

ZT 对地被菊品种——醉西施试管苗的影响

孙婧靓,孙胜香,刘强强,邹 侠,姜长阳

(辽宁师范大学 生命科学学院,辽宁 大连 116081)

摘要:为解决醉西施在观赏栽培中植株较高、花朵较少的问题,以具有生长点的嫩茎为材料,应用植物组织培养方法,对试管苗进行了在培养基中加入 ZT 0.8 mg·L⁻¹ 和向已经栽培 3 年的试管苗上喷洒 ZT 1.0 mg·L⁻¹ 两种不同处理对醉西施试管苗的影响试验。结果表明:1/2MS+蔗糖 10 g·L⁻¹+IAA 0.2 mg·L⁻¹ 是嫩茎段生根培养和试管苗茎段生根继代培养的理想培养基;1/2MS+蔗糖 10 g·L⁻¹+IAA 0.2 mg·L⁻¹+ZT 0.4 mg·L⁻¹ 是培养植株较矮、花朵多的醉西施试管苗的较理想培养基;向生长旺盛的试管苗喷洒 ZT 1.0 mg·L⁻¹ 会使试管苗出现植株较矮、花朵多的性状;试管苗移栽成活率为 98% 以上,移植成活率为 100%;移植的试管苗形成了植株矮小、花朵数多、观赏效果好的性状。

关键词:地被菊;组织培养;试管苗

中图分类号:S688.4

文献标识码:A

文章编号:1002-2767(2013)06-0008-03

地被菊 (*Chrysanthemum morifolium* Ramat), 又称千头菊, 属于菊科菊属多年生陆地栽培的一个品种群, 而醉西施是该品种群中的一个常见品种。一般作为广场、绿地和花坛的观赏栽培。醉西施具有植株较低矮、花朵粉色且较多、株型紧凑、抗逆性等特点。近年来, 大连地区对醉西施进行花坛成片栽培, 不仅能正常越冬, 而且每年 9 月上旬到 11 月中下旬, 花坛上一片粉红, 极为壮观美丽, 观赏绿化效果较好。但是, 由于这一品种特性和大连地区夏秋季气温较高和雨水丰富等环境条件的影响, 其在大连地区栽培的醉西施产生了株高较高 (40 cm 以上)、单株花朵数减少等问题, 从而对其观赏效果产生了不良影响。目前已有地被菊组织培养与试管苗培养研究的报道^[1-2], 但鲜有细胞分裂素——ZT (玉米素) 对醉西施试管苗生根及栽培的影响研究的报道。为此, 进行了该方面研究, 以解决栽培生产中出现的植株高、花朵少的问题。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 材料来源及处理 2007 年 6 月上旬将在大连市红旗街道花坛上生长旺盛的醉西施顶尖打掉, 继续生长 5 d 后, 向植株上喷洒浓度为 10 mg·L⁻¹

的庆大霉素后, 用塑料代罩住, 处理 24 h 后, 将具有生长点的嫩茎采回实验室作为试验材料。

1.1.2 材料灭菌及培养条件 将采集的嫩茎马上带回实验室后, 剪掉叶片, 再剪成具有 2 个生长点的茎段后, 立刻放到 250 mL 磨口广口瓶中, 加入无菌水后摇晃洗涤 3 次, 接着转移至超净工作台上, 先用 70%~75% 乙醇灭菌 5~10 s 后, 立刻用无菌水摇晃洗涤 2 次, 接着用饱和的次氯酸钠溶液灭菌 11 min, 最后用无菌水摇晃清洗 6 次, 即可获得无菌嫩茎段。用镊子将无菌嫩茎段从广口瓶中取出来, 用锋利的手术刀将无菌嫩茎段的两端切口切掉, 即可获得待用的培养材料。培养条件参见白花紫露草的培养^[3]。

1.2 方法

1.2.1 嫩茎段生根培养 在无菌的条件下, 将具有 2 个生长点的嫩茎段接种在以 1/2MS+蔗糖 10 g·L⁻¹ 为基本培养基, 附加浓度分别为 0.1, 0.2, 0.4 和 0.8 mg·L⁻¹ 的 NAA、IBA、IAA 和 2,4-D 的培养基上, 进行嫩茎段的生根培养试验。重复 2 次, 每种培养基使用 100 个嫩茎段。培养 35 d 后, 不仅对试管苗的生长状态进行仔细观察, 而且对生根率进行统计。

1.2.2 不同浓度的 KT、ZT 和 6-BA 对试管苗茎段生根培养的影响 把生根继代培养的试管苗切成长 1.5~2.0 cm、至少具有 2 个生长点的茎段后, 接种到以 1/2MS+蔗糖 10 g·L⁻¹+IAA 0.2 mg·L⁻¹ 为基本培养基, 附加浓度分别为 0, 0.2, 0.4 和 0.8 mg·L⁻¹ 的 KT、ZT 和 6-BA 的培养基上, 进行不同浓度的细胞分裂素对试管苗嫩茎段的生根培养影响试验。重复 2 次, 每种培养基接

收稿日期:2013-01-29

基金项目:辽宁省大学生创新创业训练资助项目(2013 03015011);辽宁省普通高等教育本科教学改革研究资助项目(201203041-4)

第一作者简介:孙婧靓(1992-),女,辽宁省大连市人,在读学士,从事植物组织培养研究。

通讯作者:姜长阳(1953-),男,辽宁省大连市人,学士,教授,从事植物技术研究。E-mail:changyangjiang@126.com。

种 100 个茎段。培养 30 d 后,对试管苗生根率、每株分枝数、平均株高和长势等进行统计观察。

1.2.3 试管苗的移栽和移植 2008 年 3 月,把在 1/2MS+蔗糖 10 g·L⁻¹+IAA 0.2 mg·L⁻¹培养基上生根继代培养的 300 株试管苗(以下简称为对照组)和在 1/2MS+蔗糖 10 g·L⁻¹+IAA 0.2 mg·L⁻¹+ZT 0.4 mg·L⁻¹培养基上生根继代培养的 300 株试管苗(以下简称为试验组),于 3 月下旬分 2 次移栽到温室中装有由河沙与肥沃园土各半混合土的营养钵中,每个营养钵中移栽 2 株,各移栽 150 个营养钵。

把 2 种移栽成活的试管苗于 5 月中旬连片移植到花坛上,移栽 40 d 后对成活率和株高进行测定。

2009 年秋季继续对越冬对照苗和试验苗的高度、开花时间和花朵数进行观察。

2010 年春季,在对越冬的对照苗和试验苗进行观察的基础上,于 6 月份对生长旺盛的对照苗与试验苗使用浓度为 1.0 mg·L⁻¹ZT 溶液在 7 d 内对试验苗进行 2 次全面喷洒处理。

2 结果与分析

2.1 不同浓度的 NAA、IBA、IAA 和 2,4-D 对嫩茎段生根培养的影响

试验结果表明,在附加不同浓度的 NAA、IBA 和 2,4-D 的培养基上生根效果都较差;而在附加不同浓度的 IAA 培养基上生根效果较好,其中,在 1/2MS+蔗糖 10 g·L⁻¹+IAA 0.2 mg·L⁻¹培养基上培养嫩茎段的生根率为 100%,并且试管苗粗壮,外观上生长旺盛。把由嫩茎段直接生根培养的试管苗切成长 1.5~2.0 cm 的茎段后,

接种到相同的培养基上进行生根继代培养,每次重复试验继代培养 4 代,每代培养 400 个试管苗茎段的结果证明,在这种培养基上进行生根继代培养,不仅生根率为 100%、试管苗粗壮、生长旺盛,而且继代培养的周期缩短为 30 d。这说明 1/2MS+蔗糖 10 g·L⁻¹+IAA 0.2 mg·L⁻¹培养基是醉西施嫩茎段生根培养和试管苗茎段生根继代培养的理想培养基。

2.2 不同浓度的 KT、ZT 和 6-BA 对试管苗茎段生根培养的影响

由表 1 可知,在附加不同浓度 KT、ZT 和 6-BA 的培养基上,除了在附加浓度为 0.8 mg·L⁻¹ 6-BA 的培养基上培养的试管苗几乎都死亡外,在其它培养基上都能生根生长为试管苗。从 3 种细胞分裂素看,附加 ZT 培养基的培养效果好于附加 KT 和 6-BA 的培养基;在附加 3 种浓度 ZT 的培养基上,虽然附加浓度为 0.2 和 0.4 mg·L⁻¹ 两种培养基试管苗的生根率都是 100%,但是,在附加浓度为 0.4 mg·L⁻¹ 这一培养基上试管苗分枝数较多、植株高度较矮。这种性状符合研究的目的。每次重复试验都在这种培养基上继代培养 5 代,均获得了相同的试验结果。据此证明,尽管在附加浓度为 0.4 mg·L⁻¹ ZT 培养基上试管苗的长势不及在对照培养基 1/2MS+蔗糖 10 g·L⁻¹+IAA 0.2 mg·L⁻¹ 培养基上的长势,但附加浓度为 0.4 mg·L⁻¹ ZT,即 1/2MS+蔗糖 10 g·L⁻¹+IAA 0.2 mg·L⁻¹+ZT 0.4 mg·L⁻¹ 培养基是培养植株较矮、分枝较多醉西施试管苗的较理想培养基。

表 1 不同浓度细胞分裂素对生长芽分化培养的影响

Table 1 The effect of different concentrations of cytokinins on tube seedlings' differentiation

| 基本培养基 Minimal medium | KT | ZT | 6-BA | 生根率/% Rooting rate | 平均分枝个数/株 Average branches | 平均株高/cm Average plant height | 试管苗长势 Growth in vitro |
|--|-----|-----|------|-----------------------|------------------------------|---------------------------------|--------------------------|
| 1/2MS+蔗糖 1 g·L ⁻¹ +IAA 0.2 mg·L ⁻¹ | 0 | 0 | 0 | 100 | 1.3 | 3.9 | +++ |
| 1/2MS+蔗糖 1 g·L ⁻¹ +IAA 0.2 mg·L ⁻¹ | 0.2 | 0 | 0 | 60.5 | 2.3 | 3.1 | ++ |
| 1/2MS+蔗糖 1 g·L ⁻¹ +IAA 0.2 mg·L ⁻¹ | 0.4 | 0 | 0 | 44.0 | 3.1 | 2.6 | + |
| 1/2MS+蔗糖 1 g·L ⁻¹ +IAA 0.2 mg·L ⁻¹ | 0.8 | 0 | 0 | 18.5 | 3.0 | 1.9 | + |
| 1/2MS+蔗糖 1 g·L ⁻¹ +IAA 0.2 mg·L ⁻¹ | 0 | 0.2 | 0 | 100 | 2.2 | 3.3 | ++ |
| 1/2MS+蔗糖 1 g·L ⁻¹ +IAA 0.2 mg·L ⁻¹ | 0 | 0.4 | 0 | 100 | 5.4 | 2.5 | ++ |
| 1/2MS+蔗糖 1 g·L ⁻¹ +IAA 0.2 mg·L ⁻¹ | 0 | 0.8 | 0 | 73.0 | 6.1 | 2.3 | + |
| 1/2MS+蔗糖 1 g·L ⁻¹ +IAA 0.2 mg·L ⁻¹ | 0 | 0 | 0.2 | 67.0 | 3.1 | 2.3 | ++ |
| 1/2MS+蔗糖 1 g·L ⁻¹ +IAA 0.2 mg·L ⁻¹ | 0 | 0 | 0.4 | 43.0 | 2.5 | 1.9 | + |
| 1/2MS+蔗糖 1 g·L ⁻¹ +IAA 0.2 mg·L ⁻¹ | 0 | 0 | 0.8 | 0 | 0 | 0 | — |

注:—不生长;+长势一般;++长势较好;+++长势旺盛。

Note:— no growth;+ general growth;++ better growth;+++ vigorous growth.

2.3 试管苗移栽和移植效果

移栽后 30 d 统计,对照组成活 296 株,试验

组成活 298 株。2 种试管苗都极易移栽成活,若没有人为不利情况的影响,成活率为 98% 以上。

移植后 40 d 统计观察结果表明,2 种试管苗均全部成活,移植成活率为 100%,但试验组的试管苗高度比对照组矮约 1/3,而每株试验组试管苗的分枝比对照组多 13.6 个。2008 年秋季,对 2 种试管苗的开花情况进行了统计。结果表明:对照组的初始开花时间(以 10%的植株开始开花为准)比试验组延迟 6 d、每株花朵的数量少 16.8 朵、盛花时花朵直径大 0.8 cm;从植株平均高度看,试验组为 31.6 cm,对照组为 42.2 cm,试验组比对照组矮 10.6 cm。成片移植的试管苗,花期时试验组的观赏效果好于对照组。说明使用浓度为 $0.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ZT 的培养基对试管苗进行处理,移栽第一年,能获得花期提前(醉西施的花朵是被冻死的,无法对花朵的凋零时间进行观察)、花朵多、植株矮、花坛栽培观赏效果好的醉西施试管苗。

2009 年的观察表明,对照苗植株高 4.2 cm,花朵数少 7.6 朵,开花时间延迟 3 d。这说明使用浓度为 $0.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ZT 的培养基对试管苗进行处理,移栽第二年,虽然仍能获得花期较长、花朵较多、植株较矮、花坛栽培观赏较好的醉西施试管苗,但其观赏效果远不如第一年。

2010 年春季至 6 月份时,在对照苗与试验苗都生长旺盛,且在外观上无法进行鉴别的状态下,在 7 d 内连续使用浓度为 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ZT 溶液对试验苗进行 2 次全面喷洒处理,试验组的试管苗明显出现生长缓慢、分枝多的性状。秋季仍形成了试验苗花期长、花朵多、植株矮、观赏效果好的性状。但总体观赏效果不及移栽的第一年,好于第二年。这说明,使用浓度为 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ZT 溶液对已经丧失花期长、花朵多、植株矮、观赏效果好的试验苗进行喷洒处理,会使试验苗观赏效果好的性状重新出现。

2009 年,从 $1/2\text{MS} + \text{蔗糖 } 10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} + \text{IAA } 0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 为培养基对试管苗茎段生根继代培养阶段开始,又用 ZT 对醉西施试管苗生根及栽培

的影响进行了一次全面重复试验,其结果与首次试验一致。

3 结论与讨论

在该研究中,明显出现了对照组试管苗植株高大、花期延迟的现象,目前已有这种现象的报道^[4-5]。之所以会产生这种现象,是由于在对照组试管苗培养的培养基中只加入了浓度为 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 IAA。在培养基中加入了 IAA 这种天然生长素^[6]后,试管苗的体内 IAA 的含量增加。移栽成活后的试管苗体内仍然含较高浓度的 IAA,从而促进了试管苗的营养生长,抑制了生殖生长,导致产生花期延后的现象。而在试验组试管苗培养的培养基中,还加入了浓度为 $0.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ZT 这种人工合成的细胞分裂素。细胞分裂素对生长素 IAA 的生长促进作用具有拮抗性^[7],从而使试验组的试管苗出现了开花时间比对照组试管苗提前的现象。

在该研究中,不论是在试管苗培养的培养基中使用了浓度为 $0.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ZT,还是对已经栽培了 3 年的试管苗喷洒浓度为 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ZT 溶液,都会使醉西施试管苗出现植株矮、分枝多、花朵多和花期提前的性状。迄今为止,未见在植物试管苗培养和田间生长中有相关研究的报道。

参考文献:

- [1] 蒋凡,蒋细旺.地被菊快速繁殖的培养基研究[J].广东园林,2010(5):71-72.
- [2] 张瑞麟,范敏.地被菊的组织培养与快速繁殖[J].植物生理学通讯,2001,37(6):531.
- [3] 陈宝鑫,王晓旭,张倩怡,等.白花紫露草的组织培养与植株再生体系的建立[J].北方园艺,2009(6):84-86.
- [4] 朱军,张宇实,郭立春,等.ZT、IAA 对梅花试管苗增殖与生长的影响[J].江苏林业科技,2004,31(2):18-19.
- [5] 于冲,张蕾,李妮娜,等.费菜无性系建立的研究[J].吉林农业科技,2010,35(4):22-25,42.
- [6] 潘瑞炽.植物生理学[M].北京:高等教育出版社,2008:172-176.
- [7] 王忠.植物生理学[M].北京:中国农业出版社,2004:283-284.

Effect of ZT on the Growth of *Chrysanthemum morifolium* Ramat in vitro

SUN Jing-liang, SUN Sheng-xiang, LIU Qiang-qiang, ZOU Xia, JIANG Chang-yang
(Life Science College of Liaoning Normal University, Dalian, Liaoning 116081)

Abstract: In order to solve the problem that the plants are higher and flowers are less in ornamental cultivation, using tissue culture technique, the tender stems with growing points of *Chrysanthemum morifolium* Ramat were used as materials to do the research. Treat the tube seedlings separately by adding ZT $0.8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ to medium and spraying ZT $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ to tube seedlings which have been cultivated for three years, and then observe the different influences. The results demonstrated that $1/2\text{MS} + \text{sucrose } 10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} + \text{IAA } 0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ was the ideal medium for rooting and rooting subculture of tube seedlings. The best medium for cultivating shorter plants and more flowers was $1/2\text{MS} + \text{sucrose } 10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} + \text{IAA } 0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{ZT } 0.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. Spraying ZT $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ to the tube seedlings which grew vigorously could lead to the shorter plants and more flowers. The transplanting survival rate of tube seedlings was more than 98% and the stable planting survival rate was 100%. Colonization of plantlets maintained the traits that the shorter plant height were, much more flowers and better ornament.

Key words: *Chrysanthemum morifolium* Ramat; tissue culture; tube seedlings