

八仙花茎段组织培养技术研究

雷亚灵, 李周岐*

(西北农林科技大学 林学院, 陕西 杨陵 712100)

摘 要:以八仙花带腋芽茎段为外植体,研究了其组织培养技术。结果表明:以 70 %酒精处理 30 s + 0.1 %升汞处理 10 min,成活率可达 96 %;以 MS + 6-BA0.5 mg/L + IBA0.5 mg/L 为启动培养基,诱导率可达 100 %;以 MS + 6-BA0.5 mg/L + IBA0.3 mg/L 为增殖培养基,培养 25 d,增殖系数可达 9.2;以 1/2MS + IBA0.3 mg/L 进行生根培养,生根率 100 %,根长势良好且根毛区长达 1.1 cm;移栽到以珍珠岩 :腐殖土 = 1 :2 的基质中,覆盖地膜保湿 7 d,成活率可达 80 %以上。

关键词:八仙花;茎段;组织培养

中图分类号:S723.132 文献标识码:A 文章编号:1001-7461(2008)04-0101-03

Tissue Culture of Stem Segment of Hydrangea macrophylla

LEI Ya-ling, LI Zhou-qi*

(College of Forestry, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract :Stems with axillaries bud of Hydrangea macrophylla were used as explants to conduce in vitro culture. The results showed that the optimum disinfectant was 70 % alcohol for 30 seconds and HgCl₂ for 10 minutes. The induction culture medium was MS + BA0.5 mg/L + IBA0.5 mg/L and the ratio of induction was 100 %. The optimum multiplication culture medium was MS + BA0.5 mg/L + IBA 0.3 mg/L and after 25 days multiplication coefficient was 9.2. The rooting culture medium was 1/2MS + IBA 0.3 mg/L and the ratio of rooting was 100 %, and the root's growth was better and the length of district root hairs was 1.1 cm. When transplanted in pots with the mediums of 1 perlite :2 humus, most of the seedlings could grow well.

Key words: Hydrangea macrophylla ;stems with axillaries bud ;tissue culture

八仙花 (Hydrangea macrophylla) 别名粉团花、紫阳花、草绣球、阴绣球等,为虎耳草科植物,落叶灌木。我国各地园林与民间常有栽培,变种很多。八仙花花期夏季,花洁白丰满,大而美丽,其花色能红能蓝,令人悦目怡神,是常见的盆栽观赏花木^[1,5],开发利用价值较高。

目前我国八仙花繁殖主要以扦插为主,这种方式繁殖系数低,扩繁速度慢,不能满足园林绿地大面积种植的需要,对新优品种进行快速繁殖和八仙花的大规模工厂化生产产生了很大的阻碍^[6,7]。利用现代生物技术进行快速繁殖在国外未见报道,国内任叔辉等^[8,9]对八仙花的组织培养技术进行过探

讨,但对其中的一些问题,如不同激素浓度对增殖培养的影响等未作具体研究,且其诱导培养基导致外植体愈伤化,有待进一步研究。本研究在前人研究的基础上,以八仙花茎段为外植体,对其组织培养技术进行更全面、系统的研究,以及为我国八仙花的大规模生产和新优品种的快速繁殖奠定基础。

1 材料与方 法

1.1 材料

试验所用材料为蓝边八仙花,取自西北农林科技大学校园。

① 收稿日期:2008-01-18 修回日期:2008-05-15
基金项目:西安市科技计划项目“秦巴山区重要野生观赏树木引种驯化与快速繁殖技术研究”(FY07107)。
作者简介:雷亚灵,女,西北农林科技大学林木遗传育种专业硕士研究生。
*通讯作者:李周岐,男,西北农林科技大学林木遗传育种学教授,博士生导师。E-mail: Lzhouqi@yahoo.com.cn

1.2 方法

将材料在自来水下冲洗干净(用毛刷刷干净叶柄下的尘土),待用。

1.2.1 消毒 用 70 %酒精 10~30 s 不同梯度和 0.1 %升汞 4~14 min 不同梯度搭配,每个处理接种 50 瓶,每瓶接 1 个外植体,5 d 以后统计污染率,死亡率及成活率,研究其最佳消毒方法。

1.2.2 启动和增殖培养 以 MS 基本培养基,添加不同浓度的 BA 和 IBA,组成 9 种培养基,每种培养基接种 50 瓶,每瓶接 1 个外植体,统计腋芽萌发的比例及萌发芽的生长状况;同样以 MS 为基本培养基,添加不同浓度的 BA 和 IBA,组成 11 种培养基,每个组合接种 50 瓶,每瓶接 3 个带一个芽的无菌材料,25 d 统计增殖系数,观察材料状态。

1.2.3 生根培养 以 MS、1/2MS 为基本培养基,分别添加 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 mg/L 的 IBA,选取壮实的无菌苗,每种培养基接 50 瓶,每瓶 1 个材料,25 d 统计生根率、平均生根数及根毛区长度,研究适合生根的培养基及 IBA 的浓度。

1.2.4 移栽 以珍珠岩 :腐殖土 = 1 : 2 为基质,用多菌灵灭菌,移栽后用地膜保湿 7 d 以上,观察其移栽效果。

2 结果与分析

2.1 消毒

八仙花茎段表面光滑,结构精密,消毒物质不易渗入内部,故在消毒液中可以浸泡较长时间。由表 1 中数据可以看出,在 70 %酒精中浸泡时间的长短对消毒效果影响很大。根据表中数据,最好的消毒方式为 70 %酒精浸泡 30 s + 0.1 %升汞消毒 10 min。

表 1 茎段消毒处理结果

Table 1 The effects of stems disinfection

编号	接种数	70 %酒精 处理/s	0.1 %升汞 处理/s	污染数/ 污染率	死亡数/ 死亡率	成活数/ 成活率
(1)	50	10	6	50/ 100 %	0/ 0	0/ 0
(2)	50	20	6	50/ 100 %	0/ 0	0/ 0
(3)	50	30	6	41/ 82 %	0/ 0	9/ 18 %
(4)	50	10	8	50/ 100 %	0/ 0	0/ 0
(5)	50	20	8	45/ 90 %	0/ 0	5/ 10 %
(6)	50	30	8	21 %/ 42 %	0/ 0	29/ 58 %
(7)	50	10	10	32/ 64 %	0/ 0	18/ 36 %
(8)	50	20	10	8/ 16 %	0/ 0	42/ 84 %
(9)	50	30	10	2/ 4 %	0/ 0	48/ 96 %
(10)	50	10	12	10/ 20 %	3/ 6 %	37/ 74 %
(11)	50	20	12	2/ 4 %	2/ 4 %	46/ 92 %
(12)	50	30	12	3/ 6 %	2/ 4 %	45/ 90 %

2.2 启动及增殖培养

通过调整 BA 和 IBA 的浓度可以得到不同的诱导效果,但较高的 IBA 将会导致材料脱分化形成愈伤组织,较高的 BA 则会抑制分化芽的正常生长。试验结果表明,在 MS + BA0.5 mg/L + IBA0.5 mg/L 的培养基中可以得到理想的培养效果,在接种后 5 d 腋芽即开始萌发,10 d 左右即能伸出叶片,且无愈伤及其他异常情况出现(如图 1)。方差分析表明,IBA 对八仙花不定芽的启动培养呈极显著影响($p = 0.01$)。

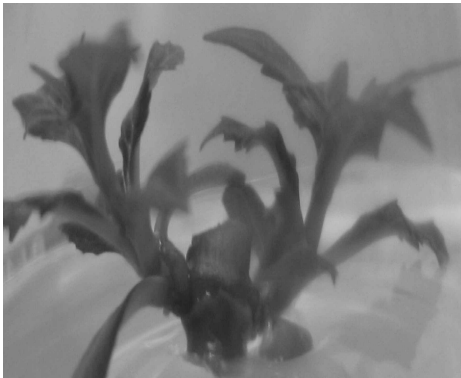


图 1 腋芽萌发

Fig.1 Sprouting of axillary bud



图 2 (6)号培养基增殖效果

Fig.2 Proliferative effect NO.6 culture medium

表 2 不同浓度 BA、IBA 对八仙花茎段启动培养的影响

Table 2 Effect of different concentrations of BA, IBA on stem segment culture of *H. macrophylla*

编号	BA/ (mg · L ⁻¹)	IBA/ (mg · L ⁻¹)	最早萌 发时间	芽生长 状况
(1)	0.1	0.1	8	芽生长缓慢,长势弱
(2)	0.5	0.1	5	芽生长较缓慢,侧芽超过顶芽
(3)	1.0	0.1	6	芽生长缓慢,成丛生状
(4)	0.1	0.5	5	芽生长较迅速,无愈伤
(5)	0.5	0.5	5	芽生长迅速,无愈伤
(6)	1.0	0.5	6	芽生长较迅速,无愈伤
(7)	0.1	1.0	5	芽生长迅速,叶柄基本出现愈伤
(8)	0.5	1.0	5	芽生长迅速,叶柄基本出现愈伤
(8)	1.0	1.0	5	芽生长迅速,叶柄基本出现愈伤

表 3 不同激素浓度对比对增殖的影响

Table 3 The effects of different phytohormones on proliferation				
编号	BA/ (mg · l ⁻¹)	IBA/ (mg · l ⁻¹)	增殖 系数	材料 状态
(1)	0.1	0.1	2.7	生长正常,无愈伤
(2)	0.3	0.1	2.3	生长正常,无愈伤
(3)	0.5	0.1	2.1	生长正常,无愈伤
(4)	0.1	0.3	4.2	生长正常,无愈伤
(5)	0.3	0.3	8.2	生长正常,无愈伤
(6)	0.5	0.3	9.2	生长正常,无愈伤
(7)	0.1	0.5	2.7	生长正常,但根部肿大
(8)	0.3	0.5	3.2	生长正常,根部有愈伤
(9)	0.5	0.5	3.5	生长正常,但根部出现大量愈伤

同样通过调整 BA 和 IBA 的浓度和比例来协调顶芽和腋芽的生长,使其处于一个对整体较有利的水平。由表 1 可以看出,并非 BA 与 IBA 比值越高增殖系数越大。在试验中观察到,顶芽的快速生长为增殖系数的提高提供了基础,而若顶芽不能快速生长,而材料整体将长期处于较弱小的体积,很难有高的增殖系数。添加 0.5 mg/L IBA 的培养基中材料普遍愈伤化,可见高生长素的培养基不适于八仙花茎段的培养,任叔辉等^[8]的研究也表明了这一点。通过表中数据比较,可以明显看出,(6)号为最佳的增殖培养基(如图 2)。方差分析表明:BA 对八仙花芽的诱导呈极显著差异($p = 0.01$),IBA 对愈伤组织的诱导呈显著差异($p = 0.0140$)。对诱导起主要作用的为 BA,其次为 NAA 与 IBA 存在交互作用并且对愈伤组织诱导有显著差异($p = 0.0317$)。

表 4 不同培养基及 IBA 浓度对生根的影响

Table 4 The effects of different culture media and density of IBA on rooting					
编号	培养基	IBA/ (mg · L ⁻¹)	诱导率/ 诱导根数	根毛区长/ cm	根的状态
(1)	MS	0.1	39/ 4.0	0	只形成根原基,但没有长长
(2)		0.2	34/ 4.4	0	只形成根原基,无根的伸出
(3)		0.3	32/ 4.3	0	有根原基的出现,但无根伸出
(4)		0.4	37/ 3.7	0	长到 0.2~0.3cm 左右即停止生长
(5)		0.5	35/ 4.1	0	长到 0.2~0.3cm 左右即停止生长,有愈伤形成
(6)	1/2MS	0.1	83/ 5.8	1.3	生长速度快,形态正常
(7)		0.2	87/ 6	1.1	生长速度快,形态正常
(8)		0.3	100/ 8.3	1.1	生长速度快,形态正常
(9)		0.4	100/ 9	0.3	生长速度偏慢
(10)		0.5	100/ 8.2	0	生长速度慢,有愈伤形成

3 结论与讨论

消毒时先用 70 %酒精浸泡 30 s,利用酒精的强渗透力,再用 0.1 %升汞浸泡 10 min,可取得理想的消毒效果。八仙花的诱导和增殖均以 MS 为基本培

2.3 生根培养

由表 3 可以看出,利用 1/2MS 培养基能成功诱导八仙花生根,在一定激素浓度下虽然 MS 培养基也能诱导根原基的形成,并有部分根的出现,但达不到移栽的要求(如图 3-a),不适宜八仙花的生根培养。在 1/2MS 培养基中,随着 IBA 浓度的增大,诱导率有所升高,且诱导根数也有所增多。根毛区作为根的生理功能的一个重要指标,当 IBA 浓度达到 0.4 mg/L 时,大大的减少,增大到 0.5 mg/L 时则完全没有根毛区。综合比较各项参数,以(8)号为最佳生根培养基(如图 3-b)。方差分析表明:IBA 对于八仙花不定芽的生根有重要的影响。

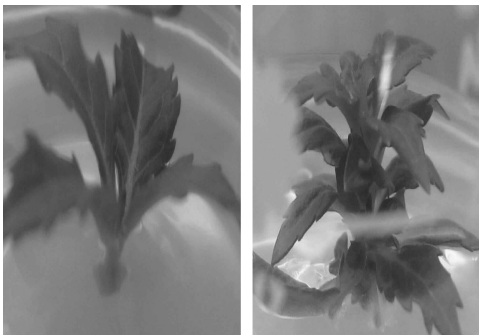


图 3 MS and 1/2MS

Fig. 3 The root of MS and 1/2MS

2.4 炼苗及移栽

待根长到 2 cm 时打开瓶口炼苗 3 d,移栽基质参考黄作喜等^[10]扦插苗移栽的基质(珍珠岩:腐殖土 = 1:2),用多菌灵灭菌,移栽后用地膜保湿 7 d 以上,移栽到温室大棚中,成活率达 80 %以上。

培养基效果较佳,激素的浓度对比对八仙花的培养效果有着显著的影响;在启动培养时添加 0.5 mg/L BA 和 0.5 mg/L IBA 能取得较好效果;添加 0.5 mg/L BA 和 0.3 mg/L IBA 可达到最快的增殖速
(下转第 108 页)

[J]. 西华师范大学学报, 2003, 12(4) : 390- 395.

[8] 许桂芳, 吴铁明, 向佐湘. 干旱胁迫对两种过路黄抗性生理生化指标的影响[J]. 作物研究, 2006(2) :138 -140.

[9] 许桂芳. 2 种过路黄抗旱生理特性的研究[J]. 西北林学院学报, 2007, 22(5) :12-14.

[10] 周筱玲, 廖亮, 陈晔, 等. 两种过路黄的核型研究[J]. 广西植物, 1999, 19(3) :236-238.

[11] 黄珂, 吴铁明, 吴哲. 过路黄组植物研究进展及园林应用展望[J]. 林业调查规划, 2007, 32(4) :47-50.

[12] 李冰岚, 王健生, 陈宗良. 点腺过路黄的生药鉴定[J]. 时珍国药研究, 1998, 9(3) :247-248.

[13] Liao L , Xu LL , Tian XH. Study of chromosome of four species in *Lysimachia* from China[J]. Wuhan Bot Res ,1996, 14(4) :370-372.

[14] 郭剑. 聚花过路黄的化学成分研究[J]. 天然产物研究与开发, 1997, 10(4) : 12-14.

[15] 薄锋, 袁玲, 张永和. 金钱草总黄酮提取物的抗血栓作用研究[J]. 长春中医药大学学报, 2007, 23(2) :10-11.

[16] Tanaka A , M Nizume. Karyomorphological studies on species differentiation in some species of *Lysimachia* [J]. La Kromsomo 1978. II-1 :1-12 301-312.

[17] Tanaka A , M Hizume. Karyomorphological studies on species differentiation in some species of *Lysimachia* II. Chromosomal interrelationships of Japanese species[J]. La Kromosomo , 1980 , II-1 ,8-19:515-525.

[18] Kohd H, Takeda O , Tanaka S. Molluscicidal triterpenoidal saponin from *Lysimachia sikokiana* [J]. Chem Pharm Bull , 1989 , 37: 3304.

[19] Shen LD , Tao FR. Studies on the chemical of the herb *Lysimachia christinae* Hance [J]. Zhong Yao Tong Bao ,1988 ,13(7) :31-34 ,63.

(上接第 103 页)

度。生根时用 1/2MS + IBA0.3 mg/L 可得到最好效果。苗子的质量和移栽后的保湿是确保移栽成活的两大关键因素, 健壮的苗子移栽后用地膜保湿 7 d 以上一般都可以成活。

参考文献:

[1] 杨杰雄. 花中珍品——八仙花[J]. 农村实用技术, 2002(6) :35.

[2] 徐振华, 王学勇. 花团锦簇八仙花[J]. 植物杂志, 1999(4) :23.

[3] 上绿. 新优植物推荐[J]. 园林, 2007(9) :71-72.

[4] 赫重运. 花团锦簇的八仙花. 花木盆景[J]. 花卉园艺, 2001(11) :16-16.

[5] 曾宋君. 五彩缤纷八仙花[J]. 园林, 2003(5) :15-16.

[6] 刘锦霞, 杨兰廷. 八仙花组培苗促成栽培[J]. 经济林研究, 2007(3) :61-64.

[7] 刘锦霞, 杨兰廷. 多效唑对八仙花组培苗营养生长及成花的影响[J]. 北方园艺, 2007(6) :205-207.

[8] 任叔辉. 八仙花的组织培养与快繁技术[J]. 防护林科技, 2006(1) :10-11.

[9] 龚伟, 王米力, 石大兴. 八仙花离体培养和植株再生[J]. 植物生理学通讯, 2003(6) :624.

[10] 黄作喜, 王育章. 基质配比及生长调节剂对八仙花扦插生根的影响[J]. 天津农业科学, 2005(4) :10-12.

[11] 李俊明. 植物组织培养技术教程[M]. 北京: 中国农业大学出版社. 1992.