

野菊嫩茎的组织培养

韩磊, 秦晓杰, 王洪波, 赵从凯, 房师梅

(潍坊职业学院, 山东 潍坊 261041)

摘要: 在适宜的培养条件下, 利用野菊花的嫩茎作为外植体, 用组织培养的方法, 在 MS 培养基上生长良好, 获得再生植株。练苗后, 成活率达 100%, 生长势强, 茎粗壮叶色浓绿。结果表明: 利用组织培养的方式对野菊花进行扩繁, 简便易行。

关键词: 野菊花; 嫩茎; 组织培养

中图分类号: S 682.1⁺9 文献标识码: A 文章编号: 1001-0009(2009)03-0112-03

野菊花为菊科菊属的多年生宿根野生花卉, 在我国东北、华北、西北、华东、西南等地均有出产。植株高达 150 cm, 茎直立, 粗壮, 近叉状分枝。基生叶有时枯萎。叶互生, 卵状长圆形或阔卵形, 长 3~7 cm, 宽 2.5~5 cm, 先端尖, 基部稍呈心形、截形或近圆形, 羽状或近掌状 5~7 深裂, 裂片狭卵形或长圆形, 有缺刻状锐齿, 下面灰白色, 密被分叉状短柔毛及腺体; 具叶柄。头状花序多数, 直径 8~12 mm, 生于枝端, 密集成聚伞状, 有时近乎伞形; 总苞浅杯状, 苞片长卵形, 覆瓦状排列, 中肋绿色, 革质, 边缘膜质, 褐色; 舌状花管状花均为黄色, 管状花疏生腺点。它的干燥头状花序性凉, 味苦、辛, 归肺、肝经, 具有清热解毒、消散痈肿、疏风平肝之功效, 在我国的药用历史悠久。现代药理证明: 野菊花具有广谱抗菌、抗病毒、降压、增加冠脉血流量、清除活性氧自由基等作用。现今临床上已将野菊花应用于风热感冒、高血压、肺炎、疮、痈疖等疾病的治疗^[1]。近年来, 随着野菊花产品的开发, 通过野生野菊花的自然繁殖, 已经远远不能满足人们的需要。为了在短时间内满足市场对野菊花的需求, 该试验首次尝试对野菊花进行组织培养, 以确定组织培养是否适合野菊花的快繁, 从而确定野菊花能否进行组培快速繁殖。组织培养不仅繁殖系数高、繁殖速度快, 而且还可以进行对野菊花种质资源进行脱毒、复壮和保存等。野菊花的嫩茎都有腋芽, 由它经组织培养形成的幼苗生长健壮。

1 试验材料及用品

1.1 试验材料

试验用野菊花来自潍坊市寒亭区的一个农村院落。为取材方便, 移栽到潍坊职业学院园林苑中栽培。取健壮无病的茎尖、茎段作为外植体。

1.2 试验用品

试验在潍坊职业学院园林工程系组培中心进行。所用仪器、药品主要有超净工作台、脸盆、塑料框、100 mL 三角瓶若干、兰花瓶若干、1 000 mL 量筒、100 mL 量筒各 1 支、不同量程移液管、 NH_4NO_3 、 KNO_3 、 $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、 KH_2PO_4 、KI、 H_3BO_3 、 $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{Na}_2\text{-EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、肌醇、烟酸、盐酸吡哆醇(维生素 B_6)、盐酸硫胺素(维生素 B_1)、甘氨酸、白砂糖、琼脂、玻璃纸及线绳等。

2 试验方法

2.1 野菊嫩茎的选择

试验材料在 2007 年 10 月 29 日上午 10:00 采取。选生长健壮无病虫害的野菊植株, 从新分生的枝条上剪取幼嫩带尖茎部 15 cm 左右, 作为外植体使用。

2.2 野菊嫩茎的处理

将剪取的嫩茎带回实验室, 将茎上的叶片连带叶柄一同剪掉, 但叶柄基部留下 5 mm 以保护侧芽, 避免侧芽在灭菌过程中受损。将去掉叶柄的嫩茎剪成长约 2 cm 左右的小段。放在脸盆中用流水冲洗约 5 min, 再用稀释的洗洁精漂洗约 10 min, 最后用流水洗净, 放入灭过菌的三角瓶中以待灭菌。灭菌时, 将 75% 的酒精倒入盛有嫩茎小段的三角瓶, 接着倒出进行表面灭菌, 而后用 0.1% 的升汞溶液灭菌 3 min, 最后用无菌水冲洗 3~4 次, 在超净工作台上将其接种于培养基上。

2.3 培养基的选择

由于野菊花同观赏菊花同科同属, 据资料介绍, 用于菊花培养的培养基有: MS、White、 N_6 、 B_5 等, 一般采用 MS 为基本培养基, 添加各种激素进行培养^[2]。诱导培养基为: $\text{MS} + \text{BA } 1 \text{ mg/L} + \text{NAA } 0.1 \text{ mg/L}$, pH 为 5.8 左右, 培养的温度范围是 24~26℃, 光照强度是 1 500~3 000 lx, 每天照光约 12 h。继代培养基为 MS 或 $\text{MS} + \text{BA } 0.2 \text{ mg/L} + \text{NAA } 0.5 \text{ mg/L}$ 的培养基上。生根培养

第一作者简介: 韩磊(1969-), 女, 副教授, 主要从事植物遗传育种研究工作。E-mail: hanlihanlei@163.com。

收稿日期: 2008-10-17

基为 $1/2\text{ MS} + \text{NAA } 0.1\text{ mg/L}^{[3-4]}$ 。另外,各培养基中均加琼脂粉 5.5 g/L ,蔗糖 30 g/L 。

2.4 组培苗练苗

将瓶苗移出培养室,放在准备室内,打开瓶口封口,将瓶苗室温放置 $2\sim 3\text{ d}$ 后,进行移栽。将实验田翻耕,使耕作层土层疏松,整理出畦。在土壤上面铺一层约 5 cm 的蛭石,浇透水。将小拱棚支架搭好备用。将双斜面小棚打成屋脊状或三角形,拱棚南北走向,中间设一条拉杆,可起到坚固抗风的作用^[5]。一般棚内相对湿度可达 $70\%\sim 100\%$,白天通风时,棚内相对湿度可保持在 $40\%\sim 60\%$;夜间密闭时可达到 90% 以上。棚内地温比露地高 $5\sim 6\text{ }^{\circ}\text{C}$,有利于再生苗的生长和提高再生苗成活率。当瓶苗根长至 2 cm 左右时,用镊子轻轻取出,用流水将瓶苗根部的培养基冲洗干净,然后栽在准备好的蛭石中,随后用喷壶浇一遍透水,将棚膜罩上,以水压边。白天气温过 $30\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时用遮阳网遮荫。驯化过程中通过通风、遮荫、洒水使棚内温度白天保持在 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 左右。待白天气温稳定在 $28\text{ }^{\circ}\text{C}$ 以上,生了新根约 3 cm 时,可去膜移栽。

3 结果与分析

3.1 野菊嫩茎侧芽的诱导及生长状况

接种后第2天,野菊嫩茎外观呈嫩绿色,水渍状,与灭菌前无异。未发现染菌。第3天野菊嫩茎体表有针

尖般小黑点,极少部分腋芽已开始萌动,部分叶柄有干枯现象,未发现染菌。第4天大部分野菊嫩茎体表水渍状消失,留有顶芽和侧芽的饱满嫩茎上的芽开始生长。部分叶柄短的嫩茎上部有褐色水渍状现象,这部分芽未萌发。第5天野菊嫩茎体表水渍状消失,叶柄大部分干枯,侧芽萌发在 90% 以上,大小如小米粒的一半,茎尖幼叶有展开迹象。第6天野菊嫩茎茎尖幼叶已展开,侧芽大部分萌发。第8天后多数芽已展开,茎段上黑点明显。第9天幼芽生长良好,但展开的叶片边缘有焦枯现象。第10天后部分茎尖呈水渍状,生长好的,叶片已完全展开,翠绿,叶面干燥。大部分芽生长良好,部分抽出了嫩枝(注:黑点为灭菌过程中汞对其体表的损害;继代转接一次,培养基为 $\text{MS} + \text{BA } 0.2\text{ mg/L} + \text{NAA } 0.5\text{ mg/L}$)。

3.2 野菊嫩茎的继代增殖培养

当茎尖及腋芽萌发生长,长到距离瓶口约 1 cm ,即高约 $6\sim 7\text{ cm}$ 时可进行增殖培养。嫩茎生长一段时间后,下部可分化出大如黄豆的棕褐色组织,但芽少有分化。将嫩茎上诱导萌发的腋芽切成数段,每段带1芽1叶,进行短枝接种增殖培养。将其基部插入 MS 或 $\text{MS} + \text{BA } 0.2\text{ mg/L} + \text{NAA } 0.5\text{ mg/L}$ 的培养基上,约4周后腋芽长成小植株。

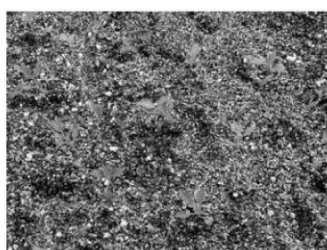


图1 野菊嫩茎继代培养

图2 野菊诱导生根

图3 练苗1周生新根

图4 练苗2周长势良好

3.3 瓶苗的诱导生根

野菊继代长成的小植株部分被转入生根培养基 $1/2\text{ MS} + \text{NAA } 0.1\text{ mg/L}$,部分继续增殖培养 $\text{MS} + \text{BA } 0.2\text{ mg/L} + \text{NAA } 0.5\text{ mg/L}$ 。5 d 后,有少部分瓶苗其根长至 2 mm ,部分还处于根原基状态,只有小突起,大部分还是未萌动的。株高有所增加但不太明显。叶色黄绿,有些小叶已经干枯,但整体长势较好;8 d 后,绝大部分已生根约 2 mm ,其叶色开始转绿,整体长势较好;9 d 后,有少部分瓶苗根的长度已长至 1 cm ,大部分在 $0.5\sim 0.7\text{ cm}$ 左右,株高无大的变化,但其粗度明显增加,叶色由黄绿转为绿色,长势较好(图2)。

3.4 组培苗练苗

练苗的野菊再生苗长势很好,仅在1周左右即长出

新根(图3)。2周后其叶色浓绿,茎秆呈紫褐色或嫩绿色,粗壮。这时可进行移栽(图4)。

4 结语

该研究发现以野菊的嫩茎作为外植体进行组织培养,培养基要求不苛刻,诱导、继代培养及生根培养均可成功操作。并且瓶苗的练苗也非常成功,说明野菊生根的能力很好。通过试验了解到,野菊的嫩茎可进行组织培养,而且见效快,为野菊的快速繁殖开辟了广阔的前景。

参考文献

- [1] 石兰萍,田琳琳.野菊花的研究进展[J].中西医结合心脑血管病,2005,5(3):434-436.
- [2] 曹春英.植物组织培养[M].北京:中国农业出版社,2006:66-68.
- [3] 梅家训,丁习武.组培快繁技术及其应用[M].北京:中国农业出版

高山杜鹃组培快繁技术体系研究

汤桂钧¹, 覃娟²

(1. 上海市闵行区农业科学研究所 上海 201109; 2. 上海交通大学 农业与生物学院, 上海 200240)

摘要:以高山杜鹃嫩芽茎段为外植体,掌握高山杜鹃组织培养快速繁殖技术体系。对高山杜鹃进行初代培养、继代增殖培养、生根培养和试管苗假植练苗,筛选出高山杜鹃的最佳组织培养的培养基配方及摸索出快速繁殖的适宜条件。结果表明:最佳的发生培养基为 1/4MS+MS 铁盐+1/10MS 微量元素+VB5+水解乳蛋白 500 mg/L+蔗糖 30 g/L+ZT 2 mg/L+琼脂 6 g/L,发生率为 81%;继代增殖培养基同发生培养基,最佳的增殖率为 1:5;试管苗的生根培养基为珍珠岩+泥炭+自制生根粉,生根率达 96%,试管苗练苗成活率达 98%。

关键词:高山杜鹃;嫩芽茎段;微繁殖技术

中图分类号:S 685.21 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2009)03-0114-03

高山杜鹃(*Rhododendron delavayi*)是杜鹃花科杜鹃属灌木类高档观赏植物,原产我国华东、华南及中西部地区的高山密林中,后由德国、比利时等引种栽培驯化,并改良选育出许多优良品种。高山杜鹃花色繁多,花期长,色彩艳丽,四季常绿,自然花期在 4~5 月,经人工催花可至 1~2 月开花,可作春节前后年宵花中珍品上市,近年来已逐渐成为盆花中的珍贵花卉受到我国南北大中城市花卉爱好者的青睐。随着人们生活水平的提高,其特有的品质越来越受到众多的苗艺公司和广大消费者的青睐,市场需求量很大,具有广阔的市场开放前景^[1]。

高山杜鹃枝粗叶少,无种子,通常靠扦插繁殖,但生长周期长,繁殖系数低,扦插成活率低,同时受母株材料和繁殖季节影响,常规的繁殖方法无法满足高山杜鹃目前的需求^[1]。应用组织培养技术进行繁殖,具有繁殖速度快,不受季节影响等特点,对于优良品种的引进和规模化繁殖具有重要意义,该试验应用组织培养技术对高山杜鹃种苗进行快速繁殖,以实现种苗的规模化生产。

1 试验材料

高山杜鹃引进德国种苗,品种花色为大红、粉红、亮红、兰紫色等,栽植于上海市闵行区农业科学研究所,生长良好。试验的外植体取尚未木质化的枝条上的嫩芽茎段,包括茎段、茎尖。试验培养条件为:温度(23±1)℃,光照 12 h/d,光强 2 000~3 000 lx。

2 试验方法

2.1 初代培养

第一作者简介:汤桂钧(1953-),男,高级农艺师,研究方向为园林植物微繁技术。

基金项目:上海市委重大资助项目(06DZ19130)。

收稿日期:2008-10-22

社,2003:259-260。

[4] 熊丽,吴丽芳.观赏花卉的组织培养及大规模生产[M].北京:化学工

业出版社,2003:98-99。

[5] 张彦萍.设施园艺[M].北京:中国农业出版社,2002:25-26。

Tissue Culture of *Chrysanthemum Indicum* L. Young Stems

HAN Lei, QIN Xiao-jie, WANG Hong-bo, ZHAO Cong-kai, FANG Shi-mei
(Weifang Vocational College, Weifang, Shandong 261041, China)

Abstract: Under optimal culture conditions, young stems of *Chrysanthemum indicum* L. were used as explants. Plant regeneration grew well on MS medium through tissue culture. The surviving rate of the young regenerated plantlets reached 100% after being hardened and transplanted to soils. They were strong growth. Their stems were strong, and their leaves were darkened in color. The results showed that expanding propagation of *Chrysanthemum indicum* L. through tissue culture was simple.

Key words: *Chrysanthemum indicum* L.; Young stem; Tissue culture