

# 勋章菊组培快繁技术研究

郜旭芳, 孔祥生, 张妙霞, 朱晓娟

(河南科技大学 农学院, 河南 洛阳 471003)

**摘 要:**以勋章菊无菌苗叶片为外植体,以 MS 为基本培养基,添加不同浓度 TDZ、2,4-D、IAA、IBA,研究不同浓度激素及组合对丛生芽诱导、试管苗生根的影响,并进行试管苗练苗和移栽。结果表明:最佳丛生芽诱导培养基为 MS+TDZ 0.8 mg/L+IBA(0.1~0.5)mg/L,诱导率达到 90.0%以上。最佳生根培养基为 1/2MS+NAA 0.2 mg/L+IBA 0.5 mg/L,生根率达到 100.0%。勋章菊的叶片是外植体的较好选择,在短期内能获得大量组培苗,移栽成活率也达到 95%以上。

**关键词:**勋章菊;无菌苗叶片;组织培养

**中图分类号:**S 682.1<sup>+</sup>1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2011)23-0111-03

勋章菊(*Cazania rigens* L.)属菊科勋章菊属多年生草本植物<sup>[1]</sup>。又名勋章花,因其整个花序如勋章,故名勋章菊。其花色艳丽,单花寿命长,抗逆性强,室内可以四季现花,原产于南非,性喜温暖向阳,是很好的园林花卉和插花材料,也是 2010 年上海世博会评选入围装饰环境的花卉之一。目前勋章菊常用播种、分株、扦插的方式进行繁殖<sup>[2]</sup>,这些方法需要大量的种子、外植体等材料,受季节限制,繁殖速度慢,繁殖系数低,新品种选育周期长,不利于勋章菊的规模化繁育和种植。近几年来,菊科组织培养研究日趋深入,不少研究者探索了菊科植物的外植体类型、大小、激素配比对组培成苗、芽诱导、根诱导以及试管苗驯化移栽的影响<sup>[3-5]</sup>,并取得可喜成果。该试验以勋章菊无菌苗叶片为材料,探索了勋章菊组培快繁技术,旨在建立有效的快繁体系,为组培苗的工厂化生产提供可靠的技术依据,以推动勋章菊大规模栽培生产和新品种的研发。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

勋章菊种子,上海先胜园艺种子有限公司。

### 1.2 试验方法

1.2.1 无菌苗的获得 选用饱满、成熟度高的种子,温水浸泡 6 h 后选取下沉种子,自来水冲洗后,放于超净工作台上用 75%酒精表面处理 30 s,无菌水冲洗 3 次,10%次氯酸钠溶液处理 15 min 后取出,无菌水振荡冲洗 5 次,无菌滤纸吸干表面水分,接种于无任何激

素的 MS 培养基上。蔗糖 30 g/L,琼脂 6 g/L,pH 5.8。置于光照培养箱培养,培养温度(25±2)℃,光照时间 12 h/d,光强 1 500~2 000 lx,获得无菌苗。

1.2.2 基本培养基的筛选 将培养 20 d 左右的无菌苗在无菌操作台内取出,将叶片切成 0.5 cm 左右的块状,接种于添加了相同激素水平(均附加 TDZ 0.5 mg/L,IBA 0.5 mg/L)的 3 种基本培养基(以 MS、1/2MS、B5)内。50 d 后观察叶片诱导情况。

1.2.3 丛生芽的诱导与增殖 在无菌操作台内,将切好的无菌苗叶片块接于添加了 0.8 mg/L TDZ 和不同浓度 2,4-D 或 IAA 或 IBA 的培养基上进行培养。培养温度(24±1)℃,光照时间 12 h/d,光照强度 1 500~2 000 lx。50 d 后统计芽的诱导率。芽诱导率(%)=带芽的愈伤组织块数/接种叶片总块数×100%。

1.2.4 芽的生根诱导 将丛生芽分成单株接种到生根培养基中,培养生根的培养基以 1/2 MS 为基本培养基,附加 NAA 和 IBA 培养到 35 d,观察并统计试管苗的生根情况。

1.2.5 试管苗的移栽 试管苗根长到 2.0~5.0 cm 时移栽。将生根试管苗的瓶口打开,练苗 2~3 d,让小苗逐渐适应外界环境。移栽时,将试管苗小心地取出,用自来水洗净培养基后,迅速植入营养土:蛭石=1:1 的育苗盘中,在温室内练苗 15~25 d。练苗期间保持室温 25~28℃,湿度保持在 85%以上,光强 1 500~2 000 lx。最后将生长健壮的幼苗移栽至花盆中。

以上试验每个处理接种 5 瓶,每瓶接种 5 个叶片或小苗,3 次重复。

## 2 结果与分析

### 2.1 基本培养基的筛选

切取勋章菊无菌苗叶片接种到 MS、1/2MS 和 B5 3 种基本培养基上。各处理采用相同的激素水平。每个处理接种 5 瓶,每瓶 5 个叶片块,3 次重复。接种 3 d

第一作者简介:郜旭芳(1982-),女,河南宝丰人,在读硕士,研究方向为细胞工程。E-mail:xufang601@163.com。

责任作者:孔祥生(1955-),男,河南鲁山人,硕士,教授,现主要从事植物生理学和生物技术的教学与科研工作。

收稿日期:2011-09-21

后,叶片块开始膨大,接种 2 周后,在叶片的两端切口处长出愈伤组织,并不断的增多,接种 4 周后,愈伤组织上分化出细小的芽点,芽点不断的生长,50 d 后观察各个处理的丛生芽生长情况,由表 1 可知,3 种培养基对勋章菊丛生芽诱导方面有明显差异,接种于 B<sub>5</sub> 培养基上的外植体出现了发黄和干枯等,诱导率仅为 6.7%;1/2MS 培养基上愈伤组织较为疏松,虽然多数愈伤块上分化出了芽,但是芽丛生得较少,芽体普遍黄绿色,部分芽体上的叶片细瘦薄弱,生长也较缓慢;基本培养基 MS 上丛生芽诱导率最高,达到了88.0%,芽体嫩绿色,丛生芽较多,效果最佳。

表 1 不同培养基对勋章菊叶片诱导丛生芽的影响

编号	培养基类型	接种数/个	分化数/个	芽诱导率/%	芽生长情况
1	MS	75	66	88.0	芽绿色,较多,生长旺盛
2	1/2MS	75	54	72.0	芽黄绿色,较少,生长较慢
3	B <sub>5</sub>	75	5	6.7	极少数出现芽,细弱,发黄

表 2 不同浓度 TDZ 对勋章菊叶片诱导丛生芽的影响

编号	TDZ 浓度/mg · L <sup>-1</sup>	接种数/个	芽诱导率/%	平均芽长/cm	芽长势
CK	0	75	0	0	无芽产生
1	0.1	75	37.3	0.56	芽体嫩绿,生长缓慢
2	0.5	75	52.0	1.21	芽体嫩绿,丛生芽较少
3	0.8	75	76.0	2.73	芽体嫩绿,丛生芽多,生长旺盛
4	1.0	75	57.3	2.04	芽体嫩绿,细瘦
5	2.0	75	22.7	1.09	芽体黄绿瘦弱,出现玻璃化,畸形

2.3 不同激素组合对丛生芽诱导的影响

选用 TDZ 的最适浓度 0.8 mg/L,配合使用不同浓度的 2,4-D、IAA 和 IBA 进行丛生芽的诱导试验。由表 3 可知,2,4-D 对丛生芽的诱导作用最差,各个浓度的 2,4-D 对勋章菊叶片的诱导率为 2.7%~17.3%,长出的丛生芽也普遍较矮。IBA 各个浓度梯度的试管苗均比同浓度梯度的其它 2 种生长调节剂好,有较好的效果,其中 0.1~0.5 mg/L IBA 的效果最好,诱导率

2.2 不同 TDZ 浓度对勋章菊丛生芽诱导的影响

植物生长调节剂苯基噻二唑基脲(TDZ)具有极强的促进细胞分裂、生长、分化的作用,在组织培养中添加适宜浓度的 TDZ 有利于丛生芽的诱导和增殖。由表 2 可知,当 TDZ 浓度为 0 时,没有芽的分化,随着 TDZ 浓度的增加,丛生芽的诱导率依次增加,并且平均芽长增长,长势增强。在 TDZ 浓度为 0.8 mg/L 时,平均芽长为 2.73 cm,产生的丛生芽嫩绿,生长旺盛,丛生芽的诱导率为 76.0%,丛生芽数量也多。TDZ 浓度从0.8~2.0 mg/L时,丛生芽诱导率依次降低,平均芽长逐次变矮,芽长势也逐次变弱。在浓度为 2.0 mg/L 时,大部分的叶块停留在愈伤块阶段,芽分化最少,而且愈伤发黄疏松,很容易衰老褐化,分化出的芽黄绿瘦弱,部分植株叶片水渍状,玻璃化,也有部分植株叶片变厚变宽,畸形,生长缓慢。

达到了 90%以上,诱导芽数均在 20 个以上,丛生芽健壮,生长迅速。随着 IBA 浓度的增加,丛生芽的诱导率呈递减趋势,到 1.5 mg/L 时,诱导率仅为 49.3%,多停留在愈伤块阶段,而且诱导出的芽中出现了少量的玻璃化苗。因此确定勋章菊叶片丛生芽诱导最佳培养基为添加 0.8 mg/L 的 TDZ 和 0.1~0.5 mg/L IBA 的 MS 培养基。

表 3 TDZ 和不同生长调节剂对比对勋章菊叶片诱导丛生芽的影响

编号	TDZ 浓度/mg · L <sup>-1</sup>	生长素浓度/mg · L <sup>-1</sup>	接种数/个	芽诱导率/%	平均芽长/cm
1	0.8	2,4-D 0.5	75	12.0	1.95
2	0.8	2,4-D 0.1	75	17.3	2.31
3	0.8	2,4-D 0.5	75	14.7	2.17
4	0.8	2,4-D 1.0	75	9.3	1.55
5	0.8	2,4-D 1.5	75	2.7	0.57
6	0.8	IAA 0.05	75	18.7	1.41
7	0.8	IAA 0.1	75	29.3	2.45
8	0.8	IAA 0.5	75	74.7	3.81
9	0.8	IAA 1.0	75	64.0	3.43
10	0.8	IAA 1.5	75	17.3	2.16
11	0.8	IBA 0.05	75	34.7	2.90
12	0.8	IBA 0.1	75	93.3	4.43
13	0.8	IBA 0.5	75	90.6	4.51
14	0.8	IBA 1.0	75	77.3	3.07
15	0.8	IBA 1.5	75	49.3	2.96

2.4 不同生长调节剂配比对试管苗生根的影响

将苗高 3 cm 以上,生长健壮的丛生芽单个切开,转入不同的生根培养基中,经过 15~20 d 培养,苗基部长出许多白色辐射状的根。由表 4 可知,生根的最佳培养基是 1/2MS+0.2 mg/L NAA+0.5 mg/L IBA,生根率达到 100.0%,平均生根 3~8 条,主侧根明显,主根发达,生长健壮,小苗叶片嫩绿,长势很好。

表 4 不同生长调节剂配比对试管苗生根的影响

编号	NAA 浓度 /mg·L <sup>-1</sup>	IBA 浓度 /mg·L <sup>-1</sup>	接种芽数 /个	生根率 /%	根的生长情况
CK	0	0	75	0	无根
1	0.2	0.1	75	81.3	细毛状,多
2	0.2	0.5	75	100.0	主根发达,根粗壮
3	0.2	1.0	75	100.0	细毛状,根长,较多
4	0.2	1.5	75	70.7	细毛状,根长,较少

2.5 练苗与移栽

在生根培养基上培养 15~20 d 后,根长达到 2~5 cm,将培养生根试管苗的三角瓶口打开,放置温室里,在自然光线下练苗 1~2 d,让试管苗逐渐适应外界环境。移栽时,小心取出试管苗,用自来水冲洗干净根上的培养基,植入营养土和蛭石比例为 1:1 的育苗盘中,在温室内练苗 10~15 d,练苗期间保持室温 25~28℃,湿度保持在 85%以上,每天光照 12~14 h。移栽苗成活后,移入花盆中栽培。移栽最好选择在阴天,不仅可以提高幼苗成活率,而且对幼苗健壮生长也很有利,2 周后统计成活率,在 95%以上。

3 讨论与结论

勋章菊的离体培养过程中,分别选取无菌苗的下胚轴、子叶、茎段、叶片作为外植体试验,发现下胚轴能最快的产生大量的愈伤和丛生芽,丛生芽也容易生根,效果最好,但是无菌苗的下胚轴很短,随着植株的生长逐渐变为更短的茎,取材很有限,对于发展商品化种植,意义不大。以勋章菊无菌苗叶片为外植体,不仅取

材量广,不受时间限制,无需表面灭菌,而且增殖效果显著。在无菌苗的种植过程中,勋章菊的种子对 HgCl<sub>2</sub> 很敏感,用 HgCl<sub>2</sub> 各浓度梯度和不同处理时间浸泡种子后接种,种子发芽率为 0,这与张强等<sup>[6]</sup>对除虫菊的种子消毒方法研究的结果一致。在愈伤诱导和分化阶段,发现各个处理均能较容易产生愈伤组织,关键是芽的分化,没有分化出芽的处理大多停留在愈伤组织阶段,而且愈伤很容易老化和褐化,这与袁志成等<sup>[7]</sup>对菊花的愈伤分化诱导试验结果相一致,所以如何提高芽的分化率,避免愈伤组织的老化褐化,才是该试验的重点。该试验通过对培养基激素组合进行筛选,得出芽诱导以 0.8 mg/L TDZ+(0.1~0.5)mg/L IBA 的 MS 培养基效果最佳,诱导率达到了 90%以上;生根以 0.2 mg/L NAA+0.5 mg/L IBA 的 1/2MS 培养基效果最好,生根率达到了 100.0%,移栽成活率也达到了 95%以上。勋章菊作为主要的园林装饰花卉和鲜切花材料,越来越被人们关注和喜爱。通过建立完善的勋章菊组培快繁技术,发展规模化繁育和种植,为培育更多的色彩新奇的勋章菊奠定基础。

参考文献

[1] 杨俊杰,付红梅.勋章菊的栽培技术要点[J].温室园艺,2008(6):61-62.  
[2] 沈汉国,陈少萍,陈永明.勋章菊的繁殖与病虫害防治[J].中国花卉园艺,2007(16):20-21.  
[3] 杨棱芬,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.  
[4] 徐士清,杨世湖,倪丹,等.非洲菊试管苗叶片的组培快繁[J].园艺学报,2002,29(5):493-494.  
[5] 高亦珂,赵勃,丁国勋,等.菊花茎叶外植体再生体系的研究[J].北京林业大学学报,2001,23(1):32-33.  
[6] 张强,李琰,张兴.除虫菊组织培养中种子及幼苗消毒方法研究[J].陕西农业科学,2007(2):27-28.  
[7] 袁成志,李波,杨蔚然,等.激素对菊花愈伤组织诱导和丛生芽分化的影响[J].北方园艺,2010(1):162-164.

Study on Tissue Culture and Rapid Propagation of *Gazania rigens* L.

GAO Xu-fang, KONG Xiang-sheng, ZHANG Miao-xia, ZHU Xiao-juan  
(College of Agriculture, Henan University of Science and Technology, Luoyang, Henan 471003)

**Abstract:** *In vitro* seedling leaves of *Cazania* leaves were used as explants, by using MS as minimal medium, adding different concentration of TDZ, 2,4-D, IAA, IBA, effect of different concentration hormone and their combination on the induction of adventitious buds, rooting and transplanting, practice of test-tube seedling were studied. The results indicated that optimum medium for induction adventitious buds was MS+TDZ 0.8 mg/L+IBA (0.1~0.5)mg/L, induction rate of more than 90.0%. The best rooting medium was 1/2MS+IBA 0.5 mg/L+NAA 0.2 mg/L, the rooting rate reached 100%. The leaf explants of *Cazania* was a better choice, in the short term to obtain large amounts of tissue culture seedlings, the transplanting survival rate could reach more than 95%.

**Key words:** *Cazania rigens* L.; aseptic seedling leaves; tissue culture