

# 菊花的快速繁殖

焦德志<sup>1</sup>, 李 波<sup>1</sup>, 魏明丽<sup>2</sup>,

马秋艳<sup>1</sup>, 孙 琦<sup>1</sup>

(1. 黑龙江省齐齐哈尔大学生命科学与工程学院, 161006;

2. 黑龙江省齐齐哈尔市种子站, 161000)

**摘 要:**以带顶芽的菊花茎段为外植体, 接种在诱导侧芽生长培养基中(MS+NAA0.2mg/L+6-BA2.0mg/L), 25d左右诱导成芽, 再将芽接种于愈伤组织诱导培养基中(MS+NAA0.1mg/L+6-BA3.0mg/L)进行继代培养, 最后接种于生根培养基中(1/2MS+NAA0.1mg/L), 15d即可生根, 30~35d平均生根率达100%。将生根试管苗开盖练苗, 移栽, 成活率达95%以上。

**关键词:**菊花; 组织培养; 快速繁殖

**中图分类号:**S 682.1<sup>+</sup>1 **文献标识码:**B

**文章编号:**1001-0009(2007)06-0208-03

菊花(*Dendranthema morifolium*)是多年生宿根花卉, 原产我国, 栽培历史悠久, 以其多姿多彩的形态、迷人的芳香, 深受人们喜爱, 现已成为世界性栽培面积较大的重要花卉。其品种多达约25 000种, 我国的菊花品种也有7 000种以上, 是人们非常喜欢的一种常见花卉。目前菊花最主要的功能就是用于园林的绿化和观赏。其次, 菊花能够保护环境、净化空气, 另外, 菊花还具清热解毒功能, 可作饮料和药物<sup>[1,2]</sup>。

但是由于长期以来菊花生产中多采用分根、扦插等无性繁殖方法, 使得植株感染病毒严重, 目前侵袭菊花的病毒不下10余种, 而且繁殖速度慢, 生长势偏弱, 并有退化现象, 无法满足市场需求。而且病情随种植时间的延长而逐渐恶化, 甚至有的优良品种因此而丢失。长期以来, 关于植物病毒病的防治尚无有效的方法。随着现代生物技术的发展, 人们发现植物的顶端分生组织不受病毒感染, 因而采用茎尖培养可望得到无病毒的材料, 其中马铃薯茎尖培养、甘薯茎尖培养、草莓茎尖培养是最成功的例子。

组织培养因条件可控不受季节限制, 可全年连续生产, 能以28d左右增殖5~7倍的速度在组培室内繁殖菊花小苗, 比传统的扦插方法要快得多。而且能获得大量

规格统一的菊花苗, 同时花瓣组培也是培育新品种的重要手段。菊花的多数器官都可进行组织培养。而国内外大多数报导, 菊花快繁是采用茎尖和叶片, 通过产生愈伤组织诱导分化出芽, 但所产生的植株易突变, 不利于生产。

组织培养方法不仅繁殖系数高、繁殖速度快, 而且还可进行品种的脱毒复壮、种质资源保存等。为了在短时间内快速繁殖而获得保持良种种质的幼苗, 我们采用组织培养法进行了试管快速繁殖试验, 采用茎切段通过激素处理, 使休眠腋芽直接分化成侧芽形成丛生芽, 而不经愈伤组织, 然后将丛生芽进行快繁、生根, 即可获得大量整齐一致的壮苗, 用于生产, 探索出了能持续获得高繁殖系数的方法, 为菊花优良品种苗快速繁殖打下了基础。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

试验材料为白狮子头, 来源于齐齐哈尔大学生命科学与工程学院生物园花棚。

### 1.2 培养基的配制

选用MS为基本培养基。在培养物的不同发育阶段分别添加不同种类和浓度的植物激素, 蔗糖3.0%, pH5.8~6.0用约0.8%的琼脂固化, 分装后在121℃条件下灭菌20min, 放置备用。其中, 诱导侧芽生长培养基(1)为MS+NAA0.2mg/L+6-BA2.0mg/L; 愈伤组织诱导培养基(2)为MS+NAA0.1mg/L+6-BA3.0mg/L; 生根培养基(3)为1/2MS+NAA0.1mg/L<sup>[3]</sup>。

### 1.3 取材和消毒

取菊花带顶芽茎段, 长约2cm, 于流水中冲洗1h, 然后在超净工作台上将材料浸入70%酒精30s, 用无菌水冲洗3次; 再用0.1%升汞消毒8~10min, 无菌水冲洗5~6次, 无菌滤纸吸干水分。将消毒好的材料移入无菌的培养皿内。

### 1.4 诱导侧芽生长

在解剖镜下小心剥掉顶芽外面的幼叶, 直至解剖镜下能看清表面光滑呈圆锥形的茎尖为止, 再用已灭菌的解剖刀割取茎尖组织, 长约0.5~0.6mm, 接种于诱导培养基上进行培养。置于光照培养箱中, 每天连续光照12~16h, 光照强度为2 000~3 000Lx, 培养温度(25±1)℃。经过10d菊花茎尖颜色逐渐变绿, 基部逐渐增大, 茎尖也逐渐伸长, 一般25d后, 长出丛生芽。

### 1.5 继代培养

将丛生芽切割下, 分开接种于培养基(2)之上, 一般15d后可长出丛生芽, 取丛生芽转接于新的培养基(2)上, 则可在更短的时间内(约10d)长出丛生芽, 继代培养的次数越多, 从接种到长出丛生芽所需的时间越短, 但不短于7d, 若不及时转接, 芽苗会迅速长高(见图1)。

第一作者简介: 焦德志(1970-), 男, 副教授, 主要从事植物组织培养和植物生态学研究, E-mail: jdz\_13909@163.com。

收稿日期: 2007-01-23

### 1.6 诱导生根

待继代获得较多丛生芽后, 将丛生芽切成单株, 取长约 2~3 cm 的芽苗分开接种于培养基(3)上, 进行诱导生根培养, 10d 左右就可出现大量小根, 最后有 1~6 条根可长得较长, 芽苗也迅速长高。待生根后, 将生根试管苗开盖练苗, 移栽(见图 2)。

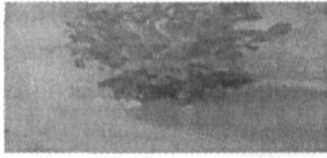
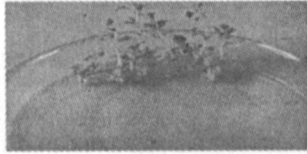


图1 菊花的丛生芽

图2 菊花根的诱导



### 1.7 移栽培养

待根长至 1~2cm 时开瓶进行练苗, 先将瓶塞打开, 让其由无菌环境转至有菌且湿度较低的环境之中约 3d, 将苗取出, 小心用流水洗去根表面的培养基残留物, 移栽到素沙中, 适当遮荫, 一星期后即可成活, 成活率达 95% 以上, 一个月后即可上盆。

## 2 结果与分析

### 2.1 外植体的初代培养

将消毒好的外植体置于解剖镜下, 剥离茎尖, 切取约 0.5mm 的茎尖, 接种于诱导培养基内, 接种时注意茎尖不可倒置, 最好放于培养基上的冷凝水处。培养 3d 后, 茎尖开始萌动, 经过 10d 菊花茎尖颜色逐渐变绿, 基部逐渐增大, 茎尖也逐渐肿胀, 4~6 周后形成丛生芽。结果表明, 诱芽率均在 80% 以上。

### 2.2 丛生芽的诱导和继代培养

要获得试管繁殖的高效率, 植物激素配比是重要的因素。为了确定较佳的激素配比, 我们配置了以 MS 为基本培养基, 另加植物激素的几种不同激素浓度的培养基。在试验过程中发现, 6-BA/NAA 比值越大有利于芽分化。结果显示, 试验所采用的诱导培养基芽分化虽然较少, 但分化的芽都属有效芽。最终筛选出此培养基较佳配方, 继代周期为 25~30d, 增殖倍数 4~7 倍。除此之外, 继代增殖时, 切取的继代苗只留 1 个腋芽与留 2 个腋芽对增殖速度有一定影响。同在一种培养基上, 一芽苗的生长速度比 2 芽苗慢, 达到同样的增殖系数时所需继代周期长 10~15d, 年继代次数少 3~4 次, 产苗量大幅度下降。因此工厂化快繁时, 最好以 2 个腋芽或多于 2 个腋芽的苗进行繁殖。

### 2.3 生根诱导及完整植株的养成

当继代培养的丛生芽长至 2.5~3.5cm, 具 2~3 片叶时, 可将其切成单株, 转接到各种生根培养基上进行

培养, 一般 1 周后有根出现。结果表明, 菊花在不同生根培养基中均能生根, 形成完整植株, 生根率均为 100%, 根不仅粗壮、发达、数量多且植株长势也好。

### 2.4 试管苗的移栽

在组织培养的过程中, 试管苗移栽的成功与否也是一个关键的环节, 因为试管苗在试管中不论生长多好, 移栽若不成功则导致前功尽弃。在试验中, 当试管苗具有 4~5 片叶, 5~6 条根时即可移栽。移栽前先练苗, 将培养瓶拿出培养室, 去掉封口膜, 置于常温下练苗 3d, 接着向瓶中加入少量温水, 软化培养基后取出试管苗, 再用清水洗净粘附在根系上的琼脂, 即可移栽入消毒的基质中。基质先用水淋透, 然后用塑料薄膜覆盖保湿 1 周后, 打开薄膜, 每隔 2d 用喷雾器喷水保证基质潮湿。结果表明, 植株移栽成活率为 95% 以上。

## 3 讨论

菊花品种不同, 在相同激素水平、相同条件下的生长有很大差异。菊花用于工厂化组培生产中, 不需要追求过高的分化系数, 而要求最佳成苗数, 因此, 6-BA 浓度不宜过高, 适宜浓度为 2~3mg/L。利用菊花组培技术繁殖速度快, 苗生长健壮, 是菊花优良品种苗繁殖的主要途径。

一些优良的菊花品种在进行扦插繁殖时常难于生根, 具体原因尚不清楚, 这一问题在很多种类的花卉扦插繁殖中具有普遍性, 利用组织培养方法来繁殖苗木, 使诱导生根变得容易许多, 研究所取的材料就是平时菊花生产上难于生根的材料。由于组织培养用的材料少, 繁殖系数高, 试管苗占空间少, 在试验室内易于记录品种号且能节约苗圃用地等, 所以该技术可在短时间内获得大量菊花苗, 还易于保留菊花品种, 并能有效地防止品种间相互混淆, 可见该技术在生产实践中有着很大的应用价值。用该技术繁殖的菊花苗与普通苗在生长和开花方面的比较研究尚在进行之中。

我们在继代增殖试验过程中注意到, 采用 0.7% 的琼脂比采用 0.1% 的植物胶效果要好。0.7% 琼脂培养基培养皿中湿度稍低, 因而推测其原因可能是改变了离体再生小环境而使增殖频率提高, 具体原因需进一步探讨。

另外, 在试验过程中, 应综合考虑增殖系数与成苗质量的关系。在组培快繁中, “快” 是人们追求的首要目标, 但必须同时注意成苗质量。在试验中发现, 有的方法增殖系数虽然提高了, 但苗的生长状况发生了变化, 叶片细长, 苗变脆, 易断裂, 给接种、移栽等操作工作带来麻烦。所以, 要综合考虑增殖系数和成苗质量的关系, 选择适宜的激素种类和浓度, 以达到快繁的最佳效果。

### 参考文献

- [1] 李云. 林果花菜组织培养快速育苗技术[M]. 北京: 中国林业出版社, 2001.
- [2] 刘敏. 花卉组织培养与工厂化生产[M]. 北京: 地质出版社, 2002.
- [3] 李力艺, 侯志钢. 菊花组织培养技术初探[J]. 山西农业科学, 2004, 2: 5052.

# 兰州百合花瓣高频再生体系研究

刘 芬

(甘肃省农科院果树研究所, 兰州 730070)

**摘 要:**以兰州百合为试材, 研究总结出了利用花瓣建立外植体的高频再生体系: 用花瓣建立外植体时, 灭菌时间控制在 15min 效果较佳, 污染率、失活率均低; 适宜诱导花瓣愈伤组织的培养基为 MS+BA0.5mg/L+2,4-D 0.5mg/L, 诱导率达到 90%; 适宜芽分化培养基为 MS+BA 1.5mg/L+NAA0.1mg/L, 分化率为 75%; 适宜继代和增殖的培养基为 MS+BA 1.5mg/L+IBA 0.5mg/L, 增殖倍数可达 5.8; 生根培养基以 GS+NAA0.25mg/L 最佳, 生根率高达 100%, 试管苗生长势强, 且根系发达; 用草炭作移栽基质, 成活率高, 为 89.6%。

**关键词:** 兰州百合; 花瓣; 诱导; 继代; 生根; 基质

**中图分类号:** S 644.1(242) **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2007)06-0210-03

兰州百合 (*Lilium davidii unicolor* Cotton) 瓣大肉厚, 风味甘甜, 营养丰富, 富含百合多糖类及一些特殊生物活性物质、多种维生素等, 名列食用百合之首, 无论作为名菜佳肴、入药健身, 都具有很高的价值, 在国内外市场倍受青睐, 著名植物学家孔宪武教授称赞兰州百合“品质之佳, 堪称世界第一”。其常规繁殖方法有茎生子球、鳞片扦插等, 繁殖速度有限, 不能满足生产需求。该试验以兰州百合花瓣为外植体, 通过愈伤组织的诱导, 系统地进行不定芽的诱导、增殖、生根和移栽研究, 在短期内生产出大量均匀一致的健壮种苗从而建立高频再生体系, 丰富以往仅采用叶片、茎尖、鳞片等作为外植体

的研究<sup>1-3</sup>, 为兰州百合无性快速繁殖和生产转基因植株提供技术基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 外植体建立及诱导培养

将兰州百合含苞待放的花蕾用中性洗涤剂处理后, 用流水冲洗 20min, 在无菌条件下用 75% 的酒精消毒 1min, 再用 0.2% 的 HgCl<sub>2</sub> 溶液分 6、9、12、15、18、20min 共 6 个处理灭菌, 最后用无菌水冲洗 6~8 次, 再用消毒滤纸吸干表面水分, 用镊子夹开花瓣, 将花瓣切成 8×8mm<sup>2</sup> 的方块接种于附加不同浓度的 2,4-D、BA 及 NAA 的 MS 培养基上。培养基中蔗糖均为 40g/L, 琼脂为 4.7g/L, pH5.8~6.2。将培养 5 周左右的愈伤组织, 转接到芽诱导分化培养基上培养。

### 1.2 芽的继代增殖培养

将诱导出的约 0.8~1mm 不定芽, 在无菌条件下转接到 MS 附加 BA、2,4-D、NAA 及 IBA 等不同激素及浓

**作者简介:** 刘芬(1972-), 女, 硕士, 助理研究员, 一直从事植物生物技术研究工作, E-mail: gswzw@163.com。

**基金项目:** 甘肃省科技攻关资助项目 (QS022-C31-47)。

**收稿日期:** 2007-03-28

## Rapid Propagation of *Chrysanthemum*

Jiao De-zhi<sup>1</sup>, Li Bo<sup>1</sup>, Wei Ming-li<sup>2</sup>, Ma Qiu-yan<sup>1</sup>, Sun Qi<sup>1</sup>

(1. College of Life Science and Technology, Qiqihaer University, Heilongjiang 161006; 2. Seed Station of Qiqihaer, Heilongjiang 161000)

**Abstract:** The stem segments of chrysanthemum with terminal buds were used as explants and inoculated into the medium (MS+0.2mg/L NAA+2.0 mg/L 6-BA) which could induce the growth of lateral buds. The explants were induced to be buds after 25 days. Then the buds were subcultured into the callus-inducing medium (MS+0.1mg/L NAA+3.0mg/L 6-BA). At last the callus were inoculated into the root-inducing medium (1/2MS+0.1mg/L NAA). The roots were induced in the following 15 days. The average rate of rooting was up to 100% during 30~35 days. The plantlets of chrysanthemum were domesticated in culture bottles without covers, then transplanted. The survival rate of them was above 95%.

**Key words:** *Chrysanthemum*; Tissue culture; Rapid propagation