

李晓亮,张军云,张 钟,等.盆栽菊花的茎尖组织培养快繁技术[J].江苏农业科学,2018,46(24):57-62.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.24.013

盆栽菊花的茎尖组织培养快繁技术

李晓亮,张军云,张 钟,段永华,张健康,王文智,杨光焰,钱遵姚,张翠萍

(玉溪市农业科学院,云南玉溪 653100)

摘要:以盆栽菊花香草水晶的茎尖为外植体,通过正交、对比、附加等试验,研究 HgCl_2 浓度及其灭菌时间、基础培养基、6-苄氨基腺嘌呤(6-BA)等9种因素对盆栽菊花茎尖组织培养快繁的影响,建立完善的盆栽菊花茎尖组织培养快繁技术体系,为菊花脱毒复壮、工厂化快繁育苗、种质资源保存等提供重要的技术支撑。结果表明:茎尖的最佳灭菌方法是0.20% HgCl_2 灭菌4~5 min;初代的适合培养基为MS+6-BA 0.4~0.8 mg/L+萘乙酸(NAA)0.01 mg/L;增殖继代的最佳培养基为MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.01 mg/L+白砂糖20 g/L,增殖系数为17.95;生根的最佳培养基为MS+活性炭(activated carbon,简称AC)0.1%或1/2MS+吲哚丁酸(IBA)0.5 mg/L+AC 0.1%,其成株率和生根率均>90%。该技术体系育出的种苗具有优良综合素质,可推广应用于盆栽菊花的工厂化快繁育苗等,也可为其他类型菊花(切花型菊花、造型菊花等)组织培养快繁技术等的研究提供重要参考。

关键词:盆栽菊花;茎尖;香草水晶;组织培养快繁;正交试验

中图分类号: S682.1⁺10.4⁺3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)24-0057-06

菊花[*Dendranthema morifolium* (Ramat.) Tzvel.]为菊科多年生宿根草本植物,是我国的传统名花,也是世界四大切花之一,是一种被广泛栽培的重要花卉^[1-3]。菊花目前主要用于园林的绿化和观赏,如制作花束、花环、观赏盆花、秋季花坛、花台、盆花群等,深受人们喜爱^[3-4]。菊花传统的繁殖方法主要是扦插和嫁接,但存在很多缺点:需较多母株材料、植株病毒逐代积累加重、品质退化、繁殖速度不快、易受季节变化和外界环境条件的影响、病虫害发生频率高等^[5-8],为解决这些问题,目前最有效的技术措施之一是菊花的茎尖组织培

养快繁技术^[2,4-6,9]。

我国的菊花组织培养技术研究始于20世纪80年代^[10],截至目前的研究主要集中于菊花的花瓣^[11-13]、花蕾^[2,14]、叶片^[15-16]、茎段^[6,17]的组织培养,而有关菊花茎尖组织培养技术的研究报道较少^[7,9,18],且这些报道的研究内容简单,仅主要涉及激素与菊花增殖量、生根量的关系,更是几乎没有涉及种苗综合素质。因此,建立完善的菊花茎尖组织培养快繁技术体系,对菊花脱毒复壮、工厂化快繁育苗、种质资源保存等,进而更好地促进菊花的生产发展,具有重要意义。

为此,以盆栽菊花香草水晶的茎尖为材料,研究 HgCl_2 浓度及其灭菌时间、基础培养基、6-BA等9种主要因素对菊花茎尖组织培养快繁的影响,分析培养基与种苗综合素质的关系并据此筛选出适合的培养基,旨在建立一套完善的且能育出优良综合素质种苗的盆栽菊花茎尖组织培养快繁技术体系,为菊花脱毒复壮、工厂化快繁育苗、种质资源保存等提供重要的技术支撑。

收稿日期:2018-02-27

基金项目:玉溪市农业科学院科研项目(编号:YXNKY201601)。

作者简介:李晓亮(1982—),男,云南江川人,硕士,农艺师,主要从事植物组织培养、园艺作物育种及栽培等的研究与推广工作。

E-mail:lixiaoliangyn@qq.com。

通信作者:张军云,硕士,高级农艺师,主要从事植物组织培养、园艺作物育种及栽培等的研究与推广工作。E-mail:yuhebio@163.com。

辽宁中医药大学学报,2014,16(8):95-96.

[11] 颜小捷,谷陟欣,卢凤来,等. FOLIN-酚比色法测定裸花紫珠中总酚含量[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(18):74-78.

[12] 郑超,徐晟,夏冰,等. 三种抗氧化剂对曼地亚红豆杉愈伤组织褐化及相关物质含量的影响[J]. 植物生理学报,2013,49(3):259-263.

[13] 张月玲,肖尊安,熊红. 红豆杉愈伤组织生长与PPO, POD比活性和多酚质量分数变化的研究[J]. 北京师范大学学报(自然科学版),2002,38(6):800-804.

[14] Kobayashi Y, Fukui H, Tabata M. Effect of carbon dioxide and ethylene on berberine production and cell browning in *Thalictrum minus* cell cultures[J]. Plant Cell Reports,1991,9(9):496-499.

[15] 张长平,李春,元英进,等. 真菌诱导子对悬浮培养南方红豆杉细胞态势及紫杉醇合成的影响[J]. 生物工程学报,2001,17

(4):436-440.

[16] 李俊,彭正松. 刺激剂对植物细胞悬浮培养的影响[J]. 广西植物,2005,25(4):341-348.

[17] 陈超,付春华,姜军民,等. 红豆杉细胞中的酚类化合物含量与紫杉醇产量之间的关系[J]. 华中农业大学学报,2005,24(1):83-87.

[18] 晏琼,元英进,胡宗定. 果糖补料与真菌诱导对红豆杉细胞悬浮培养体系的协同效应[J]. 化学工程,2003,31(5):46-49.

[19] Ketchum R E B, Gibson D M. Paclitaxel production in suspension cell cultures of *Taxus* [J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 1996,46(1):9-16.

[20] Kim, J H, Yun J H, Hwang Y S, et al. Production of taxol and related taxanes in *Taxus brevifolia* cell cultures: effect of sugar [J]. Biotechnology Letters,1995,17(1):101-106.

1 材料与方法

1.1 试验时间及地点

试验于 2017 年 1—7 月在玉溪市农业科学院研和基地的组培室实施。

1.2 试验材料

采用盆栽菊花香草水晶的茎尖作为外植体,于玉溪紫玉花卉产业有限公司的盆栽菊花母本园里采集带茎尖长 3 ~ 5 cm 的菊花茎段。

1.3 培养条件

培养基以 MS 或 1/2 MS 或 1/4 MS 为基础培养基,均含琼脂(强度为 1 200 g/cm²)5.2 g/L、白砂糖 30 g/L(增殖试验除外),附加不同的植物生长调节剂。培养基 pH 值为 5.4 ~ 5.6,并用 121 ℃ 高压蒸汽灭菌 25 min。培养室温度为 (25 ± 2) ℃,相对湿度为 35% ~ 40%,光照度约为 2 500 lx,光照时间为 12 h/d。

1.4 试验方法

1.4.1 外植体的灭菌 剪取茎段的顶芽,用自来水流水冲洗 1 min,再用洗洁精的水溶液浸泡 2 min,在超净工作台上用 70% 乙醇浸泡 30 s 后灭菌外植体,设置 8 个处理:处理 1 (0.15% HgCl₂ 灭菌 2 min)、处理 2 (0.15% HgCl₂ 灭菌 3 min)、处理 3 (0.15% HgCl₂ 灭菌 4 min)、处理 4 (0.15% HgCl₂ 灭菌 5 min)、处理 5 (0.20% HgCl₂ 灭菌 2 min)、处理 6 (0.20% HgCl₂ 灭菌 3 min)、处理 7 (0.20% HgCl₂ 灭菌 4 min)、处理 8 (0.20% HgCl₂ 灭菌 5 min)。每个处理灭菌 10 个菊花茎尖,重复 3 次,灭菌后的茎尖用无菌水浸泡 2 min,切取茎尖生长点(约 1.0 mm),接种生长点入 MS + 6 - 苄氨基腺嘌呤(6 - BA)0.8 mg/L + 萘乙酸(NAA)0.01 mg/L 中(茎尖生长点数为 1 个/瓶)培养 15 d,记录茎尖的细菌污染和存活,统计茎尖的细菌污染率和死亡率,计算公式:细菌污染率 = 细菌污染的茎尖个数/接种的茎尖总数 × 100%;死亡率 = 死亡的茎尖个数/接种的茎尖总数 × 100%。

1.4.2 初代培养 设置 2 种处理的培养基:处理 1 (MS + 6 - BA 0.4 mg/L + NAA 0.01 mg/L)、处理 2 (MS + 6 - BA 0.8 mg/L + NAA 0.01 mg/L)。将灭菌后无污染的茎尖生长点接种于 2 种培养基中初代培养 30 d。

1.4.3 增殖培养 设计 L₉ (3⁴) 正交试验(表 1),每个处理 10 瓶,每瓶接种 5 个含双腋芽的无菌茎段,增殖培养 35 d 后调查各处理的植物形态类型、成株(芽)率、株(丛芽)高、节间距、茎粗、增殖系数。调查方法:当接种的茎段分化长成植株或芽时,则认为该茎段已成株(芽),将成株(芽)数记录为 1;调查增殖系数时,若母瓶内为芽(丛芽)时,将 2 个单芽等同于 1 个双腋芽的茎段;当调查株(丛芽)高、节间距、茎粗、增殖系数时,均分别在各自所有样本中随机取样调查 10 个样本,若样本量不足 10 个,则以实际样本调查;统计成株(芽)率和增殖系数,计算公式:成株(芽)率 = [成株(芽)数/接种茎段数] × 100%;增殖系数 = 新茎段(芽)数/接种茎段数。

1.4.4 生根培养 采用正交试验 + 对比试验 + 附加试验的方法开展菊花生根试验,其中正交试验为 L₉ (3⁴) 设计,对比试验为正交试验的每个处理均添加 0.1% 的活性炭(AC),附

表 1 盆栽菊花香草水晶增殖培养正交试验 L₉ (3⁴) 设计

处理	基础培养基	6 - BA 含量 (mg/L)	NAA 含量 (mg/L)	白砂糖含量 (g/L)
1	MS	0.5	0.01	20
2	MS	1.0	0.05	25
3	MS	2.0	0.10	30
4	1/2MS	0.5	0.05	30
5	1/2MS	1.0	0.10	20
6	1/2MS	2.0	0.01	25
7	1/4MS	0.5	0.10	25
8	1/4MS	1.0	0.01	30
9	1/4MS	2.0	0.05	20

加试验为植物组织培养中一些经验性或常用的生根培养基,共 24 种处理的培养基(表 2),每个处理 9 瓶,每瓶接种 5 个无菌茎段,生根培养 35 d 后调查各处理的成株率、植株的根发生部位、生长势、生根率、株高、茎粗、叶片数、生根数、根长、根粗。调查方法:当接种的茎段分化成植株时,则认为该茎段已成株,将成株数记录为 1;当调查株高、茎粗、叶片数、生根数、根长、根粗时,均分别在各自所有样本中随机取样调查 10 个样本,若样本量不足 10 个,则以实际样本数调查为准;统计成株率和生根率,计算公式:成株率 = [成株数/接种茎段数] × 100%;生根率 = 生根的植株数/成株数 × 100%。

1.5 统计分析

采用 Excel 2003 和 SPSS 16.0 处理和分析数据,用 SNK 检验显著性。

2 结果与分析

2.1 外植体灭菌

处理间的菊花茎尖灭菌效果差异显著 ($P < 0.05$) (表 3)。同一 HgCl₂ 浓度下,增加灭菌时间,茎尖的细菌污染率降低,死亡率增加。综合分析处理间的细菌污染率和死亡率,菊花茎尖最佳的灭菌方法是 0.20% HgCl₂ 灭菌 4 ~ 5 min,此处理下的茎尖细菌污染率较低 ($P < 0.05$),死亡率也不算高 (<30%),灭菌非常彻底。

2.2 初代培养

菊花茎尖生长点接种于培养基(图 1 - A)上培养,5 d 后茎尖的生长点萌动,伸长,基部膨大。培养 15 d 时,诱导茎尖生长点分化成高约 1.0 cm 的顶芽,芽体形态正常(图 1 - B),培养 30 d 时,分化成高约 2.0 cm、含 6 ~ 8 个单芽组成的丛生芽(包括不定芽),单芽的芽体形态结构良好、健壮、无玻璃化、无黄化(图 1 - C)。

菊花茎尖在 2 种初代培养基中的培养效果无明显差异,均表现为芽体的形态结构良好、生长势健壮(图 1)。因此,菊花茎尖的适宜初代培养基为 MS + 6 - BA 0.4 ~ 0.8 mg/L + NAA 0.01 mg/L。

2.3 增殖继代培养

菊花茎段接种(图 2 - A)培养后,处理间菊花茎段的发育和增殖分化差异明显,出现了 3 种植物形态类型:丛生芽(图 2 - B ~ 图 2C)、植株(图 2 - D ~ 图 2 - H)、愈伤组织(图 2 - I、图 2 - J)。其中,处理 1 ~ 7 的植物形态(图 2 - B ~ 图 2 - H)生长势较好,呈(深)绿色、无玻璃化、无黄化、健壮。

表 2 盆栽菊花香草水晶生根培养试验设计

试验类型	处理	基础培养基	NAA 含量 (mg/L)	IBA 含量 (mg/L)	IAA 含量 (mg/L)	AC 含量 (%)
正交试验 L ₉ (3 ⁴)	1	MS	0	0	0	—
	2	MS	0.05	0.1	0.1	—
	3	MS	0.10	0.2	0.2	—
	4	1/2MS	0	0.1	0.2	—
	5	1/2MS	0.05	0.2	0	—
	6	1/2MS	0.10	0	0.1	—
	7	1/4MS	0	0.2	0.1	—
	8	1/4MS	0.05	0	0.2	—
	9	1/4MS	0.10	0.1	0	—
对比试验(与处理 1~处理 9 相比)	10	MS	0	0	0	0.1
	11	MS	0.05	0.1	0.1	0.1
	12	MS	0.10	0.2	0.2	0.1
	13	1/2MS	0	0.1	0.2	0.1
	14	1/2MS	0.05	0.2	0	0.1
	15	1/2MS	0.10	0	0.1	0.1
	16	1/4MS	0	0.2	0.1	0.1
	17	1/4MS	0.05	0	0.2	0.1
	18	1/4MS	0.10	0.1	0	0.1
附加试验(经验性或常用的生根培养基)	19	1/2MS	0	0	0	—
	20	1/2MS	0	0	0	0.1
	21	1/2MS	0.10	0	0	—
	22	1/2MS	0.10	0	0	0.1
	23	1/2MS	0	0.5	0	—
	24	1/2MS	0	0.5	0	0.1

表 3 盆栽菊花香草水晶外植体灭菌效果

HgCl ₂ 浓度 (%)	灭菌时间 (min)	细菌污染率 (%)	死亡率 (%)
0.15	2	53.33±3.33a	0.00±0.00c
	3	30.00±5.77b	0.00±0.00c
	4	10.00±0.00c	10.00±0.00b
	5	6.67±3.33c	16.67±3.33a
0.20	2	43.33±3.33a	0.00±0.00c
	3	26.67±3.33b	3.33±3.33c
	4	6.67±3.33c	16.67±3.33b
	5	3.33±3.33c	26.67±3.33a

注:同一 HgCl₂ 浓度下的同列数据后不同字母表示处理间在 0.05 水平上差异显著。

处理间菊花茎段生长量和增殖量的差异明显(表 4):较低的成株(芽)率是处理 7、8、9,分别为 48.00%、0、0,其余处理(处理 1~处理 6)的成株(芽)率变化范围为 80.00%~92.00%;处理间的株(丛芽)高范围为 1.63~3.40 cm;处理间节间距(范围为 0.18~0.31 cm)和茎粗(范围为 0.87~0.98 mm)的差异均不显著($P>0.05$);处理 1、2 的增殖系数(分别为 17.95、12.30)均显著大于其他处理(范围为 4.90~7.10)($P<0.05$)。

表 1、图 2、表 4 显示,处理 1~处理 6(基础培养基为 MS 或 1/2MS、6-BA 含量为 0.5~2.0 mg/L、NAA 含量为 0.01~0.10 mg/L、白砂糖含量为 20~30 g/L)具有较高的成株(芽)率和增殖系数(4.90~17.95),其中处理 1 的增值系数最大,且处理 1~处理 6 均具有较好生长势的植物形态。因此,菊花增殖继代的适宜培养基是 MS(或 1/2MS)+6-BA 0.5~

2.0 mg/L+NAA 0.01~0.10 mg/L+白砂糖 20~30 g/L,最佳培养基是 MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.01 mg/L+白砂糖 20 g/L。

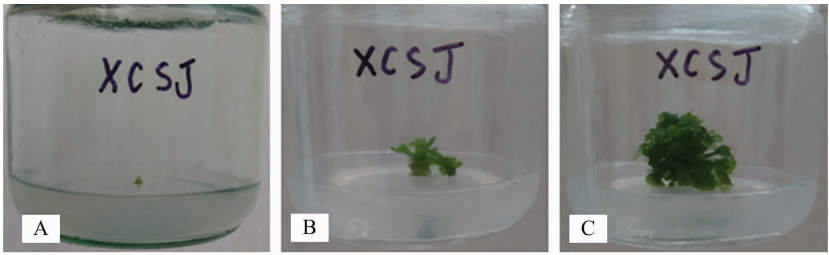
2.4 生根培养

处理间成株率差异明显,变化范围为 20.00%~95.56%;处理间的生根率(范围为 86.67%~100.00%)差异较小,生根率>90.00%的处理占 83.33%,其中处理 1、10、24 成株率和生根率均>90%;处理间的株高范围为 1.58~4.84 cm,茎粗范围为 0.75~1.19 mm,叶片数范围为 6.70~13.90 张,生根数范围为 2.50~8.20 条,根长范围为 1.64~5.94 cm,根粗范围为 0.13~0.46 mm(表 5)。说明菊花比较容易生根,但处理间的菊花植株生长量和生根量的差异却较大。

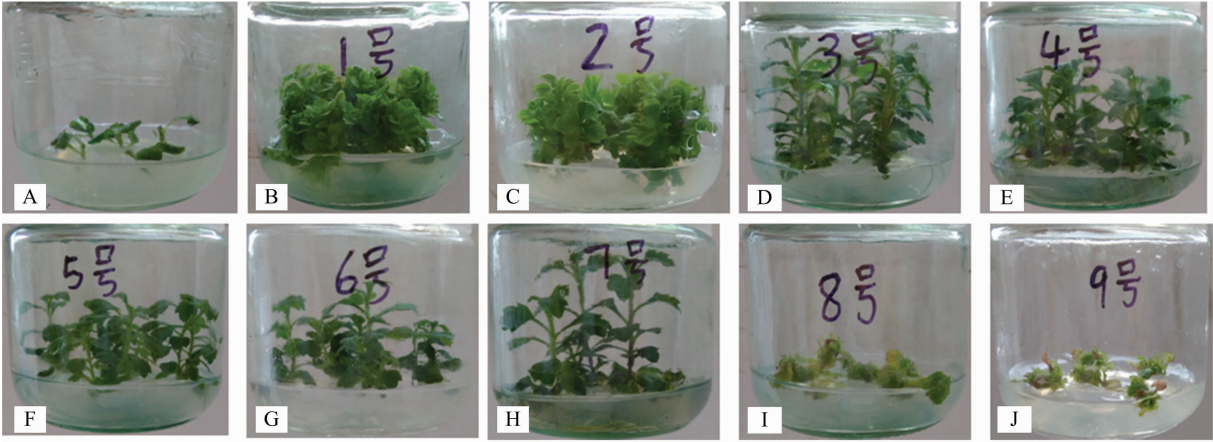
处理间菊花的根发生和植株生长势的差异明显(表 6)。菊花主要从基部(无愈伤组织)或(和)基部愈伤组织的部位处生根,植株生长势有较好、一般、较差。根系发生和植株生长势均较好的特征是根从基部(无愈伤组织)发出,植株健壮、深绿、笔直、整齐、无玻璃化、无黄化,如处理 10、24(表 6、图 3)。

综合分析成株率、生根率、根发生和植株生长势等,菊花生根的最佳培养基是处理 10(MS+AC 0.1%)、处理 24(1/2MS+IBA 0.5mg/L+AC 0.1%),其生根培养效果较好(图 3)。

不同因素及其不同水平对菊花生根培养中的成株率、生根率、株高、茎粗影响差异明显(表 2、表 7)。当基础培养基为 MS 或 1/2MS、NAA 含量为 0~0.05 mg/L、IBA 含量为 0~0.2 mg/L、IAA 含量为 0~0.1 mg/L 时,菊花的成株率、生根率、株高、茎粗总体上均具有较大的水平均值(表 2、表 7)。



A—菊花茎尖生长点刚接种入培养基；B、C—茎尖生长点培养 15、30 d 的效果
图1 盆栽菊花香草水晶的初代培养效果



A—菊花茎段刚接种入培养基；B~J—处理 1~处理 9
图2 不同处理对盆栽菊花香草水晶增殖培养中茎段增殖分化的影响

表 4 不同处理对盆栽菊花香草水晶增殖培养中茎段生长量和增殖量的影响

处理	成株(芽) 率(%)	株(丛芽)高 (cm)	节间距 (cm)	茎粗 (mm)	增殖系数
1	80.00	1.63 ± 0.14c	—	—	17.95 ± 2.19a
2	82.00	1.67 ± 0.12c	—	—	12.30 ± 1.17b
3	92.00	3.40 ± 0.35a	0.18 ± 0.02a	0.93 ± 0.07a	7.10 ± 0.93c
4	90.00	2.84 ± 0.37ab	0.31 ± 0.03a	0.96 ± 0.07a	6.20 ± 0.72c
5	92.00	2.01 ± 0.31bc	0.26 ± 0.04a	0.88 ± 0.11a	4.95 ± 0.77c
6	88.00	2.17 ± 0.26bc	0.25 ± 0.03a	0.87 ± 0.05a	4.90 ± 0.56c
7	48.00	2.54 ± 0.22abc	0.29 ± 0.03a	0.98 ± 0.04a	5.30 ± 0.75c
8	0.00	—	—	—	—
9	0.00	—	—	—	—

注:同列数据后不同小写字母表示处理间差异达 0.05 显著水平,表 5 同。

因此,菊花适宜生根培养基为 MS(或 1/2MS) + NAA 0 ~ 0.05 mg/L + IBA 0 ~ 0.2 mg/L + IAA 0 ~ 0.1 mg/L + AC 0.1%,试验筛选出的处理 10 属于此范围。

3 讨论与结论

在有关菊花茎尖组织培养快繁技术的报道中:茎尖的灭菌方法是 0.1% HgCl₂(无或添加吐温)灭菌 1.5 ~ 8.0 min,适宜的初代培养基是 MS + 6-BA 1.0 ~ 2.0 mg/L + NAA 0.01 ~ 0.1 mg/L(或 IAA 1.0 mg/L),适宜的增殖继代培养基是 MS + 6-BA 1.0 ~ 5.0 mg/L + NAA 0.01 ~ 0.5 mg/L(或 IAA 0.8 mg/L),适宜的生根培养基是 1/2MS + NAA 0.1 ~ 0.2 mg/L(或 IAA 1.0 mg/L)^[5,7,9,18]。这些报道与本研究主要区别于:(1)正交设计是植物组织培养试验研究中一种重要的、常用的方法^[19],其应用于菊花组织培养试验研究中的报道较少^[20-21],本研究进一步采用正交、对比、附加等试验研究

方法,比较系统、全面、科学、准确地揭示出盆栽菊花茎尖组织培养快繁的规律。(2)本研究基于成株(芽)率、株(丛芽)高、节间距、茎粗、增殖系数、植物形态、生根率、叶片数、生根数、根长、根粗、根发生的部位、植株生长势等 13 个指标构成种苗的综合素质来试验分析培养基与种苗综合素质的关系,据此筛选出能育出优良综合素质菊花种苗的适合或最佳培养基,而已有的报道几乎没有涉及种苗综合素质。(3)本研究确定了 HgCl₂ 浓度及其灭菌时间与茎尖灭菌效果的定量关系(表 3),筛选出灭菌效果最佳的灭菌方法,而已有的报道却没有具体的灭菌效果。(4)本研究的初代培养是基于器官发生途经(芽诱导),而已有的报道大多为愈伤组织发生途经。(5)本研究筛选的增殖继代培养的 6-BA(0.5 ~ 2.0 mg/L)和 NAA(0.01 ~ 0.10 mg/L)较已有的报道(分别为 1.0 ~ 5.0、0.01 ~ 0.5 mg/L)偏低,这主要是由本研究基于茎段增殖和种苗综合素质来筛选培养基的,而已有的报道大多是先增

表 5 不同处理对盆栽菊花香草水晶生根培养中植株的生长量和生根量的影响

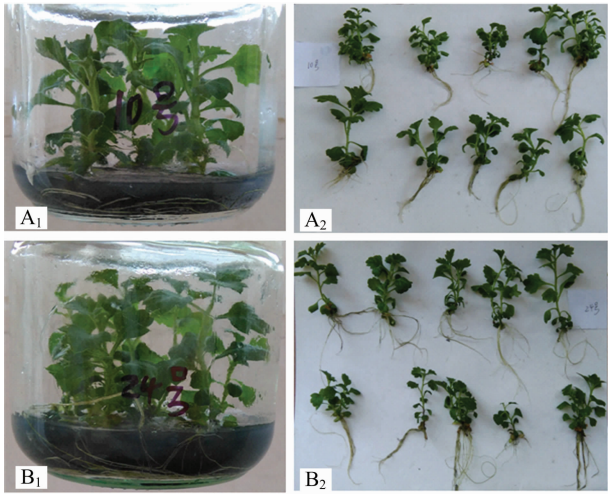
处理	成株率 (%)	生根率 (%)	株高 (cm)	茎粗 (mm)	叶片数 (张)	生根数 (条)	根长 (cm)	根粗 (mm)
1	91.11	100.00	4.82 ± 0.23ab	1.05 ± 0.06abcd	13.20 ± 0.66ab	4.90 ± 1.44bcde	2.63 ± 0.26efgh	0.14 ± 0.01e
2	64.44	100.00	4.44 ± 0.23abc	1.16 ± 0.04a	12.20 ± 0.74abc	4.50 ± 0.73bcde	2.42 ± 0.20efgh	0.29 ± 0.03bc
3	88.89	100.00	4.53 ± 0.28abc	1.19 ± 0.06a	13.90 ± 0.60a	6.60 ± 1.47abcd	1.64 ± 0.14h	0.31 ± 0.04b
4	68.89	100.00	2.98 ± 0.23cdefg	0.98 ± 0.05abcde	9.70 ± 0.67cdef	3.20 ± 0.47de	1.72 ± 0.18h	0.25 ± 0.03bcde
5	62.22	100.00	3.17 ± 0.39cdef	0.94 ± 0.07abcde	8.90 ± 0.67def	3.80 ± 0.57cde	1.99 ± 0.27gh	0.29 ± 0.04bc
6	31.11	100.00	2.68 ± 0.32defg	0.93 ± 0.06abcde	8.90 ± 0.75def	4.30 ± 1.13bcde	1.64 ± 0.29h	0.22 ± 0.03bcde
7	22.22	100.00	1.65 ± 0.13g	0.75 ± 0.04e	6.70 ± 0.54f	2.50 ± 0.34e	3.58 ± 0.35bcdef	0.20 ± 0.02bcde
8	20.00	100.00	1.58 ± 0.13g	0.86 ± 0.06bcde	6.78 ± 0.49f	2.56 ± 0.53e	2.91 ± 0.36cdefgh	0.23 ± 0.03bcde
9	37.78	100.00	2.16 ± 0.26fg	0.76 ± 0.05de	6.80 ± 0.66f	2.70 ± 0.15e	2.77 ± 0.28defgh	0.16 ± 0.01de
10	95.56	95.35	3.88 ± 0.35abcde	1.11 ± 0.05ab	10.10 ± 0.55cde	6.00 ± 0.37abcde	3.92 ± 0.21bcde	0.13 ± 0.02e
11	87.50	97.14	4.00 ± 0.58abcde	1.12 ± 0.07ab	10.00 ± 0.56cdef	8.20 ± 0.94a	4.73 ± 0.38b	0.16 ± 0.02de
12	91.11	87.80	3.27 ± 0.32abcdef	0.82 ± 0.06cde	10.00 ± 0.94cdef	2.90 ± 0.46de	1.90 ± 0.32gh	0.13 ± 0.01e
13	82.50	90.91	2.74 ± 0.32defg	0.77 ± 0.07de	7.80 ± 0.74ef	3.40 ± 0.58de	3.66 ± 0.43bcdef	0.16 ± 0.02de
14	53.33	95.83	2.72 ± 0.14defg	0.82 ± 0.05cde	8.40 ± 0.48def	3.10 ± 0.59de	3.35 ± 0.32bcdefg	0.13 ± 0.02e
15	68.89	87.10	2.51 ± 0.22efg	0.89 ± 0.08abcde	7.70 ± 0.54ef	4.00 ± 0.58cde	2.39 ± 0.34efgh	0.21 ± 0.03bcde
16	33.33	86.67	3.17 ± 0.31cdef	0.94 ± 0.05abcde	8.30 ± 0.37def	3.80 ± 0.59cde	2.39 ± 0.26efgh	0.19 ± 0.02bcde
17	48.89	90.91	3.46 ± 0.47abcdef	0.91 ± 0.04abcde	7.70 ± 0.58ef	3.30 ± 0.52de	4.17 ± 0.40bcd	0.21 ± 0.02bcde
18	46.67	100.00	4.04 ± 0.42abcde	1.00 ± 0.05abcde	8.70 ± 0.76def	4.30 ± 0.52bcde	3.96 ± 0.52bcde	0.18 ± 0.02cde
19	75.56	100.00	4.84 ± 0.46a	1.18 ± 0.08a	10.70 ± 0.94cde	4.00 ± 0.45cde	2.50 ± 0.27efgh	0.21 ± 0.02bcde
20	53.33	87.50	3.77 ± 0.44abcde	1.13 ± 0.06ab	9.80 ± 0.71cdef	7.30 ± 1.30abc	3.35 ± 0.40bcdefg	0.17 ± 0.02cde
21	20.00	100.00	3.20 ± 0.31bcdef	1.02 ± 0.07abcde	8.67 ± 0.75def	4.67 ± 0.44bcde	2.22 ± 0.24fgh	0.27 ± 0.02bcd
22	73.33	100.00	4.48 ± 0.47abc	1.14 ± 0.08ab	11.40 ± 1.01bcd	5.80 ± 0.59abcde	5.94 ± 0.53a	0.21 ± 0.03bcde
23	51.11	100.00	4.41 ± 0.30abc	1.10 ± 0.03abc	9.50 ± 0.50cdef	4.50 ± 0.58bcde	2.71 ± 0.23defgh	0.46 ± 0.03a
24	95.56	100.00	4.19 ± 0.33abcd	1.02 ± 0.07abcde	10.30 ± 0.67cde	7.60 ± 0.95ab	4.36 ± 0.41bc	0.20 ± 0.03bcde

表 6 不同处理对盆栽菊花香草水晶生根培养中植株的根发生和生长势的影响

处理	根的发生部位	生长势
1	基部(少量愈伤组织)	较好:健壮、深绿、笔直、整齐、无玻璃化、无黄化
2	基部(中度或大量愈伤组织)	较好:健壮、深绿、笔直、整齐、无玻璃化、无黄化
3	基部(无愈伤组织)或基部愈伤组织(中度或大量)	较好:健壮、深绿、笔直、整齐、无玻璃化、无黄化
4	基部(少量或中度愈伤组织)	一般:较健壮、笔直、无玻璃化、无黄化
5	基部(无愈伤组织)或基部愈伤组织(中度或大量)	一般:较健壮、笔直、无玻璃化、无黄化
6	基部(无愈伤组织)或基部愈伤组织(中度)	一般:较健壮、笔直、无玻璃化、叶片略黄
7	基部愈伤组织(中度或大量)	较差:柔弱、茎褐化、无黄化、略玻璃化
8	基部愈伤组织(中度或大量)	较差:柔弱、茎褐化、无黄化、略玻璃化
9	基部(无愈伤组织)或基部愈伤组织(中度)	较差:柔弱、茎褐化、无黄化、略玻璃化
10	基部(无愈伤组织)	较好:健壮、深绿、笔直、整齐、无玻璃化、无黄化
11	基部(无愈伤组织)	较好:健壮、深绿、笔直、整齐、无玻璃化、无黄化
12	基部(少许愈伤组织)	一般:较健壮、笔直、无玻璃化、无黄化
13	基部(无愈伤组织)	一般:较健壮、笔直、无玻璃化、12.50%的植株微黄
14	基部(无或少量愈伤组织)	一般:较健壮、笔直、无玻璃化、9.82%的植株微黄
15	基部(无或少量愈伤组织)	一般:较健壮、笔直、无玻璃化、10.05%的植株微黄
16	基部(无或少许愈伤组织)	较差:柔弱、无玻璃化、60.00%的植株偏黄
17	基部(无或少量愈伤组织)	较差:柔弱、无玻璃化、62.50%的植株偏黄
18	基部(无或少许愈伤组织)	较差:柔弱、无玻璃化、75.00%的植株偏黄
19	基部(无或少量愈伤组织)	较好:健壮、深绿、笔直、整齐、无玻璃化、无黄化
20	基部(无愈伤组织)	一般:较健壮、笔直、无玻璃化、无黄化
21	基部(无或中度愈伤组织)	一般:较健壮、笔直、无玻璃化、无黄化
22	基部(无或少许愈伤组织)	一般:较健壮、笔直、无玻璃化、无黄化
23	基部愈伤组织(大量)	较好:健壮、深绿、笔直、无玻璃化、无黄化
24	基部(无愈伤组织)	较好:健壮、深绿、笔直、整齐、无玻璃化、无黄化

殖扩繁愈伤组织,分化出芽后再进行芽的增殖。已有报道中的增殖阶段的基础培养基为 MS,本研究提出 1/2MS 也可以用作增殖阶段的基础培养基。有研究表明,当增殖阶段的基

础培养基由 MS 变为 1/2MS 时,会影响植物形态的发育分化,如生长势变弱,浅绿或黄化或偏黄等^[22-23],而本研究菊花的植物形态在同类情况下(由 MS 变为 1/2MS)的增殖分化未受



A₁、A₂、B₁、B₂—菊花生根试验的处理 10 和处理 24
图3 盆栽菊花香草水晶的最佳生根培养效果

表 7 不同因素对盆栽菊花香草水晶生根培养中 4 个主要指标的极差分析

因素	成株率(%)				生根率(%)				株高(cm)				茎粗(mm)			
	k ₁	k ₂	k ₃	R	k ₁	k ₂	k ₃	R	k ₁	k ₂	k ₃	R	k ₁	k ₂	k ₃	R
基础培养基	91.39	68.24	42.96	48.43	93.43	91.28	92.53	2.15	3.72	2.66	3.56	1.06	1.02	0.82	0.95	0.20
NAA	70.46	63.24	68.89	7.22	90.97	94.63	91.63	3.66	3.26	3.39	3.27	0.13	0.94	0.95	0.90	0.05
IBA	71.11	72.22	59.26	12.96	91.12	96.02	90.10	5.92	3.28	3.59	3.05	0.54	0.97	0.96	0.86	0.11
IAA	65.19	63.24	74.17	10.93	97.06	90.30	89.87	7.19	3.55	3.23	3.16	0.39	0.98	0.98	0.83	0.15

注:极差分析数据来源于盆栽菊花香草水晶生根培养试验处理 10~处理 18。

参考文献:

[1] 裴文达,李曙轩,姚毓謩. 菊花名贵品种组织培养快速繁殖的研究[J]. 浙江农业大学学报,1983,9(2):105-114.

[2] 丁世民,王泽宇,宋健云,等. 不同品种菊花组织培养比较研究[J]. 北方园艺,2011(23):101-104.

[3] 张 燕,王志勇. 菊花组织培养技术研究进展[J]. 廊坊师范学院学报(自然科学版),2015,15(4):80-85.

[4] 王丽华,王永清,陈文德,等. 菊花组织培养技术体系研究[J]. 安徽农业科学,2005,33(8):1416-1417.

[5] 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.

[6] 梁称福,易 诚,范 适,等. 菊花组培快繁技术研究[J]. 湖南环境生物职业技术学院学报,2006,12(3):242-244.

[7] 裴智能,孟远兰,吴光金. 菊花脱除花叶病毒组培技术研究[J]. 湖北林业科技,2006(5):11-14.

[8] 陈喜林,陈晓彬,陈琦磊. 菊花组培快繁技术在实际生产中的应用[J]. 福建热作科技,2009,34(4):28-29.

[9] 刘 鹏,刘 金,赵艳红,等. 菊花的组织培养、脱毒与快繁技术研究[J]. 内蒙古民族大学学报(自然科学版),2005,20(4):410-413.

[10] 杨鸿祚,陈少琼,梁木桂. 菊花组织培养的研究[J]. 热带作物研究,1989(2):52-54.

[11] 刘兴玉,蒲 红. 菊花花瓣的组织培养[J]. 西南农业大学学报,1990,12(2):203-206.

[12] 李名扬,陈 薇. 菊花花瓣愈伤组织原生质体培养再生植株

到明显影响(表 1、图 2),说明菊花比较容易分化,其增殖分化阶段的正常生长发育对营养物质需求量的范围较宽。(6) 已有报道中的生根培养基(对应本研究的生根培养试验处理 21)虽能使菊花生根和生长,但菊花根系的基本部附有中度愈伤组织(表 2、表 6),本研究从 24 个处理中筛选出了生根培养效果更佳的培养基:植株根系基部无愈伤组织,生长健壮、深绿、笔直、整齐、无玻璃化、无黄化(表 6、图 3)。当生根阶段的基础培养基由 MS 变为 1/2MS、1/4MS 时,菊花植株的生长势会随之递减变弱(表 2、表 6),这与其他作物生根培养上的同类表现情况相似^[22],说明基础培养基对盆栽菊花的生根培养影响较大。本研究表明活性炭总体可以减少生根培养植株基部的愈伤组织,促进盆栽菊花的生根和生长,如处理 23 和 24(表 2、表 6),这与其他作物生根培养上所述的观点^[23-24]相一致,说明活性炭是盆栽菊花生根培养基的必需成分。笔者研究提出了盆栽菊花生根适合培养基的选取范围,为其他类型菊花(切花型菊花、造型菊花等)生根培养基的筛选提供重要参考。

[J]. 农业生物技术学报,1996,4(3):243-248.

[13] 李 平,李庆伟,贺爱莉,等. 菊花花瓣的组织培养技术研究[J]. 北方园艺,2009(9):68-70.

[14] 建德锋,赵文若,赵海锋,等. 菊花组织培养技术研究[J]. 北方园艺,2007(9):200-201.

[15] 林青萍,陈雄庭. 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.

[16] 袁成志,李 波,杨蔚然. 菊花组织培养技术研究[J]. 北方园艺,2010(16):154-156.

[17] 汪晓沙,曾 丽,彭勇政,等. 不同菊花品种的组培扩繁技术[J]. 上海交通大学学报(农业科学版),2013,31(2):19-23,29.

[18] 龚明霞,陈小凤,方锋学,等. 菊花离体快繁技术研究[J]. 北方园艺,2010(1):172-173.

[19] 张军云,杨向红,李 恒,等. 正交设计在彩色马蹄莲组织培养中的应用[J]. 中国农学通报,2010,26(15):71-74.

[20] 齐向英,郑 丹,张 超,等. 菊花组织培养研究[J]. 江苏农业科学,2009(5):63-64.

[21] 邱 璐,范树国,文正山,等. 正交试验优化菊花组织培养条件[J]. 江苏农业科学,2009(1):52-54.

[22] 李晓亮,张军云,张 钟,等. 草莓茎尖组织培养和快繁体系的建立[J]. 作物杂志,2016(4):68-74.

[23] 李晓亮,张军云,张 钟,等. 切花玫瑰红唇的组织培养快繁技术研究[J]. 作物杂志,2016(6):58-66.

[24] 李晓亮,张军云,张 钟,等. 滇红食用玫瑰生根培养基的试验筛选研究[J]. 西南农业学报,2017,30(3):656-663.