量和受精率 由于日本锦鲤亲鱼雌鱼年龄均已达 4 冬龄,卵巢发育良好,繁殖机能旺盛,所以怀卵量较大,雄鱼发育很好,因此受精率也较高。

2.3 繁殖量 直接用鱼苗池进行日本锦鲤受精卵的孵化既方便,又能够保证较高的孵化率和成活率,试验采用 1 333.4 m² 的鱼苗培育池 2 个,共培育日本锦鲤夏花鱼种 50 万尾,经过 3 次挑选后剩余约 20 万尾日本锦鲤可作为夏花鱼种出售或继续饲养。

2.4 遗传性能 选择品系较纯的日本锦鲤亲鱼进行繁殖,遗传性能稳定,体表有彩色及色斑的鱼占 80%~90%,反族现象(后代体表无彩色或色斑出现率)比例较低,一般仅为 10%~20%。

3 小结与讨论

3.1 卵的采集 注射激素后采取在水中自然产卵受精,为提高采卵量,在水底沉入鱼巢,可以有效地避免卵粒沉落而粘附于池底。

3.2 卵的孵化 鱼苗池兼作孵化池,用水讲究,并且合理安排时间。池塘需要在产卵前 10 天左右排干池水,用生石灰清塘消毒,并曝晒数日后,在入卵孵化前 2 天注井水使水位升高 30 cm 晒水,使水温与环境温度一致,待鱼苗孵出平游后,池塘水质基本适宜鱼苗生长。加水过早或过迟,都会降低成活率。

3.3 选苗 日本锦鲤在鱼苗培育时,选苗是既繁琐又必要的日常工作,因此不仅要准备好充足的人力和工具,而且时间要充足,还要耐心细致,第 1 次被淘汰的鱼为无色斑的鱼,基本没有饲养价值,可作为肉食性鱼的活饵料或直接淘汰。第 2、3、4 次被剔除的鱼仍有一定的饲养价值,如果养成鱼种及成鱼,可以销往垂钓塘或庭园小池塘饲养,而且价格比食用鲤要高。鉴于较高的淘汰率,繁殖时一定要挑选较好品系的鱼作为亲鱼。

3.4 拉网锻炼 在准备选苗的前几天必须对池中鱼苗进行拉网锻炼,因为每次选鱼花费的时间都较长,不经过锻炼的鱼,在挑选过程中会因不耐低氧环境而死亡。

参考文献

- [1] 张绍华,郁倩辉,赵承萍.金鱼 锦鲤 热带鱼[M].2 版.北京:金盾出版社,2001:128~132.
- [2] 陈万光,郭国强,张耀武.日本锦鲤人工繁殖及鱼苗培育试验[J].科学养鱼,2005(10):72~73.
- [3] 章之蓉,唐思良,李彪,等.锦鲤[M].北京:中国农业出版社,2002:80~88.

(上接第 5740 页)

比为 1/2MS+0.1~0.3 mg/L NAA+1.0%糖或 1/2MS+0.05 mg/L 6-BA+0.5 mg/L NAA+1.0%糖,一般 6~10 d 开始长根,35~40 d 即可长成 2~3 cm 高的带根苗。将培养好的带根苗置于常温下揭去瓶盖炼苗 3~4 d,取出苗洗净根部的培养基移栽于蛭石中,按 10 cm 的行株距把幼苗栽入,后用塑料薄膜覆盖保持温湿度,7~10 d 苗成活后去掉薄膜进行正常管理,其成活率可达 90% 以上,生长期可用 1/5 MS 大量元素的水溶液作追肥,可加快苗的生长。

3 小结

实验结果表明,木本菊茎尖接种于 MS+1.0 mg/L 6-BA

+0.1 mg/L IAA+1.0%糖的培养基上最有利于芽的分化,其分化芽在 MS+0.5 mg/L 6-BA+0.2 mg/L NAA+1.0%糖的培养基上增殖速度最快,叶片明显增大,叶色深绿,茎生长明显,其适合的生根培养基为 1/2MS+0.05 mg/L 6-BA+0.5 mg/L NAA+1.0%糖,6~10 d 开始生根,35~40 d 即可移栽。

参考文献

- [1] 王玉珍,徐进,罗景兰,等.草樱花组培快繁技术的研究[J].山东农业科学,2004(6):6~8.
- [2] 王志,朱万琴.驱蚊香草的组织培养及快繁技术[J].山东农业科学,2004(6):8~9.