

# 大滨菊离体快繁技术研究

王华宇, 张树明, 何贵整

(钦州市林业科学研究所, 广西 钦州 535000)

**摘要:**以大滨菊的茎段为外植体,对无菌芽诱导、试管苗增殖、生根及移栽技术进行了系统研究。结果表明:大滨菊腋芽诱导的最佳培养基为 MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.05 mg/L;最适宜的继代培养基为 MS+6-BA 0.3 mg/L+NAA 0.03 mg/L;生根的最适宜培养基为 1/2MS+IBA 0.5 mg/L。继代周期 25 d 左右,生根需要 15 d,生根率可达 95%以上,移栽成活率达到 100%。

**关键词:**大滨菊;无菌芽;组织培养

**中图分类号:**S 681.9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)19-0143-03

大滨菊(*Leucanthemum maximum*)为菊科滨菊属多年生草本植物。植株较大,高 40~90 cm;叶长圆状披针形,叶边缘具细锯齿;头状花序较大,单生枝端,直径 5~7 cm;舌状花白色,管状花黄色<sup>[1-2]</sup>。喜温暖湿润和阳光充足环境,耐寒性较强,耐半荫,适宜于疏松肥沃和排水良好的土壤<sup>[3]</sup>。大滨菊在北方返青早、花期长,并且具有耐严寒、宿根、露地越冬和花期早而长的特点,是美化环境的优良花卉品种<sup>[4]</sup>。近年来,滨菊属植物越来越多地应用到园林绿化中来。传统的繁殖方法以播种和分株繁殖为主,但繁殖系数低、速度慢、一致性差,难以满足国内外绿化单位对种苗数量和质量的需求,而采用组织培养技术规模化生产大滨菊种苗可以有效地克服这些缺点。因此,开展大滨菊的离体快繁技术研究,对实现大滨菊及滨菊属其它优良品种的规模化生产具有重要的意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试材料采自上海大地园艺种苗有限公司 2007 年从美国引进的大滨菊盆栽苗。选取长势健康、无病虫害的当年生茎段为外植体。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 外植体灭菌** 将采集的外植体除去多余茎叶,用自来水冲洗干净备用。在超净工作台上,用 75%酒精浸泡 15 s,再用 0.1%升汞振荡消毒 10~15 min,然后用无菌水冲洗 4~5 次,并用无菌滤纸吸干水分后,切取长度

1~1.5 cm 带 1 个节的茎段,备用。

**1.2.2 初代培养** 以 MS 为基本培养基,添加蔗糖 30 g/L,琼脂 6.5 g/L,pH 5.8~6.0,并添加不同浓度的 6-苄基腺嘌呤(6-BA)和  $\alpha$ -萘乙酸(NAA),在 M1~M5 培养基上(表 1)进行大滨菊的腋芽诱导。培养温度为 (23±2)℃,每天光照 16 h,光照强度 2 000~3 500 lx。20 d 时观察腋芽生长状况,计算诱导率。

**1.2.3 继代培养** 将诱导的无菌芽接种到增殖培养基 M6~M10 上(表 2)进行继代增殖培养,3 周时观察生长状况,计算增殖倍数。

**1.2.4 培养条件** 当增殖苗生长 3~4 周时,选取生长健壮的植株,切去基部愈伤组织,保留叶片 3~5 片,以 1/2MS 为基本培养基,添加不同浓度的 IBA 或 NAA,接种于生根培养基 R1~R5(表 3)中。在 R1~R5 培养基上进行大滨菊生根诱导。2 周后观察生根情况,统计生根数,计算生根率。

**1.2.5 驯化与移栽** 选取生长健壮的生根试管苗进行移栽。将试管苗基部培养基清洗干净,移植入草炭为基质的穴盘中(128 孔)。移栽初期温度控制在 20~30℃,湿度控制在 80%~95%以上,并每周定期喷施甲基托布津或百菌清等杀菌剂。

## 2 结果与分析

### 2.1 无菌芽的诱导

由表 1 可知,茎段在 MS 培养基中接种 1 周左右,无腋芽长出,外植体变黑枯死。在一定浓度范围内,随着 6-BA 浓度的升高,腋芽诱导率有明显的升高;当 6-BA 浓度达到 0.5 mg/L 时,外植体的诱导率可以达到 88%且诱导出来的腋芽长势良好;当 6-BA 浓度达到 1.0 mg/L 时,虽然也有较多的外植体诱导出腋芽或不定芽,但外植体愈伤化明显,并且分化出来的不定芽严重玻璃化,不利于后期培养。所以经过对比试验,选用配方 MS+

**第一作者简介:**王华宇(1981-),男,硕士,工程师,现主要从事植物组织培养和园艺栽培学研究工作。E-mail:hywangsky@163.com.

**责任作者:**何贵整(1966-),男,高级工程师,现主要从事植物组织培养和引种及栽培研究工作。E-mail:guizhenghe@sohu.com.

**收稿日期:**2012-05-16

6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.05 mg/L 为大滨菊茎段诱导无菌芽的最佳培养基。

表 1 植物生长调节剂种类、质量浓度及配比对大滨菊腋芽诱导的影响

序号	培养基/mg·L <sup>-1</sup>	接种数	腋芽诱导率/%	腋芽生长状况
M1	MS	50	—	—
M2	MS+6-BA 0.1+NAA 0.01	50	46	生长缓慢,新生芽较细弱
M3	MS+6-BA 0.2+NAA 0.02	50	62	生长较快,新生芽较细弱
M4	MS+6-BA 0.5+NAA 0.05	50	88	生长快,新生芽状态正常
M5	MA+6-BA 1.0+NAA 0.1	50	92	出现愈伤,并出现严重玻璃化

## 2.2 试管苗增殖培养

由表 2 可知,激素配比对试管苗的增殖率和长势具有重要影响。当只使用 6-BA 而不加入 NAA 时,试管苗生长缓慢;6-BA 或 NAA 的浓度偏高时,大滨菊的试管苗容易出现玻璃化现象。在一定浓度范围内,随着细胞分裂素 6-BA 浓度由 0.2 mg/L 增加到 0.5 mg/L,试管苗的增殖率逐渐提高,当 6-BA 浓度保持在 0.5 mg/L 连续培养 2 次后,试管苗出现明显的玻璃化趋势。所以,继代培养最适合的增殖培养基为 MS+6-BA 0.3 mg/L+NAA 0.03 mg/L,或继代过程中交替使用培养基 MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.03 mg/L 可以提高增殖率,但应根据苗的生长情况对激素浓度进行调整。图 1 所示为在增殖培养基 MS+6-BA 0.3 mg/L+NAA 0.03 mg/L 中正常培养 3 周的大滨菊增殖苗。

表 2 植物生长调节剂种类、质量浓度及配比对大滨菊试管苗增殖的影响

序号	培养基/mg·L <sup>-1</sup>	接种数	芽增殖数	增殖倍数	芽生长状况
M6	MS+6-BA 0.2	50	106	2.1	芽生长较缓慢
M7	MS+6-BA 0.2+NAA 0.02	50	122	2.4	生长较快,较健壮
M8	MS+6-BA 0.2+NAA 0.05	50	130	2.6	生长较快,有愈伤玻璃化现象
M9	MS+6-BA 0.3+NAA 0.03	50	207	4.1	生长快且健壮
M10	MS+6-BA 0.5+NAA 0.03	50	258	5.2	生长快,但连续继代后玻璃化明显

## 2.3 生根培养

增殖苗生长 3~4 周时,选取生长健壮的植株,切去基部愈伤组织,保留叶片 3~5 片,接种于生根培养基 R<sub>1</sub>~R<sub>5</sub> 中。由表 3 可知,较 IBA 而言,NAA 容易在基部产生愈伤,影响根系质量和移栽成活率,不适于大滨菊的生根。IBA 浓度 0.5 mg/L 时诱导生根的效果最

表 3 植物生长调节剂对大滨菊生根的影响

序号	培养基/mg·L <sup>-1</sup>	接种数	生根数/株	生根率/%	根系生长状况(2 周时观察)
R1	1/2MS+NAA 0.1	50	23	46	多为 1~2 条根,较粗壮,植株基部稍有愈伤
R2	1/2MS+NAA 0.2	50	36	72	根较粗壮,植株基部有愈伤团块
R3	1/2MS+IBA 0.2	50	31	62	多为 1~2 条根,根细而长
R4	1/2MS+IBA 0.5	50	48	96	根系生长旺盛,根 4~5 条,生根快
R5	1/2MS+IBA 1.0	50	46	92	根较多,但基部有愈伤,苗玻璃化



图 1 大滨菊继代苗

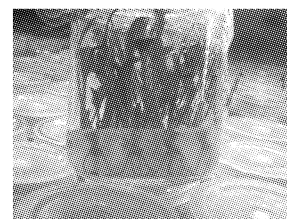


图 2 大滨菊生根苗

好,根系正常且根系生长旺盛(图 2)。

## 2.4 试管苗移栽

移栽 2 周以后即有新根生出,成活率达到 100%。试验发现,大滨菊移栽成活率很高,移栽前无需练苗,个别没有生根的试管苗只要移栽后管理得当也极易成活。

## 3 结论与讨论

该研究结果表明,大滨菊无菌芽诱导的最佳培养基为 MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.05 mg/L;最适宜的继代培养为 MS+6-BA 0.3 mg/L+NAA 0.03 mg/L,可以根据试管苗和生产需要调整为 MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.03 mg/L;生根的最适宜培养基为 1/2MS+IBA 0.5 mg/L。增殖周期 25 d 左右,生根需要 15 d,生根率可达 95%以上,移栽成活率达到 100%。

在组织培养过程中,采用以芽繁芽的再生方式(从顶芽或侧芽再生)培养出来的植株出现的变异率是很低的<sup>[5]</sup>。经过愈伤组织诱导植株会出现遗传不稳定现象,并且变异率会随着继代次数和时间增加而增加<sup>[6]</sup>。大滨菊作为观花植物,为了降低移栽后出现的变异风险,试验中从无菌芽的诱导到继代,在保证适当增殖率的前提下,尽可能地降低了激素用量,从而减少愈伤成苗的比例和数量。

玻璃化现象是试管苗组织培养过程中普遍存在的一种生理病态现象<sup>[7]</sup>。在该试验中发现,大滨菊很容易出现玻璃化现象。除了外植体选择、温度、光照、容器透气性、培养基类型等外部因素之外,这可能与该物种本身的特性有关。在试管苗生产中,除了对激素的种类和浓度进行比较严格的筛选和控制外,还要注意尽可能地改善培养条件。该试验中,采用了增加了培养基硬度、控制温度在 20~25℃、保持光强在 2 000~3 000 lx、使用具透气孔的盖子、增加培养基硬度等一系列综合措施,得到了生长健壮的种苗。关于大滨菊试管苗生产中容易出现玻璃化的影响因子、各影响因子的显著性分析和相应改进措施还有待进一步深入的研究。

## 参考文献

- [1] 中国植物志编委会. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社, 1983.
- [2] 河北植物志编委会. 河北植物志[M]. 石家庄: 河北科学技术出版社, 1991.
- [3] 茹先古丽·克依木. 大滨菊在库尔勒地区的常规栽培技术[J]. 农村科技, 2009(4): 88-89.

# “罗宾戈登”银桦组培苗不定根的诱导

李湘阳, 曾炳山, 裘珍飞, 刘 英

(中国林业科学研究院 热带林业研究所, 广东 广州 510520)

**摘 要:**对“罗宾戈登”银桦组织培养中影响不定根诱导的因素进行研究。结果表明:培养基中的大量元素、蔗糖及活性炭的浓度变化对“罗宾戈登”银桦的生根有显著影响;IBA 对“罗宾戈登”银桦的生根有促进作用;最适生根培养基为 1/4MS 大量元素+1/2MS 微量元素+IBA 0.75 mg/L+糖 35 g/L+活性炭 0.05 g/L。

**关键词:**“罗宾戈登”银桦;组织培养;生根

**中图分类号:**Q 949.751.8 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)19-0145-04

“罗宾戈登”银桦(*Grevellia* ‘Robyn Gordon’)属山龙眼科银桦属观赏灌木,原产澳大利亚,高可达 2 m,冠幅达 3 m,叶片二回分裂,花红色,于 21 世纪初由种植户引入中国广东。“罗宾戈登”银桦由于叶形美丽,花色美艳,且在气候适宜的地方几乎可全年开花,在澳大利亚极受欢迎并被广泛种植。引入中国后其独特的叶形及超大的花序(长 15 cm,宽 9 cm)也引起人们的喜爱,在园林绿化中的需求量逐年增加。但“罗宾戈登”银桦是红色 *Grevellia banksii* 和 *Grevellia bipinnatifida* 的杂交品种,超过 99% 的花粉败育,所以几乎不产生种子,只能通

过无性繁殖的方式获得苗木。因此,“罗宾戈登”银桦苗木的来源稀少而紧张,满足不了日益增长市场的需求。由于“罗宾戈登”银桦被引入中国市场的时间比较短,目前相关的无性繁殖方面的报道较少。在开展“罗宾戈登”银桦组织培养研究的过程中发现组培苗生根存在一定难度。因此通过对培养基各成分进行研究,探讨了大量元素、微量元素、植物生长调节剂、蔗糖的质量浓度及活性炭对“罗宾戈登”银桦组培苗生根的影响,以期筛选出“罗宾戈登”银桦组培苗生根培养的最佳条件,为工厂化育苗提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

用于生根的“罗宾戈登”银桦组培苗来源于中国林业科学研究院热带林业研究所林木生物技术组培与基因工程实验室,是由腋芽诱导的在继代增殖培养基上培

**第一作者简介:**李湘阳(1970-),女,博士,副研究员,现主要从事林木生物技术组培与基因工程研究工作。E-mail: lisunny126@126.com.

**基金项目:**国家林业局“948”计划资助项目(2012-4-63)。

**收稿日期:**2012-06-13

[4] 杨广乐,宋兆,王军.北方园林露地草本花卉新品种—“大花滨菊”的栽培及应用[J].北方园艺,1994(2):43.

[5] 谭文澄,戴策刚.观赏植物组织培养技术[M].北京:中国林业出版社,1991.

[6] 崔继梅,梁艳丽,谢世清.魔芋组培快繁中常见的几个问题及对策[J].云南农业大学学报,2008,23(1):96-98.

[7] 孙庆春,郑成淑,丰震.菊花玻璃化苗与正常苗的生理特性比较[J].山东农业科学,2009(5):45-47.

## Study on Rapid Propagation *in vitro* of *Leucanthemum maximum*

WANG Hua-yu, ZHANG Shu-ming, HE Gui-zheng

(Qinzhou Forestry Science Research Institute, Qinzhou, Guangxi 535000)

**Abstract:** The stems of *Leucanthemum maximum* were used as explants, the aseptic shoots induction, propagation of the plants *in vitro*, rooting and transplanting were studied. The results showed that the best media for inducing new butts was MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.05 mg/L; the best media for propagation was MS+6-BA 0.3 mg/L+NAA 0.03 mg/L; the best media for rooting was 1/2MS+IBA 0.5 mg/L. The proper subculture cycle was about 25 days and the rooting stage took about 15 days. The rooting rate was as much as 95% and the survival rate of transplanting was 100%.

**Key words:** *Leucanthemum maximum*; aseptic shoots; tissue culture