维普资讯 http://www.cqvip.com

转 *CHS* 基因非洲菊的组培快繁

李世成

（福建省厦门养生堂生物技术有限公司 361005）

摘 要：以转 *CHS* 基因非洲菊株系的茎尖、茎段和叶柄为外植体，分别比较了3种外植体形成愈伤组织的能力，并对茎尖诱导培养基、增殖培养基、生根培养基以及无土基质进行初步筛选，结果表明：形成愈伤组织能力以茎尖最好，茎段次之，叶柄最差；茎尖最佳诱导培养基为 MS + BA 1.0 mg/L + IAA 1.0 mg/L，增殖培养基为 MS + BA 2.0 mg/L + IAA 1.0 mg/L 或 MS + Kt 3.0mg/L + IAA 0.05mg/L，生根培养基为 MS + NAA 0.3 mg/L + IBA 0.3 mg/L，无土基质及配比为珍珠岩：腐熟谷壳 = 1∶2。

关键词：转基因；非洲菊；*CHS* 基因；组织培养

非洲菊系菊科扶郎花属，多年生草本植物。其花色丰富、姿态各异、装饰性强。非洲菊耐长途运输，切花供养期长，多作为切花使用。近年来，随着现代基因工程技术在植物品种改良中的广泛应用，北京大学生命科学学院利用农杆菌介导的遗传转化方法，获得了不同花色的非洲菊新品种——转查尔酮合酶（CHS）基因非洲菊，并由北大之路公司开展了中试实验研究。采用组织培养法对具有优良品种特性的转 *CHS* 基因非洲菊进行快速繁殖，生产出大量整齐均匀的健壮种苗，建立一个高效率的植株再生系统，对转 *CHS* 基因非洲菊的保存和优良品种的推广具有重要意义。为此，本研究对转 *CHS* 基因非洲菊的诱导培养基、增殖培养基、生根培养基以及无土基质进行筛选，并对组培苗的驯化移栽做了初步试验，旨在为转 *CHS* 基因非洲菊的工业化生产提供技术基础。

1 材料与方法

1.1 材料 选用北京大学生命科学学院开发的转 *CHS* 基因非洲菊株系（无菌苗），取其茎尖、茎段和叶柄为外植体。

1.2 方法

1.2.1 *外植体的采集* 在超净台上取1株无菌的转 *CHS* 基因非洲菊组培株系，放在无菌培养皿上，取其茎尖接种于诱导培养基上；然后取其茎段和叶柄，切成小块，分别接种于诱导培养基上。

1.2.2 *诱导培养基的选择* 将准备好的不同组织材料分别接种于5种诱导培养基上，在温度25～27℃、光照时间16 h/d、光强1500 lx 的培养箱内培养25 d后，调查其出愈率，并比较生长量情况。5种诱导培养基为：①MS + BA 1.0 mg/L（下同）+ IAA 1.0，②MS + BA 1.0 + NAA 0.05，③MS + BA 0.25 + NAA 0.1，④MS + BA 3.0 + IAA 1.0，⑤MS + BA 10 + IBA 10。

1.2.3 *增殖培养基的选择* 将茎尖诱导出的愈伤组织分别转接在4种增殖培养基上，在温度为17～27℃、光照时间14 h/d、光强1500 lx 的培养室内培养15 d后，分别调查其增殖情况。4种增殖培养基为：①MS + BA 2.0 + IAA 1.0，②MS + BA1.0 + IAA 0.5，③MS + BA 2.0 + IAA 0.1，④MS + Kt 3.0 + IAA 0.05。

1.2.4 *生根培养基的选择* 将经过继代培养的茎尖分化苗切成单苗后分别接种于3种生根培养基上，在温度15～27℃、光照时间14 h/d、光强1000 lx 的培养室内培养14 d后，调查其生根率及根的生长情况。3种生根培养基为：①MS + NAA 0.3 + IBA 0.3，②MS + NAA 0.2 + IBA 0.3，③MS + NAA 1.0。

以上 MS 培养基均附加蔗糖 30 g/L、琼脂 5.2 g/L，pH 5.8，培养基均在121℃、1.05 kg/cm^2 高温高压灭菌20 min。

1.2.5 *无土基质筛选及驯化移栽* 在塑料大棚内先做好深沟高畦的土壤苗床，再在富含腐殖质的土壤苗床上铺上1层3～4 cm 厚的无土基质，将生根

收稿日期：2006－04－21

作者简介：李世成，男，1966年生，工程师。

维普资讯 http://www.cqvip.com

苗栽植于不同配方（表4）的无土基质上，筛选最佳的基质配方。待缓苗后根系深入土壤，长出4叶时，移入大田种植。

2 结果与分析

2.1 不同诱导培养基对不同组织材料的诱导结果

5种诱导培养基对转 *CHS* 基因非洲菊不同组织材料诱导结果见表1。从表1可以看出，转 *CHS* 基因非洲菊的茎尖、茎段和叶柄形成愈伤组织的能力不同：以茎尖最好，茎段次之，叶柄最差。由表1还可看出，5种诱导培养基中，MS + BA1.0 + IAA1.0 是转 *CHS* 基因非洲菊形成愈伤组织的适宜培养基，该培养基诱导的愈伤组织出愈率高、生长快。

表1 不同激素组合对转 *CHS* 基因非洲菊不同组织材料诱导的影响

激素 (mg/L)	茎段		茎尖		叶柄	
	出愈率 (%)	生长量	出愈率 (%)	生长量	出愈率 (%)	生长量
BA0.25 + NAA0.1	30	大	50	小	0	0
BA1.0 + NAA0.05	70	小	60	小	5	小
BA1.0 + IAA1.0	90	大	95	大	0	0
BA3.0 + IAA1.0	80	小	85	大	0	0
BA10 + IBA10	80	大	90	大	8	小

2.2 不同增殖培养基对茎尖愈伤组织增殖的影响

茎尖愈伤组织增殖培养结果列于表2。由表2可知，培养基 MS + BA 2.0 + IAA 1.0 或 MS + Kt 3.0 + IAA 0.05 是转 *CHS* 基因非洲菊茎尖愈伤组织增殖的最佳激素组合。培养基 MS + BA 2.0 + IAA 0.1 虽然增殖系数高，但苗矮小丛生，因此不宜采用。

表2 不同激素组合对转 *CHS* 基因非洲菊茎尖愈伤组织增殖的影响

激素(mg/L)	生长表现(15 d 后)	增殖系数(15 d 后)
BA2.0 + IAA1.0	生长快,苗壮	5
BA1.0 + IAA0.5	生长较慢,苗壮	4
BA2.0 + IAA0.1	丛生状,矮小	7
Kt3.0 + IAA0.05	生长快,苗壮	4

2.3 不同生根培养基对茎尖分化苗生根的影响

由表3可见，3种生根培养基中，培养基 MS + NAA 0.3 + IBA 0.3 生根效果最好；培养基 MS + NAA 0.2 + IBA 0.3 虽然也能生根，但生根速度慢；培养基 MS + NAA 1.0 几乎不能生根。

表3 不同激素组合对转 *CHS* 基因非洲菊茎尖分化苗生根的影响

激素(mg/L)	生根率(%)	生根情况
NAA0.3 + IBA0.3	100	生根,生根快,根粗
NAA0.2 + IBA0.3	70	生根,生根快,根粗
NAA1.0	0	几乎不生根

2.4 不同基质对茎尖试管苗成活率的影响 转 *CHS* 基因非洲菊试管苗在不同配比的基质上的成活情况见表4。从表4可看出，配方③的基质及配比最有利于非洲菊的炼苗成活。

表4 不同基质及配比对转 *CHS* 基因非洲菊试管苗成活率的影响

配方	瓶苗 (株)	成苗 (株)	成活率 (%)
①珍珠岩:草滩泥 = 1:1	1000	882	88.20
②珍珠岩:砻糠灰 = 2:1	1000	652	65.20
③珍珠岩:腐熟谷壳 = 1:2	1000	930	93.00

2.5 驯化移栽 移栽前先在无土基质上用直尺拉一浅沟，然后将组培苗顺沟整齐均匀地密植，以埋住根系为准。移栽后应马上用雾状喷头浇透水，搭上竹棚，盖上薄膜保湿，第2 d 再复水1遍。夏季强光照天气，需在薄膜上加盖遮阳网，使小棚内温度不超过30℃。如此保湿7 d，新的根系长出，新叶生长，白天即可掀掉薄膜让幼苗接受光照，遇阴冷天气仍需盖上薄膜以保温。另外，要注意病虫害的防治，可每7～10 d 喷药1次，以百菌清、甲基托布津、敌敌畏等广谱性农药为主；同时要注重肥料的施用，可用0.1%的复合肥或用1/2MS 大量元素对水做追肥，可加快苗的生长与成活。苗床基质保持湿度状态，见干浇水，浇水时间宜在上午9:00～10:00。1个月左右后，苗长出4片左右新叶，这时即炼成成苗，可栽入大田。

3 小结与讨论

3.1 试验表明，转 *CHS* 基因非洲菊愈伤组织的诱导以茎尖最好，茎段次之，叶柄最差。诱导芽培养基可采用 MS + BA 1.0 mg/L + IAA 1.0 mg/L，培养25 d 后，转接到培养基 MS + BA 2.0 mg/L + IAA 1.0 mg/L 或 MS + Kt 3.0 mg/L + IAA 0.05 mg/L，大约2周可继代1次，增殖系数为5，诱导生根可采用 MS + NAA 0.3mg/L + IBA 0.3mg/L 培养基，移栽的无土基质采用珍珠岩:腐熟谷壳 = 1:2。该方

维普资讯 http://www.cqvip.com

法可在短时间内得到大量转 *CHS* 基因非洲菊苗，为转基因非洲菊组培苗工业化生产进行了有益的摸索。

3.2 传统组培苗驯化移栽是先在无土基质中培养1个月左右，再移至富含腐殖质的土壤苗床培养1个月左右。这种“两步炼苗法”的缺点是时间长（从瓶苗到成苗需2个月）、成活率低、用工多、成本高。本研究针对这些缺点，将“两步炼苗法”改为“一步炼苗法”，不仅苗长得快且长势旺，1个月左右即可以成苗。

3.3 试验发现，经过大田栽培的转 *CHS* 基因非洲菊，与一般的非洲菊相比，花朵更大且更饱满，花色为一半橙黄、一半金黄。这种转 *CHS* 基因非洲菊花色奇异，究竟 *CHS* 基因是如何表达的，有待对 *CHS* 基因的分子生物学机理做进一步探讨。

（责任编辑：林树文）

福建山樱花扦插育苗试验

方妙辉

（福建省三明市三元区林业局莘口林业站 365002）

摘 要：利用GGR10号处理福建山樱花穗条，结果表明：GGR10号具有诱导植物生根、提高生根率、促进苗木生长等多种功效，与对照相比，生根数平均多8.4条，平均根长增加7.4 cm，平均生根率高40.6个百分点，平均地径增粗0.56 cm，苗高高13.8 cm。其中以浓度200 mg/kg为最佳，宜在扦插育苗上推广应用。

关键词：山樱花；植物生长调节剂；扦插；苗木质量

福建山樱花又名钟花樱桃，属蔷薇科李属，主要分布在广东、广西、福建、台湾等地，具有冠型美、花早、色彩艳丽、花期长等特点，观赏价值高，尤宜用在庭院绿化。但福建山樱花结实量少，采种期短，采种困难，种子成熟时易为鸟食或爆裂，种子来源匮乏，已远远不能满足市场需要。为此，三元区岩前林业站于2002年开展了福建山樱花扦插育苗技术研究，初步总结了扦插育苗关键技术，为福建山樱花在城市绿化中的推广应用提供苗木保证。经统计，截至2005年12月底，共成功培育福建山樱花扦插苗2万多株。现将试验情况报道如下。

1 试验地概况

试验地位于三明市三元区（北纬26°01′～26°25′，东经117°19′～117°45′）岩前林业站苗圃，属中亚热带季风气候，年均温19.6℃，年降雨量1750～1800 mm，极端最高温39℃，极端最低温－5.5℃，无霜期295 d，日照时数1 800 h，≥10℃活动积温6 190℃，相对湿度79%，海拔高度200～250 m，土壤为酸性岩发育的山地黄红土壤，土层中厚，肥力中等，Ⅱ类立地，pH值5.6。

2 材料与方法

2.1 穗条的选择与处理 选择当年生、生长健壮、无病虫害的半木质化穗条，在雨后晴天早晨剪取，长12～15 cm、粗6～7 mm，做到剪口干净平滑。剪下的穗条避免阳光照射，置于湿度较大的暗房内，剪掉穗条基部的叶片和中部叶的1/3～1/2，保留顶叶3～5片。每100条穗条捆成一把，先用1%的H_2O_2溶液对穗条基部切口进行消毒处理，随后用绿色植物生长调节剂浸泡2 h，备用。选用绿色植物生长调节剂10号（GGR 10），由中国林科院ABT生根粉研究开发中心提供，处理浓度分别为100、150、200、250、300 mg/kg 5种，清水（CK）对照。采取完全随机区组设计，6个处理为1区组，3次重复，每个区组处理穗条600株，每种处理100株。

2.2 扦插苗的管理 扦插时间为2004年4月上旬，插后浇透水，前期1～15 d需常喷水，每天喷5～6次，以穗条叶有水珠为宜，保持湿度在85%

收稿日期：2006－06－19

作者简介：方妙辉，男，1972年生，工程师。