



研究报告 Original Paper

基于正交试验的地被小菊组培苗生根培养体系优化

刘晓红^{1,*}, 王娅帆¹, 吕婉嘉², 郭彦君³, 杨永青^{2,*}¹太原学院艺术设计系, 太原030032²中国农业大学生物学院, 北京100193³济南市历城第二中学, 济南250132

*共同通信作者: 刘晓红(liuxiaohong@tyu.edu.cn)、杨永青(yangyongqing@cau.edu.cn)

摘要: 为优化‘千头菊5号’地被小菊组培苗生根技术体系, 采用4因素3水平[L₉(3⁴)]的正交试验法, 探究基本培养基、NAA、IBA及活性炭对地被小菊组培苗生根率及生根效果的影响, 从而筛选最优的生根培养基。结果表明, 不同因素对地被小菊组培苗生根率按重要程度排序如下, (1) 1/2MS>1/4MS>MS; (2) 0.30 mg·L⁻¹ NAA>0.50 mg·L⁻¹ NAA>0 mg·L⁻¹ NAA; (3) 0.75 mg·L⁻¹ IBA>0.35 mg·L⁻¹ IBA>0 mg·L⁻¹ IBA; (4) 1.00 g·L⁻¹ AC=2.00 g·L⁻¹ AC>0 g·L⁻¹ AC。通过对生根率和其他生根指标的综合评估可得最佳诱导地被小菊生根培养基为1/2MS+0.30 mg·L⁻¹ NAA+0.35~0.75 mg·L⁻¹ IBA+1.00 g·L⁻¹ AC。

关键词: ‘千头菊5号’地被小菊; 组织培养技术; 生根培养; 正交试验

Optimization of the rooting culture system of *Chrysanthemum morifolium* tissue culture seedlings based on orthogonal experimentLIU Xiaohong^{1,*}, WANG Yafan¹, LÜ Wanjia², GUO Yanjun³, YANG Yongqing^{2,*}¹Department of Art and Design, Taiyuan University, Taiyuan 030032, China²College of Biological Sciences, China Agriculture University, Beijing 100193, China³Jinan Licheng No.2 High School, Jinan 250132, China

*Co-corresponding authors: Liu XH (liuxiaohong@tyu.edu.cn), Yang YQ (yangyongqing@cau.edu.cn)

Abstract: In order to optimize the rooting technology system of ‘Qiantouju5’ *Chrysanthemum morifolium* tissue culture seedlings, the experiment was made based on the design scheme specified through 4-factor 3-level orthogonal test. It is sought to explore the effect on the rooting rate and rooting effect of *C. morifolium* tissue culture seedlings by each of the following four factors: basic medium, NAA, IBA and activated carbon, so as to select the optimal rooting medium. The results showed that the importance of different factors on the rooting rate of *C. morifolium* tissue culture seedlings was ranked as follows: (1) 1/2MS>1/4MS>MS; (2) 0.30 mg·L⁻¹ NAA>0.50 mg·L⁻¹ NAA>0 mg·L⁻¹ NAA; (3) 0.75 mg·L⁻¹ IBA>0.35 mg·L⁻¹ IBA>0 mg·L⁻¹ IBA; (4) 1.00 g·L⁻¹ AC=2.00 g·L⁻¹ AC>0 g·L⁻¹ AC. Through the comprehensive evaluation of the rooting rate and other rooting indicators, the best induced rooting medium is 1/2MS+0.30 mg·L⁻¹ NAA+0.35–0.75 mg·L⁻¹ IBA+1.00 g·L⁻¹ AC.

Key words: ‘Qiantouju 5’ *Chrysanthemum morifolium*; tissue culture technology; rooting culture; orthogonal experiment

收稿 2022-06-02 修定 2023-01-09

资助 山西省高等学校教学改革创新项目(J2021786)和中国农业大学生命科学实验教学示范中心探索项目(20210102和20210103)。

地被小菊属于多年生宿根草本, 是菊科小菊系的一种数目庞大的新品种群(郝洪波2007)。其具有绿期花期长、株高矮但开花密、花色丰富等特点, 与传统的草坪地被相比, 还具有耐寒耐旱、耐粗放、耐盐碱等优点, 被广泛运用于园林绿化中(苏继申等2010)。随着地被小菊市场需求量的攀升, 现有的播种或扦插等传统种植方式已经难以满足市场的供需, 有时还容易出现病毒感染, 导致品种严重退化(陈好等2022)。植物组织培养技术是国内外产业化育苗的重要手段之一(刘辉2021), 应用组织培养技术可在一定的控制条件下加快无性繁殖的速度, 从而在短时间内获得大量植株。因此, 菊花的组织培养和高效再生体系的建立是地被小菊育种研究及批量生产保持亲本优良性状无性系繁育的最佳选择。

目前, 国内外许多菊花的再生体系研究通过调整基本培养基类型、各种植物生长调节物质种类和浓度比, 将茎段(殷东林等2013)、叶(Yepes等1995; 陈好等2022)、花瓣(刘丹等2022)等作为外植体。国内有学者对地被菊‘映洁红菲’(全英杰等2021)、“紫妍”和‘纽9722’(刘晨旭等2015)、“中国红”(毛洪玉等2015)等少数几个地被菊品种建立了再生及遗传转化体系, 发现影响组培苗生根率和移植成活率的因素包括外植体来源、无机盐浓度、激素种类及其浓度、光照, 还有温度等环境条件。基本培养基一般由植物生长发育必需的无机盐离子组成, 用途最为广泛的为MS植物组织培养基。低盐的培养基配合低浓度的生长素或细胞分裂素可以促进根的形成(戴云新等2009), 还有研究表明添加少量活性炭可以促进生根, 如李晓亮等(2018)在对盆栽菊花‘香草水晶’的研究中提出, 活性炭可以减少植物基部在生根时的愈伤组织, 从而促进组培苗的根系生长。受基因型的影响, 菊花不同品种

的再生体系一般不同, 存在一定差异, 目前针对地被小菊不同品种的组培体系研究较少。

本研究以‘千头菊5号’地被小菊无菌苗为材料, 采用4因素3水平 $[L_9(3^4)]$ 的正交试验筛选其继代生根的最佳培养基, 以期地为地被小菊组培苗的移栽成活及生物技术育种推广提供基础支持。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料取自太原学院园林科学研究所组织培养实验室所培养的‘千头菊5号’地被小菊(*Chrysanthemum morifolium* Ramat)的第1代无菌继代组培苗。

1.2 试验方法

1.2.1 试验设计

采用 $L_9(3^4)$ 正交设计(表1)探究基本培养基、萘乙酸(1-naphthaleneacetic acid, NAA)和吲哚丁酸(indolebutyric acid, IBA)浓度、活性炭(AC)浓度对‘千头菊5号’地被小菊组培苗生根的影响, 具体试验设计见表2。剪取苗高为1~1.5 cm、叶浓绿、长势良好、生长健壮的地被小菊无菌茎段分别接种于9种不同处理的培养基中, 每升培养基添加30 g蔗糖和7 g琼脂粉, pH值5.8~6.2, 进行生根培养(图1)。每个处理接种20株无菌苗, 3次重复。每日观察, 并记录不同处理组培苗的生根时间(以生根长度达到2 mm时记为开始生根)。20 d后统计生根数、最长根长、鲜根重、株高和叶片数等指标, 计算生根率。

1.2.2 生根培养条件

培养温度为 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$, 日光灯光源, 光照强度 $36 \sim 45 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, 每日光照时间为8:00—20:00 ($12 \text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$)。

1.3 测定指标及方法

生根率(%)=已生根苗数/接种苗数 $\times 100$; 根数、

表1 正交试验因素水平表

Table 1 Factors and levels of orthogonal design

水平	基本培养基(因素A)	NAA浓度(因素B)/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	IBA浓度(因素C)/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	AC浓度(因素D)/ $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$
1	1/4MS	0	0	0
2	1/2MS	0.30	0.35	1.00
3	MS	0.50	0.75	2.00

表2 以生根率为指标的直观分析结果
Table 2 Result of intuitive analysis data based on rooting rate

处理	试验因素				生根率/%
	A	B	C	D	
1 (A ₁ B ₁ C ₁ D ₁)	1/4MS	0	0	0	60.00±5.00 ^d
2 (A ₁ B ₂ C ₃ D ₂)	1/4MS	0.30	0.75	1.00	80.00±5.00 ^{bc}
3 (A ₁ B ₃ C ₂ D ₃)	1/4MS	0.50	0.35	2.00	73.33±7.64 ^c
4 (A ₂ B ₁ C ₃ D ₃)	1/2MS	0	0.75	2.00	98.33±2.89 ^a
5 (A ₂ B ₂ C ₂ D ₁)	1/2MS	0.30	0.35	0	100.00±0.00 ^a
6 (A ₂ B ₃ C ₁ D ₂)	1/2MS	0.50	0	1.00	100.00±0.00 ^a
7 (A ₃ B ₁ C ₂ D ₂)	MS	0	0.35	1.00	86.67±7.64 ^b
8 (A ₃ B ₂ C ₁ D ₃)	MS	0.30	0	2.00	95.00±5.00 ^a
9 (A ₃ B ₃ C ₃ D ₁)	MS	0.50	0.75	0	98.33±2.89 ^a
K1	640.00	735.00	765.00	775.00	
K2	895.00	825.00	780.00	800.00	
K3	840.00	815.00	830.00	800.00	
k1	71.11	81.67	85.00	86.11	
k2	99.44	91.67	86.67	88.89	
k3	93.33	90.56	92.22	88.89	
R	28.33	10.00	7.22	2.78	
因素主次	因素A>因素B>因素C>因素D				
优水平	A2	B2	C3	D2、D3	

生根率为平均值±标准偏差; 同列数据后不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。K1、K2、K3分别为各因素各水平的总和; k1、k2、k3分别为各因素各水平的平均值; R值为k1、k2、k3的极差。

最长根长和株高采用直尺测量法; 叶片数采用目测计量法; 将植株取出后, 用解剖刀切取所有的根系, 洗净后用滤纸吸干根表面的水分, 用电子天平称取根鲜重。

1.4 数据处理

试验数据分析采用Excel自编公式整理、统计并分析, 导入所需数据至IBM SPSS Statistics 23软件进行方差分析, 利用邓肯新复极差法进行事后多重比较。

2 实验结果

2.1 各因素不同水平对地被小菊生根率的影响

2.1.1 各因素对地被小菊生根率的直观分析

为研究各因素对地被小菊生根效果影响的主次顺序, 获得各因素水平的最佳组合, 对试验结果进行极差计算(表2), 由试验数据的直观分析发现, 极差(R值)最大对应的试验因素为A, 并且A取第二

水平时生根率最高。比较R值可得, 不同因素对地被小菊组培苗生根率影响的重要程度依次为基本培养基(因素A)>NAA浓度(因素B)>IBA浓度(因素C)>活性炭浓度(因素D)。

比较各因素不同水平下生根率的总和(K值)或平均值(k值)可知, 各因素不同水平对地被小菊组培苗生根率影响的最优值排序分别为A₂>A₃>A₁, B₂>B₃>B₁, C₃>C₂>C₁, D₂=D₃>D₁, 直观分析结果表明诱导地被小菊生根的最优组合为A₂B₂C₃D₂和A₂B₂-C₃D₃, 但表2中生根率试验结果的最优组合为A₂B₂-C₂D₁和A₂B₃C₁D₂。直观分析所得的最优组合并未包含于表2的9个处理。直观分析虽然根据R值得出各试验因素对生根率影响的重要程度, 但其影响程度是否显著还需通过方差分析对结果作进一步处理。

2.1.2 各因素对地被小菊生根率的方差分析

在直观分析的基础上进行方差分析可得出各

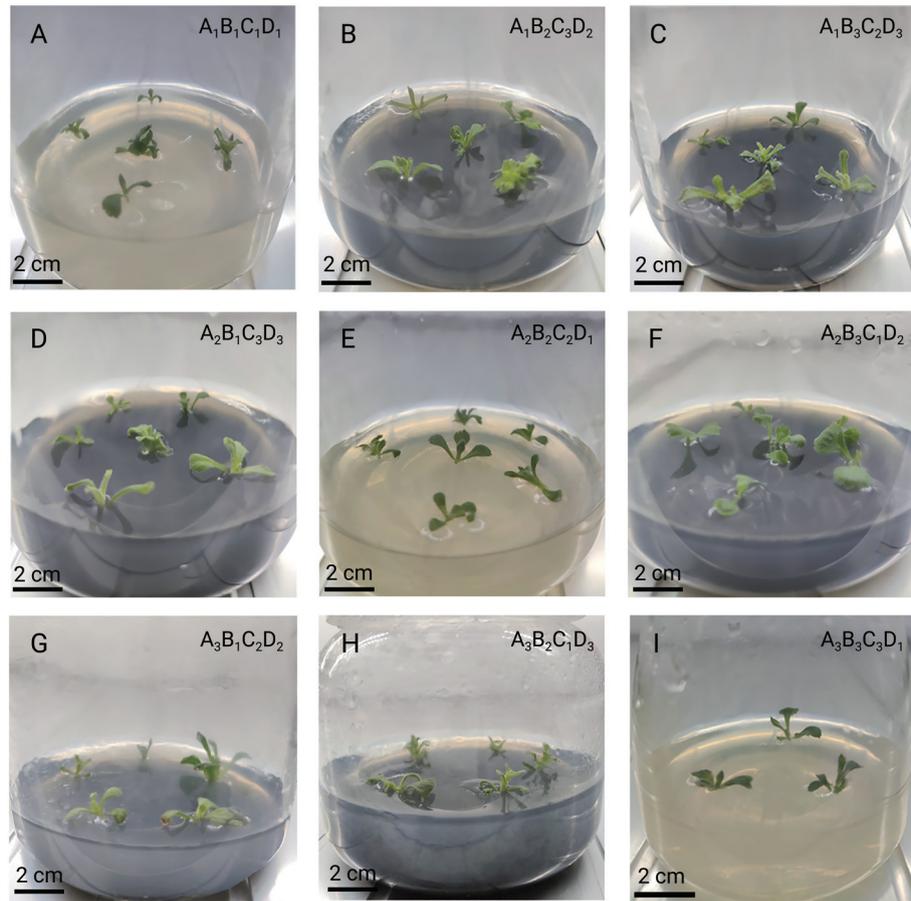


图1 不同处理下地被小菊的无菌茎段接种

Fig. 1 Inoculation of aseptic stem segments of *C. morifolium* under different treatments

A~I分别对应处理表2的处理编号1~9。

表3 方差分析的主体间效应检验

Table 3 Intersubjectivity effects test for ANOVA

源	III类平方和	自由度	均方	F值	显著水平
修正模型	4 846.296 ^a	8	605.787	26.170	0.000
截距	208 912.037	1	208 912.037	9 025.000	0.000
基本培养基(A)	4 001.852	2	2 000.926	86.440***	0.000
NAA (B)	540.741	2	270.370	11.680**	0.001
IBA (C)	257.407	2	128.704	5.560*	0.013
AC (D)	46.296	2	23.148	1.000	0.387
误差	416.667	18	23.148		
总计	214 175	27			
修正后总计	5 262.963	26			

^aR平方值=0.921 (调整后R平方值=0.886), 因变量: 生根率。*、**和***分别表示在0.05、0.01和0.001水平上差异显著。

因素的主体间效应。从表3可以看出,基本培养基在0.001水平对地被小菊组培苗的生根率影响极其显著;NAA在0.01水平对地被小菊组培苗的生根率有显著统计学差异;IBA在0.05水平上有显著差异;而活性炭对地被小菊生根率影响未达到显著水平,这个结果同极差分析结果一致,说明与其他三个因素相比,活性炭对地被小菊诱导生根的影响较小。

2.2 各因素不同水平对地被小菊其他生根指标影响

通过对地被小菊生根率进行直观分析与方差分析,初步得到生根率高、生根能力强的最优水平的组合。但在多指标正交试验中,由于各个试验因素及其水平的变化,指标往往也会因此发生变化。通过表2可以看出部分处理的生根率都高达100%,仅凭生根率一项指标无法全面反映地被小菊组培

苗的生根优劣情况,因此在生根培养20 d后(图2),取生根数、最长根长、根鲜重、株高、叶片数和最早生根时间等作为评估生根优劣情况的指标。

地被小菊组培苗9个处理组在接种1周左右陆续开始生根。由表4可知,处理6的生根时间最早,在培养6~7 d后开始生根;处理1和9生根最迟,均在12 d左右才开始生根。未加活性炭的处理5和9,其生根数为15.08条和10.88条,根鲜重为114.89和54.45 mg,远高于其他处理(图3),但根长却不及其他组表现优异。处理6根长表现最优,最长根长为7.80 cm;最长根长表现最差的为处理9,仅为1.04 cm。对于叶片数、株高等指标,各处理间差异不大。

2.2.1 各因素对地被小菊生根指标的直观分析

其他生根指标的极差分析结果(表5)表明,各

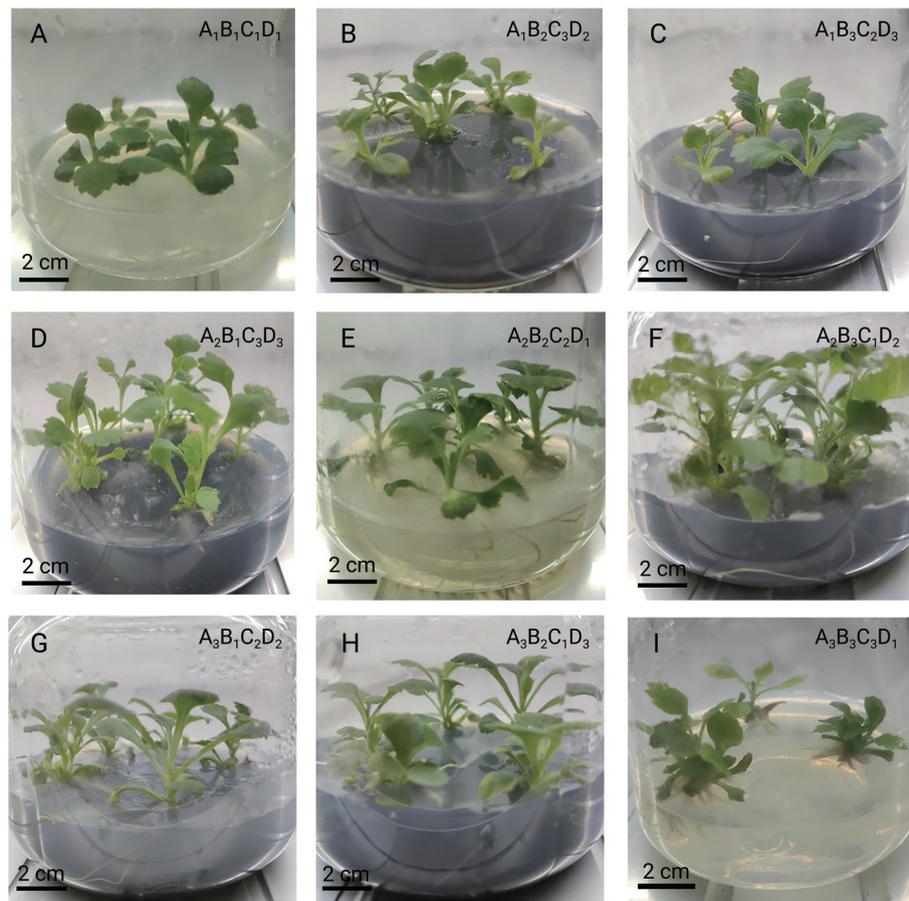


图2 地被小菊组培苗生根培养20 d情况

Fig. 2 Rooting culture of *C. morifolium* plantlets for 20 days

A~I分别对应处理编号1~9。

表4 不同处理对地被小菊生根的影响
Table 4 Effect of different treatments on rooting of *C. morifolium*

处理	生根数/条	最长根长/cm	根鲜重/mg	株高/cm	叶片数/片	最早生根时间/d
1	2.76±0.77 ^d	6.52±0.28 ^b	13.11±0.53 ^d	1.11±0.03 ^d	8.78±0.53 ^a	12.45±0.25 ^{ab}
2	3.82±1.24 ^d	6.56±0.58 ^b	15.21±0.33 ^d	1.69±0.28 ^c	10.43±0.40 ^a	10.78±1.12 ^{cd}
3	3.78±0.39 ^d	6.71±0.59 ^b	17.41±4.62 ^d	1.73±0.07 ^c	9.67±1.34 ^a	11.42±0.54 ^{bc}
4	4.80±0.58 ^d	6.15±0.51 ^b	13.60±1.52 ^d	2.51±0.26 ^b	10.43±1.25 ^a	8.60±0.83 ^c
5	15.08±1.90 ^a	4.41±0.94 ^c	114.89±17.00 ^a	2.51±0.09 ^b	9.83±1.11 ^a	10.07±0.64 ^d
6	6.92±0.77 ^c	7.80±0.30 ^a	31.63±2.05 ^c	2.84±0.07 ^a	10.27±0.94 ^a	7.18±0.44 ^f
7	4.08±1.08 ^d	5.96±0.54 ^b	18.18±6.05 ^d	2.54±0.16 ^b	10.48±1.80 ^a	8.57±0.41 ^c
8	3.66±0.77 ^d	6.35±0.13 ^b	19.33±5.96 ^{cd}	2.56±0.10 ^b	9.45±1.86 ^a	8.42±0.70 ^c
9	10.88±1.83 ^b	1.04±0.15 ^d	54.45±8.62 ^b	1.93±0.09 ^c	9.72±1.07 ^a	12.79±0.53 ^a

表中数据为平均值±标准偏差; 同列数据后不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

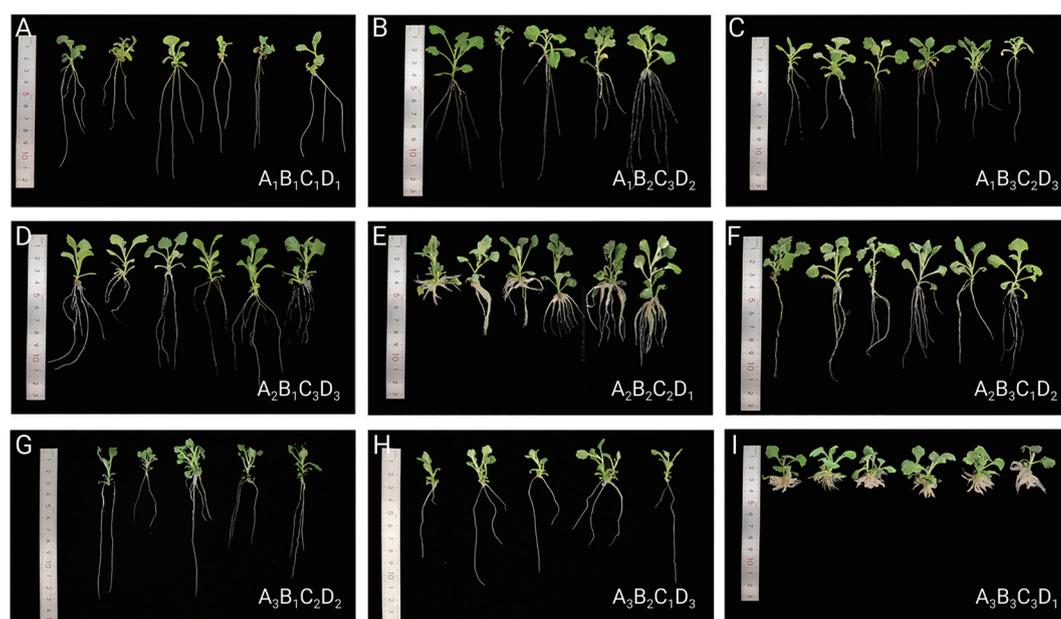


图3 不同处理下地被小菊的根系表型

Fig. 3 Root phenotype of *C. morifolium* under different treatments

A~I分别对应处理编号1~9。

因素对生根数、根鲜重的影响大小依次为: $D>A>B>C$, 最优组合均为 $A_2B_2C_2D_1$; 对最长根长、叶片数的影响大小依次为: $D>C>A>B$, 最优组合为 $A_1B_1C_1D_2$ 、 $A_2B_2C_3D_2$; 对株高、最早生根时间的影响大小依次为: $A>D>C>B$, 最优组合为 $A_2B_2C_2D_2$ 、 $A_2B_2C_1D_2$ 。

对生根数、最长根长、根鲜重和叶片数来讲, 活性炭的极差都是最大的, 表明活性炭是影响这

些生根指标最主要因素。对株高、最早生根时间来讲, 活性炭的极差分别为0.50和2.92, 极差位列第二, 说明活性炭对地被小菊株高和最早生根时间的影响也较大, 且综合优水平当活性炭为第二水平即浓度为 $1.00 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时表现较好。

基本培养基主要影响株高和最早生根时间, 其次是生根数和根鲜重, 最长根长和叶片数的极差也非最小值, 因此与活性炭相比, 基本培养基是

表5 基于其他生根指标的直观分析结果
Table 5 Result of intuitive analysis data base on other rooting indexes

指标	因素	各因素水平均值			极差	优水平
		水平1	水平2	水平3		
生根数/条	A	3.46	8.93	6.21	5.48	2
	B	3.88	7.52	7.19	3.64	2
	C	4.45	7.65	6.50	3.20	2
	D	9.58	4.94	4.08	5.50	1
最长根长/cm	A	6.59	6.12	4.45	2.14	1
	B	6.21	5.77	5.18	1.03	1
	C	6.89	5.69	4.58	2.30	1
	D	3.99	6.77	6.40	2.78	2
根鲜重/mg	A	15.25	53.37	30.65	38.13	2
	B	14.96	49.81	34.50	34.85	2
	C	21.36	50.16	27.75	28.80	2
	D	60.82	21.67	16.78	44.03	1
株高/cm	A	1.51	2.62	2.34	1.11	2
	B	2.05	2.25	2.17	0.20	2
	C	2.17	2.26	2.04	0.22	2
	D	1.85	2.35	2.27	0.50	2
叶片数/片	A	9.63	10.18	9.88	0.55	2
	B	9.90	9.91	9.88	0.02	2
	C	9.50	9.99	10.19	0.69	3
	D	9.44	10.39	9.85	0.95	2
最早生根时间/d	A	11.55	8.62	9.93	2.93	2
	B	9.87	9.76	10.47	0.71	2
	C	9.35	10.02	10.73	1.38	1
	D	11.77	8.84	9.48	2.92	2

影响地被小菊生根情况的次要因素,且综合优水平当基本培养基为第二水平即1/2MS时最好。

对最长根长、株高、叶片数和最早生根时间来讲, NAA的极差都是最小的,故NAA对地被小菊生根情况影响较小,除最长根长的NAA浓度取第一水平最佳,其余指标均是取第二水平最佳,因此综合考虑, NAA浓度为第二水平即浓度为 $0.30 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 最佳,这与毛洪玉等(2015)在对地被菊‘中国红’中发现的NAA最适浓度为 $0.30 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的结论相一致。

综合各指标IBA的极差排名,可见IBA对地被小菊组培苗的生根情况影响不大,但其影响作用要大于NAA。IBA取第一水平时,最长根长和最早生根时间最优,结合表6数据,IBA对于最长根长和

最早生根时间的贡献率仅有24.58%和8.49%;而在IBA取第二水平时,根数、根鲜重和株高都达到了最优水平,因此IBA可取第二水平即 $0.35 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 最佳。

综合以上可以得出以生根数等为指标的直观分析结果表明地被小菊生根的较优培养基组合为 $A_2B_2C_2D_2$,即 $1/2\text{MS}+0.30 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{ NAA}+0.35 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{ IBA}+1.00 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1} \text{ AC}$ 。

2.2.2 各因素对地被小菊生根指标的方差分析

由表6分析各指标的方差及各自的贡献率可得,除叶片数指标外,4个因素对生根数、最长根长、根鲜重、株高和最早生根时间的影响都达到了显著水平(显著性水平 $\alpha\leq 0.1$)。其中活性炭对生根数的增多、最长根长的增长、根鲜重的增大及生根

表6 基于其他生根指标的方差分析结果
Table 6 Result of ANOVA analysis data base on other rooting indexes

指标	变异来源	平方和	自由度	均方	F值	显著水平	贡献率/%
生根数/条	A	135.028	2	67.514	51.128	0.000	30.94
	B	73.036	2	36.518	27.655	0.000	16.73
	C	47.319	2	23.660	17.917	0.000	10.84
	D	157.312	2	78.656	59.566	0.000	36.04
	误差	23.769	18	1.320			
最长根长/cm	A	22.819	2	11.410	44.191	0.000	23.49
	B	4.791	2	2.396	9.279	0.002	4.93
	C	23.886	2	11.943	46.256	0.000	24.58
	D	41.019	2	20.510	79.436	0.000	42.22
	误差	4.647	18	0.258			
根鲜重/mg	A	6 623.193	2	3 311.597	64.253	0.000	23.96
	B	5 491.075	2	2 745.537	53.270	0.000	19.86
	C	4 117.483	2	2 058.741	39.945	0.000	14.89
	D	10 485.467	2	5 242.734	101.722	0.000	37.93
	误差	927.716	18	51.540			
株高/cm	A	6.017	2	3.008	129.588	0.000	73.91
	B	0.185	2	0.093	3.995	0.037	2.27
	C	0.213	2	0.107	4.588	0.025	2.62
	D	1.308	2	0.654	28.168	0.000	16.07
	误差	0.418	18	0.023			
叶片数/片	A	1.364	2	0.682	0.446	0.647	3.87
	B	0.002	2	0.001	0.001	0.999	0.01
	C	2.300	2	1.150	0.753	0.485	6.53
	D	4.090	2	2.045	1.339	0.287	11.60
	误差	27.493	18	1.527			
最早生根时间/d	A	38.869	2	19.435	45.639	0.000	38.75
	B	2.601	2	1.300	3.053	0.072	2.59
	C	8.517	2	4.259	10.001	0.001	8.49
	D	42.643	2	21.321	50.069	0.000	42.52
	误差	7.665	18	0.426			

各因素对检验指标的贡献率由ANOVA(平方和与平方和的比值)计算。

时间的提早可视为重要因素, 都达到了极显著水平, 贡献率分别达到了36.04%、42.22%、37.93%、42.52%, 可见活性炭虽对生根率的影响未达到显著水平, 但可以提高生根的数量、长度和根鲜重, 并有助于地被小菊组培苗提早生根。培养基种类对生根数、根鲜重、最早生根时间的贡献率仅次于活性炭, 也可视为重要影响因素。对于株高, 基本培养基种类的贡献率达到了73.91%, 是重要的影响因素。

2.2.3 同一因素不同水平间差异显著性检验

采用新复极差检验法(SSR)来检验同一因子在不同水平上的均值差异的显著性。由表7可知, 因素A的第一水平和第二水平在根数上存在极显著差异, 而因素D的第一水平与第二水平和第三水平在根数上存在极显著差异。因素A、C的第一、三水平在最长根长上达到了显著差异, 因素D的第一水平与第二、三水平在最长根长上达到了极显著差异; 因素A、B第一水平和第二水平在根鲜重

表7 同一因素各水平间差异显著性SSR检验
Table 7 SSR test for significant differences between levels of the same factor

指标	显著水平 (α)	处理因素及水平											
		因素A			因素B			因素C			因素D		
		水平1	水平2	水平3	水平1	水平2	水平3	水平1	水平2	水平3	水平1	水平2	水平3
生根数	0.05	a	b	ab	a	a	a	a	a	a	b	a	a
	0.01	A	B	AB	A	A	A	A	A	A	B	A	A
最长根长	0.05	b	ab	a	a	a	a	b	ab	a	a	b	b
	0.01	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	B	B
根鲜重	0.05	a	b	ab	a	b	ab	a	a	a	b	a	a
	0.01	A	A	A	A	A	A	A	A	A	B	A	A
株高	0.05	a	b	b	a	a	a	a	a	a	a	a	a
	0.01	A	B	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A
最早生根时间	0.05	b	a	a	a	a	a	a	a	a	b	a	a
	0.01	B	A	AB	A	A	A	A	A	A	B	A	A

方面上达到了显著差异;因素A的第一水平与第二、三水平在株高方面达到了极显著差异;因素A的第一和第二水平在最早生根时间上达到极显著差异,因素D的第一水平与第二、第三水平在最早生根时间上达到极显著差异。除此之外,其他因素的各水平之间的差异不显著。通过该方法对同因素下的各水平之间进行差异显著性检验,对方差分析中的最优水平作了进一步诠释。

2.3 最优培养基组合的确定

由以上分析可知,对于生根率的最优组合为 $A_2B_2C_3D_2$ 和 $A_2B_2C_3D_3$,对于综合分析生根数、最长根长、根鲜重、株高、叶片数、最早生根时间的6个指标得到的最优组合为 $A_2B_2C_2D_2$ 。其中基本培养基和NAA都是取第二水平,即1/2MS和 $0.3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA时生根率和各项指标均最佳。根据正交结果分析所得:当IBA取第三水平,即 $\text{IBA}=0.75 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时生根率最高,当IBA取第二水平,即 $\text{IBA}=0.35 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时生根各项指标要好,因此IBA的浓度宜在 $0.35\sim 0.75 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 之间;活性炭浓度为 $1.00\sim 2.00 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时生根率均最佳,浓度为 $1.00 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时各项指标最好,基于经济性考虑,活性炭的优水平可取 $1.00 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。因此通过对生根率和其他生根指标的综合评估可得‘千头菊5号’地被小菊组培苗生根最优培养基组合为 $1/2\text{MS}+0.30 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{ NAA}+0.35\sim 0.75 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{ IBA}+1.00 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1} \text{ AC}$ 。

3 讨论

在地被小菊组培苗生根培养过程中发现,地被小菊较容易生根,试验9个处理平均生根率均可达到60%以上,其中处理5 ($1/2\text{MS}+0.30 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{ NAA}+0.35 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{ IBA}$)和处理6 ($1/2\text{MS}+0.50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{ NAA}+1.00 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1} \text{ AC}$)的生根率可达到100%。

通过对其他6个生根指标(生根数、最长根长、根鲜重、株高、叶片数、最早生根时间)和生根率的综合分析,确定地被小菊组培苗的最优生根培养基配方为 $1/2\text{MS}+0.30 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{ NAA}+0.35\sim 0.75 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{ IBA}+1.00 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1} \text{ AC}$,但由于该处理组合不在已做的试验处理组合之中,故其实际效果还需进一步试验来验证。

一般来说,生根培养基是1/2MS和1/2MS辅以低浓度的NAA或IBA(刘晨旭等2015),高浓度的无机盐抑制不定根的生长,但其浓度也不宜过低,试验结果显示1/4MS培养基中的生根状态不佳,这验证了无机盐浓度过低不利于根系的生长,而1/2MS培养基上获得的地被小菊组培苗的生根率最高且最长根长最优,这与先前的大多数研究结果一致(王进茂等2000)。

本试验过程出现了王进茂等(2000)对花烛组培研究中出现的现象,即试管苗出现了2种生根现象,除正常向下延伸的根外,还有向上生长的气生

根。不加活性炭处理1、5和9的地被小菊组培苗的根系短、粗、软、脆, 移植活力低, 呈愈伤组织状, 而添加活性炭可以有效抑制这种现象, 使大量根系向下生长, 加快生根速度, 有利于提高存活率, 但根的数量相对较少。另外活性炭为根系生长发育创造了一个类似于土壤包围的黑暗环境, 可吸附培养基中的有毒粒子, 降低盐离子的浓度(张素勤等2008)。但是活性炭浓度太高可能会吸附培养基中的生长调节物质, 反而影响组培苗生根, 因此活性炭浓度以 $1.00 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 为宜, 这与孙占育等(2010)对‘日本红’的研究结果一致, 在生产实践中可根据试验的条件和期望选择是否添加活性炭。

参考文献(References)

- Chen H, Mo LW, Wang ZF, et al (2023). Establishment of tissue culture and plant regeneration system of ‘Zhenfen’ *Chrysanthemum morifolium*. *Mol Plant Breed*, (5): 1633–1640 (in Chinese with English abstract) [陈好, 莫丽文, 王泽峰等(2023). 地被菊花‘珍粉’组织培养与植株再生体系的建立. *分子植物育种*, (5): 1633–1640]
- Dai YX, Zhang J, Li M, et al (2009). Effects of NAA and IBA on the rooting of tissue culture seedling of *Gerbera jamesonii* Bolus. *J Anhui Agri Sci*, 37 (19): 8845–8847 (in Chinese with English abstract) [戴云新, 张健, 李敏等(2009). NAA和IBA对非洲菊组培苗生根的影响. *安徽农业科学*, 37 (19): 8845–8847]
- Hao HB (2007). The characteristics and garden application of ground-cover chrysanthemum. *South China Agric*, (6): 38–40 (in Chinese) [郝洪波(2007). 地被小菊的特点与园林应用. *南方农业(园林花卉版)*, (6): 38–40]
- Li XL, Zhang JY, Zhang Z, et al (2018). Tissue culture and rapid propagation techniques of stem-tip from potted chrysanthemum. *Jiangsu Agric Sci*, 46 (24): 57–62 (in Chinese) [李晓亮, 张军云, 张钟等(2018). 盆栽菊花的茎尖组织培养快繁技术. *江苏农业科学*, 46 (24): 57–62]
- Liu CX, Ma X, Dong FL, et al (2015). Establishment of regeneration system of *Chrysanthemum morifolium* ‘Ziyan’ and ‘Niu 9722’. *Pratac Sci*, 32 (2): 188–195 (in Chinese with English abstract) [刘晨旭, 马欣, 董凤丽等(2015). 地被菊‘紫妍’和‘纽9722’的再生体系建立. *草业科学*, 32 (2): 188–195]
- Liu D, Chen TL, Wang R, et al (2022). Establishment of tissue culture and rapid propagation system of potted *Chrysanthemum* and vitrification study. *J Anhui Agric Sci*, 50 (4): 44–47 (in Chinese with English abstract) [刘丹, 陈天焱, 王容等(2022). 盆栽小菊组培快繁体系的建立及玻璃化研究. *安徽农业科学*, 50 (4): 44–47]
- Liu H (2021). Propagation of nonrooting tissue culture seedlings of *Chrysanthemum* and ornamental miniaturization effect in pot (dissertation). Yinchuan: Ningxia University (in Chinese with English abstract) [刘辉(2021). 小菊非生根组培苗扩繁及盆栽观赏微型化效应(学位论文). 银川: 宁夏大学]
- Mao HY, Zhou Y, Liu D, et al (2015). Establishment of receptor and genetic transformation system of ground-cover chrysanthemum ‘China Red’. *J Shenyang Agric Univ*, 46 (6): 672–677 (in Chinese with English abstract) [毛洪玉, 周杨, 刘迪等(2015). 地被菊‘中国红’再生及遗传转化体系的建立. *沈阳农业大学学报*, 46 (6): 672–677]
- Quan YJ, Ren RR, Yang WT, et al (2021). Establishment of regeneration system and genetic transformation system of ‘Yingjiahongfei’ of *Chrysanthemum morifolium*. *Northern Hortic*, (21): 72–77 (in Chinese with English abstract) [全英杰, 任镛蓉, 杨雯婷等(2021). 地被菊‘映洁红菲’再生及遗传转化体系的建立. *北方园艺*, (21): 72–77]
- Su JS, Wang H, Du SB (2010). Analysis on application of ground-cover chrysanthemum in Nanjing and characters comparison of chrysanthemum with small inflorescences. *J Jiangsu For Sci Tech*, 37 (2): 23–25, 46 (in Chinese with English abstract) [苏继申, 王红, 杜顺宝(2010). 南京地被小菊应用现状分析及引种小菊品种的性状比较. *江苏林业科技*, 37 (2): 23–25, 46]
- Sun ZY, Sun ZQ, Cao B (2010). Effect of activated charcoal in rooting process of plant tissue culture. *Hunan Agric Sci*, (7): 3–5 (in Chinese with English abstract) [孙占育, 孙志强, 曹斌(2010). 活性炭在促进组培苗植物生根中的作用. *湖南农业科学*, (7): 3–5]
- Wang JM, Zheng JB, Gao XL, et al (2000). Studies on *in vitro* culture of *Anthurium andreaeanum*. *Hebei J For Orchard Res*, (1): 69–74 (in Chinese with English abstract) [王进茂, 郑均宝, 高秀丽等(2000). 花烛组织培养的研究. *河北林果研究*, 15 (1): 69–74]
- Yepes LM, Mittak V, Pang SZ, et al (1995). Biolistic transformation of chrysanthemum with the nucleocapsid gene of tomato spotted wilt virus. *Plant Cell Rep*, 14 (11): 694–698
- Yin DL, Liu L, Sun W (2013). Establishment of rapid propagation system of stems of chrysanthemum. *J Xinyang Agric Coll*, 23 (4): 91–94 (in Chinese with English abstract) [殷东林, 刘磊, 孙伟(2013). 菊花茎段组织快繁体系的建立. *信阳农业高等专科学校学报*, 23 (4): 91–94]
- Zhang SQ, Zou ZR, Geng GD, et al (2008). Effects of activated charcoal on root induction *in vitro* and substrates on survival ratio in gerbera. *Northern Hortic*, (5): 207–208 (in Chinese with English abstract) [张素勤, 邹志荣, 耿广东等(2008). 活性炭对非洲菊组培苗的生根诱导和移栽基质的筛选. *北方园艺*, (5): 207–208]