

# 非洲菊试管苗叶片的组培快繁

徐士清 杨世湖\* 倪 丹 万建民

(南京农业大学作物遗传与种质创新国家重点实验室, 江苏省植物基因工程研究中心, 南京 210095)

**摘 要:** 用非洲菊试管苗叶片作外植体获得了有再分化能力的愈伤组织和正常的再生植株。在适宜培养基上叶片切块的出愈率和出芽率最高可达 96 % 和 90 %; 小苗 4 周增殖倍数为 10.85, 生根率 99 %, 最快 4 周就能从叶片切块成苗。试管苗叶片快繁最适培养基为: 起始 MS + 6-BA 3.0 mg L<sup>-1</sup> + NAA 0.1 mg L<sup>-1</sup>; 增殖 MS + 6-BA 3.0 mg L<sup>-1</sup> + NAA 0.2 mg L<sup>-1</sup>; 生根 1/2 MS + IAA 1.0 mg L<sup>-1</sup>。用作外植体的试管苗以 3~4 叶期为佳, 叶片切块以 4 mm × 4 mm 为宜。

**关键词:** 非洲菊; 叶片; 组织培养; 快速繁殖

**中图分类号:** S 68      **文献标识码:** A      **文章编号:** 0513-353X (2002) 05-0493-02

## 1 目的、材料与方法

非洲菊 (*Gerbera jamesonii* Bolus) 分株繁殖系数低, 当前主要用花托<sup>[1~3]</sup>或幼芽<sup>[4]</sup>组培快繁。作者研究了试管苗叶片的组培快繁技术, 以期为其种苗生产和育种研究提供另一快速和可行的技术途径。原初种苗为上海花卉公司商品苗, 定植于灌南县生产田。试管苗系经花托离体培养获得。本研究主要采用红色花瓣、黄色花芯品系的 3 叶 1 心无根试管苗的叶片和叶柄切块, 每处理 10 块, 重复 5 次以上, 每 4 周转移 1 次。基本培养为含蔗糖 3 % 的 MS, 用白砂糖、自来水和琼脂条配制, pH 5.8。培养室温度 25~28 ℃, 光照 12 h, 光照强度 1 850 lx。

## 2 结果与分析

### 2.1 试管苗叶片离体培养

结果表明, 非洲菊试管苗叶组织的出愈率与田间苗基本一致, 也是随激素浓度的提高而增加。但是, 试管苗叶片及叶柄诱导出的愈伤组织的形态与田间苗叶片愈伤完全不同, 而与花托愈伤形态类似。试管苗叶切块培养物在 6-BA 浓度为 10 mg L<sup>-1</sup>的培养基上没有出现芽的再分化, 而在 6-BA 浓度不大于 6 mg L<sup>-1</sup>的培养基上能分化出芽。经多次重复试验证明 (表 1), 加入 6-BA 3.0 mg L<sup>-1</sup> + NAA 0.1 mg L<sup>-1</sup> 时试管苗叶片和叶柄培养的出愈率和出芽率最高, 加入 KT 的培养基效果不如上述培养基。从叶片再生的芽或小苗与直接来自花托愈伤的芽或苗在形态上没有肉眼可见的区别。

值得注意的是, 在 4 周时, 常有 40 % ~ 50 % 的试管苗叶切段就已出芽。叶柄切段的切口处,

表 1 试管苗叶片在不同激素培养基上的培养效果

Table 1 In vitro culture response of in vitro plantlet leaf and petiole on media with different concentrations of phytohormones

6-BA (mg · L <sup>-1</sup> )	NAA (mg · L <sup>-1</sup> )	KT (mg · L <sup>-1</sup> )	叶片块数 (No. of leaf disk)	4 周出愈数 (No. of CHLD)	8 周出芽 愈伤数 (No. of SFC)	8 周出芽率 Rate of SFC (%)
1.5	0.1	0	50	36	20	40
2.0	0.1	0	50	41	25	50
3.0	0.1	0	50	50	45	90
3.0	0.2	0	50	48	45	90
6.0	0.1	0	50	47	30	60
10.0	0.1	0	50	50	0	0
2.0	0.1	2.0	50	38	24	48

\* 培养基为 1/2 MS 培养基, 蔗糖 15 g L<sup>-1</sup>。

\* Basic medium was 1/2 MS with sucrose 15 g L<sup>-1</sup>; CHLD: Callus formation leaf disk in 4 weeks; SFC: Shoot formation callus in 8 weeks.

收稿日期: 2001 - 12 - 10; 修回日期: 2002 - 07 - 04

\* 通讯作者; E-mail: rice@mail.njau.edu.cn; 电话和传真: 025-4396516。

尤其是叶柄基部的切口处常能不经愈伤阶段就很快长出芽丛，但接种前在解剖镜下观察这些部位并未发现有芽的形态，这很可能是试管苗细胞的分化尚未全部完成，原来分化状态较易解除，切口处具有形成腋芽的潜能，在诱芽激素的作用下直接形成了芽丛。

## 2.2 增殖和生根培养

试验结果表明，试管苗叶片再生小苗的增殖以 MS + 6-BA 3 mg L<sup>-1</sup> + NAA 0.2 mg L<sup>-1</sup> 最佳，4 周增殖倍数为 10.85 (表 2)，苗多苗壮并易于分株操作。生根培养试验结果与本实验室以花托为外植体所得苗的生根试验结果一致，以含 IAA 1 mg L<sup>-1</sup> 的 1/2 MS 培养基效果最好，每苗根数、根平均长度和生根苗率分别为 (7.3 ± 0.28)、(3.06 ± 0.05) cm 和 99 %。在出瓶后的苗期，叶片植株与花托植株在形态和生长上均无肉眼可见的差别。

以试管苗叶片作快繁材料，取材不受时间限制，无需表面灭菌，繁殖效率也比常规快繁高 (实验照片见插页 2)。以最理想的结果来做理论推算，直接从花托开始，1 个花托切 4 块，第 1 个月通常只有愈伤，第 2 个月每块得小苗 5 ~ 10 株，每蕾可得苗 40 株左右。事实上，因污染和不当剥离操作，接种的花托切块不可能每块都成苗。以试管苗进行常规增殖，按 10 倍增殖系数计算，1 个单苗 2 个月能繁苗 100 株左右。而 1 株 3 叶 1 心的试管苗至少可切成 9 块，40 % ~ 50 % 的切块在 1 月内可得小苗 3 ~ 5 株，按 10 倍增殖系数计算，第 2 个月就可得 225 株苗左右，加上第 1 月未出苗的叶切块愈伤在第 2 个月的出苗，2 个月后总的苗数应超过 225 株。

瘦弱的试管苗叶组织快繁效果优于健壮的田间苗叶组织，可能与其分化程度有关。田间苗叶片，即便是未展开的、包在生长点上的幼叶，也长满了绒毛状的各种叶表面附器，可见其细胞都已完成了形态和功能的分化，现行的组织培养技术较难使其实现植株再分化。非洲菊试管苗不仅大大小于正常田间苗，叶表也光滑无毛，在形态分化上尚未进行到底，具有与分生组织类似的再分化能力。

## 参考文献：

- 1 黄济明, 倪跃元, 林满红. 非洲菊的快速繁殖. 园艺学报, 1987, 14 (2): 125 ~ 128
- 2 鲁雪华, 郭文杰, 林 勇. 几种因素对非洲菊离体培养再生植株的影响. 植物生理学通讯, 1999, 35 (5): 372 ~ 374
- 3 徐 立, 李克烈, 李志英, 等. 非洲菊组织培养和快速繁殖. 热带农业科学, 2000, (4): 26 ~ 27
- 4 黄衡宁, 李 鹂, 杨胜辉. 非洲菊组织培养. 吉首大学学报, 2001, 22 (1): 4 ~ 6

## In Vitro Micropropagation of Gerbera Leaf

Xu Shiqing, Yang Shihu\*, Ni Dan, and Wan Jianmin

(National Key Laboratory for Crop Genetics and Germplasm Enhancement, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

**Abstract:** Regenerable calli and plantlets were obtained from leaf and petiole segments of *Gerbera* in vitro plantlets and those regenerated plantlets were morphologically normal. The rate of callus formation and rate of shoot formation on optimum medium were as high as 96 % and 90 % separately. Four weeks' in vitro multiple times for those plantlets was 10.85 while root formation rate was 99 % during root inducing. The earliest plantlets could be obtained in 4 weeks. Optimal media for micropropagation after optimization experiments were MS + 6-BA 3.0 mg L<sup>-1</sup> + NAA 0.1 mg L<sup>-1</sup> for induction; MS + 6-BA 3.0 mg L<sup>-1</sup> + NAA 0.2 mg L<sup>-1</sup> for multiplication of plantlets; 1/2 MS + IAA 1.0 mg L<sup>-1</sup> for root formation. In vitro plantlets used for explants was at the stage with 3 - 4 leaves and suitable size of cut leaf segments was about 4 mm × 4 mm.

**Key words:** *Gerbera*; Leaf; Tissue culture; Micropropagation

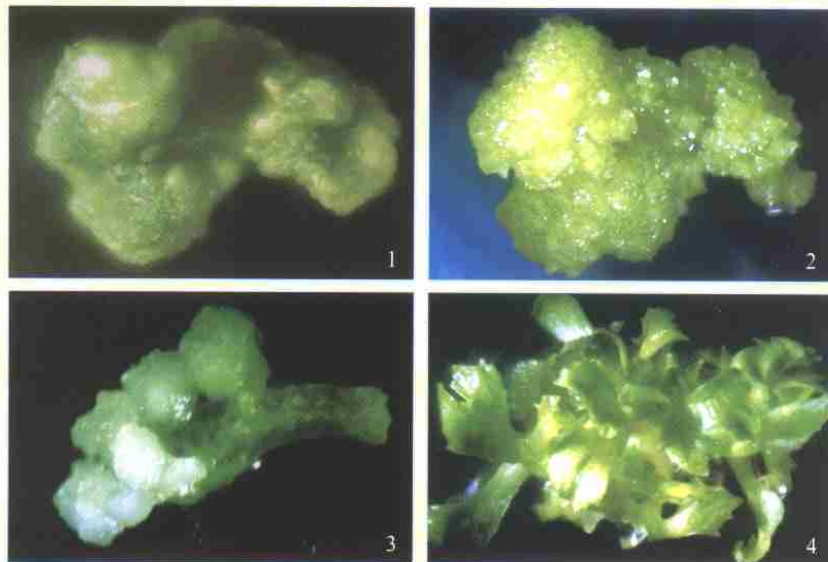
\*Author for correspondence; E-mail: rice@mail.njau.edu.cn; Tel & Fax: 86-25-4396516

表 2 叶片再生小苗在不同激素培养基上的增殖

6-BA (mg L <sup>-1</sup> )	KT (mg L <sup>-1</sup> )	NAA (mg L <sup>-1</sup> )	接种苗数 (No. of inoculated plantlets)	4 周后苗数 (No. of plantlets after 4 weeks)	增殖倍数 (Proliferation times)
2.0	0	0.1	60	363	6.50 ± 0.69
3.0	0	0.1	60	525	8.15 ± 0.95
3.0	0	0.2	60	651	10.85 ± 0.98
2.0	2.0	0.1	60	273	4.55 ± 0.70
0	2.0	0.1	60	183	3.05 ± 0.50
0	3.0	0.1	60	225	3.75 ± 0.31
0	10.0	0.1	60	252	4.20 ± 0.48

徐士清等：非洲菊试管苗叶片的组培快繁

Xu Shiqing, et al. In Vitro Micropropagation of *Gerbera* Leaf



图版说明：1. 试管苗叶片愈伤（2周）；2. 试管苗叶片愈伤（4周）；3. 试管苗叶柄愈伤（2周）；4. 试管苗叶片愈伤再生的小苗丛。  
Explanation of plates: 1. Callus induced from leaf of *Gerbera* in vitro plantlet in 2 weeks; 2. Callus induced from leaf of *Gerbera* in vitro plantlet in 4 weeks; 3. Callus induced from petiole of *Gerbera* in vitro plantlet in 2 weeks; 4. Plantlets regenerated from leaf callus of *Gerbera* in vitro plantlet.

姜长阳等：愈伤组织辐射诱变选育玉兰新品系

Jiang Changyang, et al. Selective Breeding of a New Breed of *Magnolia denudata* from Radiation-induced Mutation of Callus



图版说明：A. 嵌合体植株（左：突变部分，右：正常未突变部分）；B. 嵌合体落叶前的表现（左：突变部分，右：正常未突变部分）；C. 嵌合体突变部分二次开花。

Explanation of plates: A. Chimaera plant (Left: mutation part; Right: normal part); B. Growth condition of the chimaera before leaves falling (Left: mutation part; Right: normal part); C. Blooming of the mutation part of the chimaera for the second time.