

# 雏菊组织培养及快速繁殖研究

杨 微, 贾宝林, 钟 程, 徐 娜, 姜长阳

(辽宁师范大学 生命科学院 辽宁 大连 116029)

**摘 要:**以雏菊的根茎为试材,进行了根茎芽诱导和分化、分化芽的继代和生根、试管苗的移栽和移植的研究,建立起快速繁殖体系。结果表明:MS+6-BA 0.2 mg/L+GA<sub>3</sub> 0.5 mg/L+IAA 0.2~0.5 mg/L 是根茎诱导芽的理想培养基;MS+6-BA 1.0 mg/L+GA<sub>3</sub> 0.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L 是根茎诱导芽分化培养和分化增殖培养的理想培养基;1/2MS+NAA 0.1 mg/L+IAA 0.4 mg/L 是分化芽生根培养的理想培养基;在温室中试管苗的移栽成活率为 93.6%,移植到花坛上的试管苗保持了生长旺盛的优良性状。

**关键词:**雏菊;组织培养;快速繁殖

**中图分类号:**S 681.9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2011)12-0110-03

雏菊(*Bellis perennis*)属菊科翠菊属 1 a 生或 2 a 生草本植物,又称延命菊、春菊、马兰头花等,原产于欧洲,现在世界多地把雏菊作为观赏栽培<sup>[1,2]</sup>。雏菊植株矮小,花期较长,色彩丰富,优雅别致,是装饰花坛、花带和花境的重要材料,也可用于装饰岩石园。在条件适宜的情况下,可植于草地边缘,也可盆栽装饰台案、茶几和居室<sup>[3]</sup>。由于雏菊具有重要的观赏价值,大连已经将其作为重要的观赏花卉栽培,每年需要大量种苗。但由于雏菊是典型异花授粉植物,其实生苗变异较大,难以保持亲本的优良性状。因此,人们对一些优良母株采用分株的方法进行繁殖,但其后代不仅数量很少,无法满足栽培对优良种苗的大量需求,而且这种无性繁殖结实很少,长势也不如实生苗<sup>[3]</sup>,这是由于分株苗根系不发达引起的。组织培养技术不仅使栽培中优良植株得到保存,并能满足人们需要的大量种苗,虽然现已多有菊科观赏植物组织培养研究的报道<sup>[4,11]</sup>,但迄今未见雏菊组织培养及快速繁殖研究的报道。现对在雏菊栽培中发现的优良植株进行了组织培养及无性系建立的研究,以期为雏菊的生产提供技术基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

把在花盆中生长非常旺盛的雏菊进行标记,3月

下旬即将萌发时从花盆中挖出,把根部的附着物完全洗净后,用解剖刀在根茎及以下约 2 cm 处切下,放到磨口广口瓶中进行洗涤和灭菌。具体灭菌方法参见周博等银线伞莎草的研究<sup>[12]</sup>。培养条件:参见陈宝鑫等对白花紫露草的培养<sup>[13]</sup>。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 根茎芽的诱导** 把无菌材料的下部切掉,保留长 0.5 cm 左右的根茎,用解剖刀将其切成 0.3~0.4 cm 的根茎块后,接种到以 MS+6-BA 0.2 mg/L+GA<sub>3</sub> 0.5 mg/L 为基本培养基,附加不同浓度的 IBA、IAA 和 2,4-D 的培养基上,进行根茎芽的诱导培养,每种培养基接种 20 个材料,3 次重复。

**1.2.2 根茎诱导芽的分化培养** 将上述培养的根茎诱导芽生长点周围的老化组织除掉后,接种到以 MS+6-BA 1.0 mg/L+GA<sub>3</sub> 0.5 mg/L 为基本培养基,附加到不同浓度的 IAA 和 NAA 的培养基上,进行根茎诱导芽的分化增殖培养,每种培养基接种 100 个材料,3 次重复。

**1.2.3 分化芽的继代分化增殖培养** 将分化芽切成单芽后,接种到与上述诱导芽分化培养相同的培养基上,进行分化芽的继代培养,每代接种 400 个分化芽,每次试验继代 5 代,2 次重复。

**1.2.4 分化芽生根培养** 将继代分化增殖培养的分化芽切成单芽后,再将其基部的愈伤组织剥掉,接种到 1/2MS+NAA 0.1 mg/L 为基本培养基,附加到不同浓度 IAA 的培养基上,进行分化芽的生根培养,每种培养基接种 100 个继代分化芽,3 次重复。

**1.2.5 试管苗的移栽与移植** 将生根培养着试管苗培养瓶瓶塞打开,在 4 000~5 000 lx 的光照下练苗 3 d 后从培养瓶中取出,直接移栽到上半部装着干净河沙的营养钵中。移栽后保持没有直射光、湿度 90% 的环

第一作者简介:杨微(1989-),女,辽宁锦州人,在读本科,研究方向为植物组织培养。

责任作者:姜长阳(1953-),男,辽宁大连人,教授,现从事植物生物技术研究工作。E-mail:changyangjiang@126.com。

基金项目:辽宁省高等教育教学改革资助项目(20090304);辽宁师范大学教学改革资助项目(LSJG;20090108)。

收稿日期:2011-03-28

境条件, 每次 500 株试管苗, 2 次重复。把移栽成活的试管苗于 5 月上旬分 2 次移植到花坛上, 每次移植 400 株。移植后按照常规栽培方法进行管理。

2 结果与分析

2.1 不同浓度生长素对根茎诱导芽的影响

接种培养 40 d 时观察统计, 结果见表 1。由表 1 可知, 在附加不同浓度 IBA 和 2, 4-D 的培养基上不能诱导形成芽, 附加这 2 种不同浓度生长素的培养基, 只能部分诱导形成愈伤组织, 其中附加 IBA 的培养基上形成的愈伤组织为灰白色的絮状, 附加 2, 4-D 的培养基上形成的愈伤组织为浅灰色或淡黄色的块状。在附加不同浓度 IAA 的培养基上都能诱导形成芽, IAA 的浓度为 0.1 ~ 0.3 mg/L 时, 不仅芽的诱导形成率为 80% ~ 84%, 而且芽的长势旺盛, 3 次重复的结果基本一致。说明, MS+6-BA 0.2 mg/L+GA<sub>3</sub> 0.5 mg/L+IAA 0.2 ~ 0.5 mg/L 是雏菊根茎诱导芽的理想培养基。

表 1 不同浓度生长素对愈伤组织诱导的影响

2, 4-D /mg·L <sup>-1</sup>	IBA /mg·L <sup>-1</sup>	IAA /mg·L <sup>-1</sup>	诱导率/%	诱导芽长势
0	0	0	0	—
0.1	0	0	0	-
0.2	0	0	0	-
0.3	0	0	0	-
0.4	0	0	0	-
0.5	0	0	0	-
0.6	0	0	0	-
0	0.1	0	0	-
0	0.2	0	0	-
0	0.3	0	0	-
0	0.4	0	0	-
0	0.5	0	0	-
0	0.6	0	0	-
0	0	0.1	80	++
0	0	0.2	84	++
0	0	0.3	82	++
0	0	0.4	36	+
0	0	0.5	23	+
0	0	0.6	11	+

注: ++ 长势旺盛; + 长势一般; - 为不生长。下表同。

2.2 根茎诱导芽的分化培养

由表 2 可知, 在不加生长素的培养基上诱导芽不能分化。在较低浓度 IAA 的培养基上也能分化, 并且分化芽的长势都较好, 但分化率很低; 在附加不同浓度 NAA 的培养基上培养的诱导芽都能分化, 并且平均分化数都较高, 尤其是在附加浓度为 0.1 mg/L NAA 的培养基上, 不仅分化率为 93%, 平均每个培养诱导芽的分化芽数达到了 5.3 个, 而且分化芽长势好。在附加 0.1 mg/L NAA 的培养基上培养 10 d 左右可见在培养的诱导芽基部出现分化芽, 随着培养时间的延长, 分化芽不断地增加, 并且分化芽生长点周围的叶片也不断地生长。培养到 40 d 时, 在每个培养诱导芽的基部周围会分化生长出 3 ~ 8 个生长较旺盛的分化芽, 每个分化芽生长点周围生长出 5 ~ 9 个叶片。3 次重复的结

果基本一致。说明 MS+6-BA 1.0 mg/L+GA<sub>3</sub> 0.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L 是雏菊根茎诱导芽分化培养的理想培养基。

表 2 不同浓度 IAA、NAA 对诱导芽分化的影响

IAA /mg·L <sup>-1</sup>	NAA /mg·L <sup>-1</sup>	分化率/%	平均分化芽数 /芽	分化芽长势
0	0	0	0	—
0.1	0	5	1.4	++
0.2	0	9	1.3	++
0.3	0	13	2.2	++
0.4	0	8	18.8	++
0.5	0	0	0	-
0.6	0	0	0	-
0.8	0	0	0	--
0	0.1	93	5.3	++
0	0.2	65	4.1	++
0	0.3	56	4.6	+
0	0.4	58	4.8	+
0	0.5	45	5.1	+
0	0.6	44	5.0	+
0	0.7	42	5.7	+
0	0.8	44	4.3	+

2.3 分化芽的继代增殖培养

继代分化培养的统计结果, 平均每次继代的培养周期为 40 d, 分化率为 96.5%, 平均每个继代培养周期每个培养能分化出 5.6 个分化芽, 且分化芽长势旺盛, 有的在基部还能生出 1 ~ 3 条根。按照这个分化继代培养的速度, 1 个分化芽每年能分化继代培养出 5.6<sup>9</sup> 个生长旺盛的分化芽, 也就是说每年能培养出约 500 万个分化芽。2 次重复试验的结果基本一致。继代培养的结果说明, MS+6-BA 1.0 mg/L+GA<sub>3</sub> 0.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L 是雏菊继代培养的理想培养基。

2.4 分化芽生根培养

培养到 30 d 时统计证明, 在附加 IAA 0.4 mg/L 的培养基上, 接种培养的分化芽生根率达到了 97.5%, 平均每株试管苗具有 6.9 条长约 0.5 cm 的白色根。并且所培养的试管苗叶片伸展、嫩绿, 外观上生长非常旺盛。3 次重复的结果基本一致。说明 1/2MS+NAA 0.1 mg/L+IAA 0.4 mg/L 是雏菊分化芽生根培养的理想培养基。

2.5 试管苗的移栽与移植

观察结果表明, 移栽后 10 d 成活试管苗并长出新叶, 30 d 平均成活率为 93.6%。移植后 30 d 成活率为 98%, 移植后前 40 d 左右成活的试管苗生长速度较慢, 而后生长速度加快。与实生苗和分株苗相比, 移植的试管苗具有以下特点: 长势非常旺盛、植株整齐、叶色浓绿、根系发达(根系量相当于实生苗的 1.5 ~ 2 倍)、花朵较大, 但开花的时间晚 15 d 左右, 秋末枯萎时间晚 10 d 左右。

3 结论与讨论

试验不仅通过分生芽的继代分化增殖培养能够达

到快速繁殖的目的,而且所繁殖的试管苗移植到花坛后根系发达、长势非常旺盛,能使优良植株的性状保持不变。这说明通过该技术不仅基本解决了常规繁殖的雏菊苗在生产中存在的问题,而且也生产上对优良雏菊苗的大量需求奠定了技术基础。

移植试管苗根系发达的原因主要有二点:一是该试验材料是生长非常旺盛的雏菊,材料的本身具有根系发达的遗传性;二是在进行试管苗的培养过程中使用较高浓度的生长素,移植后生长素仍在发挥着后效作用,促进定植的试管苗形成了发达的根系。

### 参考文献

- [1] 中国科学院植物研究所. 中国高等植物图鉴[M]. 4册. 北京: 科学出版社, 1980: 417.
- [2] 李书心. 辽宁植物志(下册)[M]. 沈阳: 辽宁科学技术出版社, 1991: 447.
- [3] 包满珠. 花卉学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2003: 190-191.
- [4] 周瑞玲, 吴雨龙. 菊花的组织培养及移栽技术初探[J]. 江苏林业科

技, 2001, 28(2): 23-24.

- [5] 林青萍, 陈雄艇. 菊花离体叶片快繁体系的建立[J]. 热带农业科学, 2006, 26(3): 25-28.
- [6] 肖玉兰, 张立力. 非洲菊无糖组织培养技术的应用研究[J]. 园艺学报, 1998, 25(4): 408-410.
- [7] 宋书峰, 曹凤, 杨培志, 等. 普那菊苣高效再生体系建立和遗传转化的研究[J]. 分子植物育种, 2006, 4(4): 565-570.
- [8] 陶静, 杨世海, 张梦萍, 等. 抱茎苦蕒菜的组织培养及植株再生[J]. 中国中药杂志, 2008, 33(4): 368-371.
- [9] 杨晓杰, 李波, 王萍. 管花蒲公英的组织培养[J]. 植物生理学通讯, 2005, 41(4): 485.
- [10] 朱海军, 余红强, 义鸣放. 蓝刺头组织培养和叶片再生植株的研究[J]. 核农学报, 2007, 21(6): 581-584.
- [11] 朱海军, 余红强, 金迪, 等. 蓝刺头组织培养和快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 2007, 43(2): 313.
- [12] 周博, 许维倩, 李娜, 等. 银线伞莎草组织培养及快速繁殖的研究[J]. 北方园艺, 2010(17): 150-151.
- [13] 陈宝鑫, 王晓旭, 张倩怡, 等. 白花紫露草的组织培养与植株再生体系的建立[J]. 北方园艺, 2009(6): 84-86.

## Study on Tissue Culture and Rapid Propagation of *Bellis perennis*

YANG Wei, JIA Bao-lin, ZHONG Cheng, XU Na, JIANG Chang-yang

(College of Life Science, Liaoning Normal University, Dalian, Liaoning 116029)

**Abstract:** In the experiment, the rhizome of *Bellis perennis* were used as material to do the research on adventitious buds induction and differentiation from rhizome, subculture and rooting of adventitious buds, transplanting of tube seedling, finally establish the rapid propagation system of *Bellis perennis*. The results showed that the optimum medium for adventitious buds induction and differentiation was MS+6-BA 0.2 mg/L+GA<sub>3</sub> 0.5 mg/L+IAA 0.2~0.5 mg/L and MS+6-BA 1.0 mg/L+GA<sub>3</sub> 0.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L respectively. 1/2MS+NAA 0.1 mg/L+IAA 0.4 mg/L was the optimum medium for rooting. When transplanting the tube seedlings into the greenhouse, the survival rate was 93.6%. The tube seedlings keep growing vigorously after transplanted to parterre.

**Key words:** *Bellis perennis*; culture of tissue; rapid propagation

## 水仙花栽培基本知识

水仙花是中国十大传统名花之一,也是国际公认的名贵花卉,分布在我国、日本及朝鲜。我国浙江、福建、台湾等地均有野生。生于沿海丘陵和冲积平原地区,性喜温暖、湿润,又要排水良好。以疏松肥沃、土层深厚的冲积沙壤土为最宜,pH 5~7.5 均宜生长。喜阳光充足,蔽荫场所栽种常叶茂而不开花。

有夏季休眠习性,6月上、中旬地上部枯萎进入休眠期,11月开始萌发生长,翌年3月开花。它不用土,只要在盆中放几粒石子,再放些水,就可以绽放出美丽的花朵,漳州水仙花以其球茎头大,花枝多、花期长、花香馥郁而闻名,特别是在春节期间,在家里养一盆水仙,可以给严寒的冬季带来勃勃的生机。水仙花还可以作为赠送亲朋好友的礼品。

在家里种植水仙也很简单,养水仙有2种方法,一种是将其雕刻成不同的形状,另一种是自然生长,为了让水仙在春节期间开花,要掌握好浸泡的时间,水仙花一般浸泡45 d左右就可开花,若春节是在2月12日,那么在上年12月底就可以将水仙球茎泡上了,水只要浸到球茎的下部就可以,如果根部着不到水,可以用些棉花铺在根部,以利于水分的吸收,每天换1次水。