

非洲菊的组培快繁

陈晓静, 李梅婷, 林 馨

(福建农林大学园艺学院, 福建农林大学园艺植物遗传育种研究所, 福建 福州 350002)

摘要: 以非洲菊红花黄芯品系 F_1 幼苗的带芽短缩茎、无芽短缩茎、叶片和盆花的花托作外植体, 进行组培快繁研究。结果表明: 诱导愈伤组织及芽的增殖培养基均以 $MS + 3.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{BA} + 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NAA}$ 为佳, 生根培养基以 $1/2 \text{ MS} + 0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} 2, 4\text{-D}$ 为好; 带芽短缩茎作外植体与无芽短缩茎、嫩叶和花托相比, 明显缩短了愈伤组织诱导期和芽苗的诱导分化期。

关键词: 非洲菊; 组织培养; 快速繁殖

中图分类号: S682.2

文献标识码: A

文章编号: 1671-5470(2006)02-0169-04

In vitro propagation of *Gerbera jamesonii*

CHEN Xiao-jing, LI Mei-ting, LIN Xin

(College of Horticulture; Institute of Genetics & Breeding Horticultural Plants, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, Fujian 350002, China)

Abstract: The tissue culture and rapid propagation of *Gerbera jamesonii* was mainly studied from the explants of stem nodes with buds. Compared with the explants of receptacles and tender leaves, it significantly shortened the inducing and differentiating period of the shoots, as well as the inducing period of callus. The solid MS medium with $3.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{BA}$ and $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NAA}$ was suitable for both the inducement of callus and the multiplication of shoots; then the solid $1/2 \text{ MS}$ medium supplemented with $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} 2, 4\text{-D}$ was suitable for the induction of roots.

Key words: *Gerbera jamesonii*; *in vitro* culture; rapid propagation

非洲菊(*Gerbera jamesonii* Bolus), 别名扶郎花, 系菊科宿根草本花卉。其植株风韵秀美, 花色艳丽多彩, 花期长, 产花量高, 是切花和盆花兼用的优良观赏花卉, 现已跻身世界五大切花之一, 并以其独特的魅力风靡全球。

非洲菊传统生产上常采用播种和分株繁殖。种子寿命短, 发芽率低, 自然授粉的种子后代变异大, 难以保持原有品种的优良性状。 F_1 种子价格昂贵, 切花成本高。分株繁殖系数低, 无法满足产业化生产的要求。20 世纪 70 年代后, 国内外相继开展了非洲菊组织培养和快速繁殖的研究。Pierik et al^[1] 首先报道了用非洲菊的花托和花萼诱导出芽。杨桂芬等^[2]、王春彦等^[3] 以花托为外植体进行离体培养得到植株。余显荣等^[4] 用无菌种子苗切段快速诱导芽的发生, 明显缩短了愈伤组织的诱导期。本试验以非洲菊 F_1 种子培育出的无根试管苗叶片、带芽短缩茎、无芽短缩茎及盆花的花托为外植体进行组织培养研究, 以期筛选出快速繁殖的适宜外植体和较佳培养基。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试材料为福州缤纷园艺场提供的非洲菊红花黄芯品系 F_1 种子和盆花。

1.2 试验方法

1.2.1 外植体的消毒 选取新鲜、饱满的非洲菊 F_1 种子并将其用纱布包好, 在无菌条件下, 用体积分数为 75% 的酒精浸泡 1 min, 再用质量分数为 0.1% 的 HgCl_2 表面灭菌 10 min 后, 无菌水冲洗 4-6 次, 滤干水分接种于培养基中, 暗培养 5-7 d, 再进行光照培养。

从长势健壮的非洲菊盆栽植株上剪取直径 0.5-1 cm 的带蕾花托, 花托朝下置于洗涤剂中浸泡 5

收稿日期: 2005-11-21 修回日期: 2006-02-22

作者简介: 陈晓静(1954-), 女, 副教授, 研究方向: 园艺植物遗传育种。

min, 然后用流水冲洗 1 h. 剪掉花梗, 去除花萼及舌状花瓣, 在无菌条件下, 用 75% 酒精浸泡 30 s, 再用 0.1% HgCl_2 消毒 10 min 后, 用无菌水冲洗 4-6 次备用.

1.2.2 培养基 以 MS 和 1/2MS 基本培养基附加不同含量的 BA、NAA、KT 和 $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 蔗糖、 $7 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 琼脂, 调至 pH 5.8, 配制成带芽短缩茎、无芽短缩茎、叶片的诱导分化培养基 7 种, 花托愈伤组织诱导培养基 4 种, 芽苗增殖培养基 6 种, 生根培养基(附加质量分数为 0.2% 的活性炭)4 种.

1.2.3 培养条件 培养室温度为 $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$, 光照强度 1500-2000 lx, 光照时间 $12 \text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$.

1.2.4 接种 在超净工作台上, 将 F_1 种子培养的无菌苗(高 3-4 cm)的根系切除, 再分切成 0.5 cm 左右的带芽短缩茎、无芽短缩茎和 $4 \text{ mm} \times 4 \text{ mm}$ 的叶块, 分别接种到 MS 附加不同组合生长调节剂的 7 种诱导分化培养基上; 每个消毒过的花托切成 4 块, 分别接种到 4 种不同的诱导愈伤组织培养基上. 4 周后统计出愈数和出芽率.

1.2.5 继代培养 在无菌条件下, 将初代培养中诱导出的高 3-5 cm 的芽苗分切成带芽短缩茎转到 6 种增殖培养基上. 培养 25 d 后, 观察芽苗生长状况, 统计增殖率.

1.2.6 生根和移栽 在无菌条件下, 将 3-3.5 cm 左右的丛生芽苗分切成单株, 分别转入生根培养基诱导生根, 2 周后统计生根率. 待小苗长出 4-5 条根, 根长约 1-2 cm 时, 打开瓶盖, 置于散射光下炼苗 3-5 d 后, 取出瓶苗, 洗去根部培养基, 植于消毒过的混合基质(腐殖土: 蛭石: 泥炭土 = 1:1:1)上. 浇足定根水, 盖上塑料薄膜, 保温保湿 ($\text{RH} = 90\%$ 左右, $t = 20-30^\circ\text{C}$), 注意避免阳光直射. 1 周后揭去塑料膜, 逐步加强日照, 并视苗情喷施稀薄营养液, 防治病虫害. 15 d 后统计成活率.

2 结果与分析

2.1 无菌试管苗的培养

消毒过的种子于 1/2 MS + 0.2% 活性炭的培养基中暗培养, 5-6 d 后种子陆续发芽, 移入光照培养 3 周后, 小苗长出 3-4 片真叶(图 1A). 污染率为 0.08%, 发芽率为 62.60%.

2.2 培养基对非洲菊愈伤组织诱导和分化的影响

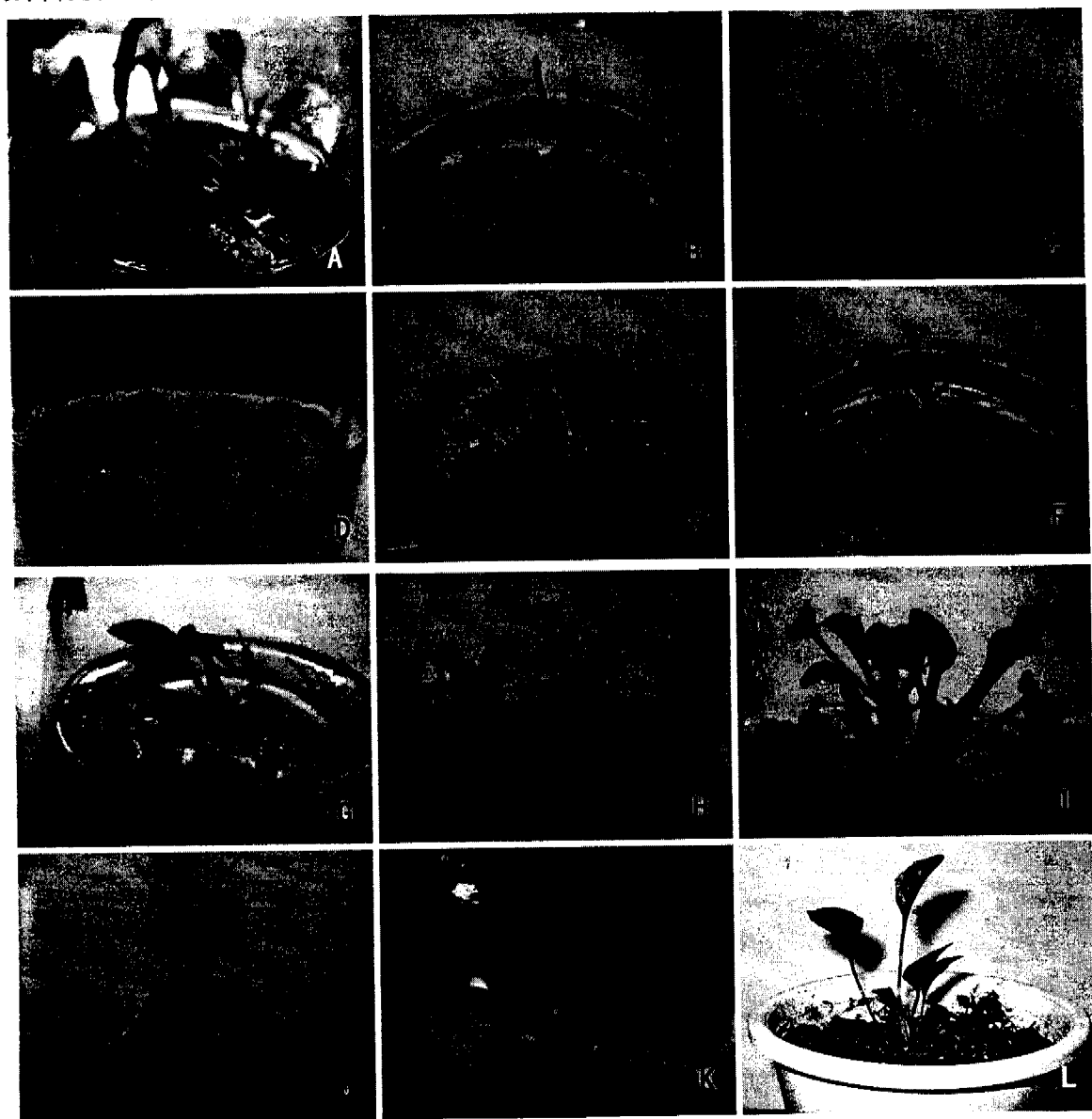
F_1 无菌苗的带芽短缩茎、无芽短缩茎、叶片和盆花的花托分别接入 7 种培养基数日后, 均可见不同程度的切口处膨大、突起和愈伤组织的形成. 发生的时间依次为带芽短缩茎最早, 无芽短缩茎和叶片次之, 花托最迟. 带芽短缩茎接入 MS + $3.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ BA + $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA 培养基 4-6 d 后, 茎段基部膨大(图 1B), 15-20 d 萌发新芽. 随着芽苗的不断生长, 丛生苗基部新芽不断萌发. 4 周后, 96.7% 带芽短缩茎形成有 3-6 个芽的丛生苗(图 1C). 无芽短缩茎和叶片接入 MS + $3.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ BA + $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA 培养 20 d 左右, 切口周围增厚, 渐渐产生青绿色边缘透明的愈伤组织(图 1D). 4 周后, 47% 的叶块萌发新芽. 花托接种于 MS + $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ BA + $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA、MS + $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ BA + $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA、MS + $3.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ BA + $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA、MS + $4.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ BA + $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA 等 4 种培养基中, 20 d 后表面出现青绿色的愈伤组织, 其愈伤组织增长速度快, 颜色逐渐加深, 形成绿色粗壮隆起(图 1E), 但 4 周内均未诱导出芽.

7 种不同激素配比的培养基对非洲菊带芽短缩茎诱导分化的结果见表 1. 从表 1 可看出, 低浓度的 BA 虽能诱导出芽, 但成芽率较低, 且芽苗生长势弱(图 1F). 当 NAA 浓度为 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 随着 BA 浓度的提高, 成芽率逐渐提高; BA 浓度提高到 $3.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 成芽率最高, 达到 96.7%, 且芽苗生长健壮(图 1C); 而后再提高 BA 浓度, 其成芽率反而下降, 芽苗长势也变弱(图 1G). 低浓度的 NAA 有利于诱导非洲菊茎段分化成芽, 随着 NAA 浓度的提高, 表现为分化率降低. 附加 KT 不但没有提高成芽率, 而且出现抑制芽苗的分化现象. 综合考虑成芽率和芽苗的质量, 我们认为非洲菊的带芽短缩茎是诱导芽苗分化的适宜外植体, MS + $3.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ BA + $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA 为诱导带芽短缩茎分化成芽的较佳培养基.

2.3 培养基对非洲菊芽苗增殖的影响

将初代培养诱导出高达 3-5 cm 的芽苗分切成带芽短缩茎, 转接到 6 种不同的继代培养基上, 结果(表 2)显示: 6 种继代培养基均可使芽苗增殖, 但不同激素类型和不同浓度组合的培养基对非洲菊芽苗的增殖效果不同. 在 BA 和 NAA 的激素组合中, BA 浓度从 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 提高到 $3.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 伴随着 NAA 从 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 提高到 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 增殖系数可从 7.80 上升到 11.07. 但从生长情况看, 非洲菊芽苗对 NAA 较为敏感, 浓度稍高即表现出褪绿现象, 且叶片细长、缺刻深(图 1H). 附加 KT 后, 芽苗增殖系数下降, 表现出与初代培养相同的结果. 鉴于 MS + $3.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ BA + $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA 培养基的增殖系数高, 培养出

的芽苗健壮且较整齐(图 1I),我们认为非洲菊带芽短缩茎的增殖培养基以此为佳。



A. 无茵苗;B. 带芽茎节基部膨大;C. 嫩叶诱导出愈伤组织;D. 芽茎节诱导分化的丛生芽;E. 花托诱导出愈伤组织;F. 低浓度 BA 诱导成芽情况;G. 高浓度 BA 诱导成芽情况;H. 芽苗的褪绿现象;I. 芽苗增殖情况;J. 芽苗生根情况;K. 生根后芽苗生长状况;L. 移栽组培苗。

图 1 非洲菊组织培养与快速繁殖

Fig. 1 *In vitro* propagation of *G. jamesonii*

表 1 不同激素配比的培养基对非洲菊带芽短缩茎诱导分化成芽的影响

Table 1 Effects of different phytohormone combination on the induction of buds of *G. Jamesonii*

$\rho(\text{BA})/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	$\rho(\text{NAA})/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	$\rho(\text{KT})/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	外植体数/个	成芽数/个	成芽率/%	芽苗生长状况
1.0	0.1	0	30	23	76.7	生长慢,弱小
1.0	0.1	1.0	30	17	56.7	生长慢,较弱
2.0	0.1	0	30	25	83.3	生长快,较弱
2.0	0.1	2.0	30	14	46.7	生长中,较弱
2.0	0.2	0	30	21	70.0	生长慢,弱小
3.0	0.1	0	30	29	96.7	生长快,健壮
4.0	0.1	0	30	26	86.7	生长快,较弱

2.4 生根培养

增殖培养 30 d 后,将高为 3-3.5 cm 左右的无根苗分离出来,转接于 4 种生根培养基上,1 周左右均可陆续生根。从表 3 可见,生根的基本培养基以 1/2 MS 优于 MS;在附加 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 2,4-D 或 $0.2 \text{ mg} \cdot$

L^{-1} IBA 培养基中的生根率均可达 100%, 优于附加 NAA; 2, 4-D 诱导生根培养 3 周后, 幼苗叶片宽大, 颜色浓绿, 整株健壮, 试管苗的质量最好(图 1J、K)。

表 2 培养基对非洲菊芽苗增殖的影响¹⁾

Table 2 Effects of different phytohormone combination on buds proliferating of *G. Jamesonii*

$\frac{\rho(BA)}{mg \cdot L^{-1}}$	$\frac{\rho(NAA)}{mg \cdot L^{-1}}$	$\frac{\rho(KT)}{mg \cdot L^{-1}}$	接种芽数/个	增殖芽苗数/个	平均增殖系数	苗高/cm	叶形	叶色
1.0	0.1	0	15	117	7.80	2-3.0	叶缘卷缩	极浓绿
1.0	0.1	1.0	15	89	5.93	2-2.5	叶缘卷缩	较浓绿
2.0	0.1	2.0	15	68	4.53	2-2.5	叶缘卷缩	较浓绿
2.0	0.1	0	15	120	8.00	2-3.0	叶缘微卷	较绿
3.0	0.1	0	15	125	8.30	3-3.5	叶平展	绿
3.0	0.2	0	15	166	11.07	3-3.5	叶平展	淡绿

¹⁾ 继代 30 d 后观察。

表 3 培养基对非洲菊生根的影响¹⁾

Table 3 Effects of different media on rooting of *G. Jamesonii*

基本培养基	$\frac{\rho(\text{激素})}{mg \cdot L^{-1}}$	接种株数	生根株数 (14 d)	生根率/%	生根株数 (25 d)	生根率/%	平均根数
MS	0.2 NAA	15	5	33.3	10	66.7	1.7
1/2MS	0.2 NAA	15	12	80.0	13	86.7	2.4
1/2MS	0.2 2,4-D	15	15	100.0	15	100.0	3.5
1/2MS	0.2 IBA	15	15	100.0	15	100.0	3.0

¹⁾ 转入生根培养基 14 d 后的生根状况。

2.5 炼苗及移栽

当小苗生根 4-5 条、根长 1-2 cm 时, 将幼苗移出培养室, 在自然光照下炼苗 3-5 d 后, 移栽至混合基质中, 幼苗成活率可达 95% 以上, 且生长健壮(图 1L)。

3 讨论

F₁ 试管萌发的无菌苗植株小, 叶片光滑无毛, 形态分化程度低, 再分化能力强。用于替代盆栽植株作为繁殖材料, 取材不受栽培季节限制, 无需表面灭菌, 繁殖效率明显提高, 既缩短了材料的培育期, 加速了快繁进程, 又有效地降低了生产成本。

前人研究认为, 花托、茎尖、嫩叶和种子均可作为非洲菊组织培养的外植体, 尤其是花托培养, 能很好地保持良种的种性。本研究对以上材料比较表明, 花托培养需经过愈伤组织再生, 诱导分化时间长, 加之花托表面消毒较难, 污染率高, 消耗试材量大; 用幼叶培养耗时长且分化率低; 带芽短缩茎作外植体, 具有诱导分化时间短, 芽苗增殖率高, 取材容易, 消毒简单等优点。

研究不同激素组合对芽苗诱导分化和增殖的影响中发现: 随着 BA 浓度的升高 ($BA > 3.0 \text{ mg} \cdot L^{-1}$) 和继代次数的增加, 增殖的芽丛变得细弱, 叶片也变得细长、缺刻深, 植株出现褪绿现象。这在其它植物上有过类似的报道, 但在非洲菊组培报道中尚未被提及。

有关非洲菊组培苗的生根, 已有的报道中认为 IBA 的诱导效果较好。本试验结果与之不同, 添加 $0.2 \text{ mg} \cdot L^{-1}$ 2, 4-D 培养基的生根效果及芽苗质量好于添加 IBA 的培养基。这可能与 2, 4-D 在一定的浓度范围内兼有生长素和细胞分裂素的功能^[5] 有关。至于生根培养基的 2, 4-D 最佳浓度, 本试验未做比较, 还有待于进一步研究。

参考文献:

- [1] PIERIK R L M, STEEGMANS H H M, MARELI J J. Gerbera plantlets from *in vitro* cultivated capitulum explant[J]. Scientia Hort, 1973, 1: 117-120.
- [2] 杨佳芬, 王毓, 丁红光, 等. 非洲菊组织培养与快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 2000, 36(4): 333-334.
- [3] 王春彦, 高年春, 张效平, 等. 非洲菊幼花托离体培养研究[J]. 江苏农业科学, 2003(1): 47-49.
- [4] 余显荣, 李艳, 罗晓玲, 等. 非洲菊的组织培养与快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 1999, 35(3): 208-209.
- [5] 陈振光. 园艺植物离体培养学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1996.

(责任编辑: 陈幼玉)