

玉簪新优品种离体培养技术的研究

陈必胜¹, 莫健彬¹, 杜永芹^{2*}, 黄 梅¹(¹上海植物园, 上海 200231; ²上海市农业科学院作物林果研究所, 上海 201106)

摘 要: 以最新引进玉簪系列品种为试材进行离体快繁技术研究, 结果表明: 以休眠终期玉簪芽尖为外植体进行培养成功率为 69.7%; 适合多数品种的增殖培养基 MS + 6-BA 3.0 mg/L + IBA 0.1 mg/L, 繁殖系数最高达 4.9 倍; 适宜的生根培养基 MS + ABT 0.3 mg/L, 生根率达 96.5%, 同时生产周期缩短; 草炭 + 珍珠岩 (v/v = 2/1) 是玉簪生长较为理想的移栽基质。

关键词: 玉簪; 新优品种; 快繁体系

中图分类号: S682.1 **文献标识码:** A

玉簪属 (*Hosta*) 为玉簪科 (原属百合科) 多年生宿根草本, 主要分布于亚洲温带和亚热带地区, 该属共有 43 个种, 其中 4 种产于中国^[1]。玉簪属植物株型、叶色叶型、叶片质地及花色花型丰富, 具有较高的观赏价值, 在国外广泛用于园林造景和商品化盆栽, 为美国销量较大的草本花卉^[2-4]。玉簪属植物的研究在我国起步较晚, 品种较少, 大多限于玉簪和紫萼。目前, 采用传统分株繁殖法, 繁殖速度太慢, 使玉簪新品种难以在短期内形成一定数量规模, 无法满足当前花卉市场的需求, 而玉簪组织培养再生植株研究国内报道尚不多见, 虞耀瑾等^[5]虽有相关研究但主要是对玉簪 S 品种进行组培器官建成中的细胞学观察; 周青等^[6]通过不同的培养基对 INN 玉簪品种的愈伤组织形成、分化等进行快繁试验。本研究以玉簪系列品种为材料, 目的在于建立一套适应性广、高效的“芽生芽”培养体系, 将选育出的玉簪新优品种在商业上快速推广, 并通过该项技术为玉簪杂交育种提供新的种质资源及进行相关的遗传改良, 培育新品种。本文报道该项研究结果。

1 材料与 方法

1.1 材 料 供试材料为引进经筛选玉簪优良品种编号为 C₂、TH-21、001 等。

1.2 方 法

1.2.1 材料消毒 取基部幼芽冲洗干净, 在 70% 乙醇中浸泡 30~40 s, 0.1% HgCl₂ 中消毒 10 min, 无菌水冲洗 4~5 次备用。

1.2.2 外植体的选择 采用 1、2 月份和 3、4 月份不同季节幼芽为接种材料, 2 周统计成活率。

1.2.3 增殖配方的确立 选用 6-BA 0.5、1.0、2.0、3.0、5.0 mg/L (以下单位同) 分别与 IAA 0.2, IBA 0.1, NAA 0.01 配合使用 15 个处理, 单独使用作为对照 (CK), 共 20 个处理, 接种后 3~4 周统计丛芽数量。

1.2.4 品种间增殖效应 将筛选出的 20 个玉簪新优品种置于相同培养基上, 3~4 周统计增殖系数。

1.2.5 诱根培养基的比较 (1) MS + ABT 0.3, (2) MS + NAA 0.3, (3) MS + IBA 0.3。培养 20 d 后统计生根率。

1.2.6 移栽基质的筛选 (1) 草炭 + 珍珠岩 (2:1), (2) 草炭 + 珍珠岩 + 园土 (2:1:1), (3) 珍珠岩 + 园土 (1:1), (4) 草木灰 + 园土 (1:1)。10 d 后观察幼苗的生长情况。

试验均以 MS 为基本培养基, 3% 蔗糖为碳源, 0.6% 琼脂粉固化, pH 5.8, 光照 9~10 h/d, 光强

收稿日期: 2006-06-13 初稿; 2007-04-25 二改稿

基金项目: 2004 年上海市绿化管理局项目 (编号: F20040308-1)

作者简介: 陈必胜 (1962-), 男, 大学本科, 高级工程师, 主要从事植物引种保护等研究工作

* 通讯作者

1 000 lx,培养温度 20 ~ 25 ℃。

2 结果与分析

2.1 取材时期影响 试验采用冬芽和春芽 2 种外植体,结果显示(表 1),取自 1 ~ 2 月的材料培养成活率为 69.7%,新梢发育早,生长又快,说明冬芽通过休眠期后,芽内积累丰富营养物质,3 ~ 4 月采用幼芽作为外植体,成活率仅为 37.2%,前者较后者成活率高 32.5%,且春季幼芽已处于萌发抽叶阶段污染率相对较高。本试验表明:玉簪芽尖的培养受外植体取材季节的影响,切取芽的时期以休眠终期较为理想。

表 1 不同时期外植体的培养效果

Table 1 Cultural results of explants at different periods

外植体 Explant	接种芽数 Number of explants	污染率/% Pollution rate	成活率/% Survival rate
冬芽 Winter bud	66	22.7	69.7
春芽 Spring bud	43	32.6	37.2

2.2 外源激素影响 玉簪增殖培养过程中生长素的加入对再生芽的分化情况见表 2, 6-BA + IAA、6-BA + IBA 和 6-BA + NAA 3 种组合反应完全不同,6-BA + IAA 协同作用不明显;IBA 和 6-BA 不同浓度配比可有效促进外植体增殖,在 IBA 浓度不变的情况下,繁殖系数随着 6-BA 浓度的增大呈相关性提高,芽增殖倍数最高达 4.9,继续增加 6-BA 至 5.0 mg/L,繁殖系数呈下降趋势,说明细胞分裂素浓度并非越高越好;与对照相比,6-BA + NAA 组合在低浓度时,繁殖系数略有增加,但 6-BA 在 2.0 ~ 5.0 mg/L 范围内其浓度的高低对繁殖系数已不产生明显影响,其增殖效果反而受到抑制,观察发现有些小苗生长畸形,表现为植株僵化、叶片发黄皱缩。研究认为 6-BA 与 IBA 适宜浓度联合使用有利于玉簪优良品种的高效再生(图 1)。

表 2 激素种类和浓度对比对芽分化的影响

Table 2 Effects of different hormones and concentrations on bud differentiation

生长素 Hormone	细胞分裂素 Cytokinin 6-BA					mg · L ⁻¹
	0.5	1.0	2.0	3.0	5.0	
—	2.1	2.2	2.6	3.6	2.5	2.5
IAA 0.2	2.5	2.5	2.7	3.6	2.8	2.8
IBA 0.1	2.8	3.0	3.4	4.9	4.1	4.1
NAA 0.01	2.7	2.3	1.3	1.5	1.6	1.6



图 1 玉簪的再生芽

Fig. 1 Regeneration buds of *Hosta plantaginea*



图 2 复合型促根剂 ABT 对玉簪的发根效果

Fig. 2 Rooting effects of complex hormone ABT on *Hosta plantaginea*

2.3 基因型影响 玉簪优良品种在相同培养基和培养条件下再生能力表现不一(表 3),20 份材料平均繁殖系数在 1.7 ~ 4.9 变幅范围内,说明在继代培养过程中玉簪不同基因型再生苗增殖效应存在一定差异。Meyer 等^[7]研究发现:对于工厂化组织培养来说,花叶玉簪品种不适宜采用经过愈伤脱分化阶段繁殖,主要是由于叶色嵌合性状易发生变异。本试验以促进腋芽增殖产生小苗的繁殖途径,多数品种增殖比率为 1:3 左右,其中 C₂ 繁殖系数最高,品种 TH-8 和 71 次之,分别达 4.9、4.3 和 3.8,筛选出的增殖培养基具有广泛性和高效性。

2.4 生根剂影响 由表 4 可知,玉簪在 3 种生根培养基中诱根效果各异,在同一浓度下,经 ABT 处理的试管苗生根率为最高 96.5%,比使用 IBA 和 NAA 处理生根率分别高 12.6% 和 24.3%,差异达极显著水

平 从根生长状况看,NAA、IBA 作用下产生的根短而少或较细长,使用 ABT 发根速度快,而且根系数量和质量表现均佳,植株生长健壮(图 2),说明在本试验范围内,ABT 对玉簪组培苗生根促进作用优于 IBA 和 NAA。

2.5 移栽基质影响 表 5 可见,除处理 A 一株虫食外,移栽成活率近 100%,在短期内 4 个处理玉簪地上部分表现良好,但地下部分生长由于介质的通透性有明显差异。处理 A 植株生长势强,最长根与最长叶分别为 4.5 cm 和 10.5 cm,根系白,根毛呈现,新生根系 3 根以上,伸长 > 1 cm,与处理 A 相比,处理 C 和 D 虽有新根长出但略细,且处理 D 次于 C,处理 B 几乎未见新根萌发,试验结果以草炭 + 珍珠岩(2:1)对玉簪生长环境最为适宜(图 3,4)。

表 3 不同玉簪品种再生苗增殖效应

Table 3 Multiplication effect of regeneration plantlets of different varieties

品种代号	接种数	幼芽总数	繁殖系数
Variety code	Total buds	Total new shoots	Propagation coefficient
C ₁	27	73	2.7
C ₂	24	117	4.9
001	30	109	3.6
8	20	52	2.6
24	16	48	3.0
45	15	25	1.7
64	12	30	2.5
71	18	68	3.8
146	10	20	2.0
216	13	39	3.0
443	17	35	2.1
461	16	48	3.0
497	20	36	1.8
495	12	30	2.5
TH-1	15	44	2.9
TH-8	15	65	4.3
TH-19	22	55	2.5
TH-21	24	64	2.7
TH-26	18	63	3.5
TH-39	19	70	3.7

表 4 不同生根物质对玉簪继代苗发根效应

Table 4 Effects of different root-promoting hormones on rooting rate of regeneration plantlets of *Hosta plantaginea*

生根剂	培养芽数	生根苗数	生根率/%	显著性测验	
Hormone	Number of cultured buds	Number of rooted explants	Rooting rate	Significance test	
				5%	1%
ABT	85	82	96.5	a	A
IBA	87	73	83.9	b	B
NAA	90	65	72.2	b	B

表 5 不同基质对玉簪移栽苗生长影响

Table 5 Effects of different substrata on growth of transplanted plantlets of *Hosta plantaginea*

处理	最长根/cm	最长叶/cm	叶宽/cm	叶数	成活率/%
Treatment	Longest root	Longest leaf	Leaf width	Number of leaves	Survival rate
A: 草炭 + 珍珠岩	4.5	10.5	1.5	7.2	98.8
Turf + perlite					
B: 草炭 + 珍珠岩 + 园土	2.8	9.8	1.2	7.0	100
Turf + perlite + garden soil					
C: 珍珠岩 + 园土	3.4	10.0	1.5	7.0	100
Perlite + garden soil					
D: 草木灰 + 园土	3.7	9.6	1.5	6.5	100
Plant ash + garden soil					



图 3 不同基质中玉簪组培苗

Fig. 3 Tissue-cultured plantlets in different substrata



图 4 草炭和珍珠岩中生长的幼苗

Fig. 4 Plantlets growing in turf and perlite

3 讨论

3.1 引进玉簪新优品种不仅在叶形、叶色、大小和纹理及适应性等方面存在较大差异,同时也表现在组培快繁过程中不同品种芽尖启动和现绿时间、成活率及增殖系数与生根比率均有不同,同一品种不同取材时期培养效果呈现明显差异。

3.2 玉簪在离体培养中幼芽经增殖培养产生大量丛芽,未见愈伤组织产生,获得的幼苗与对照(母体)相比无明显变异,表明玉簪组培苗通过“芽生芽”快繁能较好地保持其品种特性,本试验结果与虞耀瑾等^[5]发现试管增殖在侧芽形成同时伴有不定芽产生现象部分不同,可能是由于品种或培养基激素不同所致。

3.3 生长素对根的分化是必需的,大量研究指出,在普通生长素中对根的再生作用以 NAA 最有效^[8]。本研究采用 ABT 植物生长调节剂替代 NAA、IBA,在玉簪试管苗生根过程中取得较好的效果,明显缩短生根时间(10 d),提高成活率。笔者认为由于根原基是由苗基部茎维管外侧细胞分裂而成,而 ABT 生根粉是一种复合型的植物生根促进剂,与单一生长素相比,它的添加更有利于不定根诱导,同时可能使幼苗体内产生部分内源激素^[9],从而增强根系的活力,促进幼苗的生长。

参 考 文 献

- [1] Grefell D. The Gardener's Guide to Growing Hostas[M]. Portland, Oregon: Timber Press, 1996.
- [2] 李钱鱼,夏宜平. 玉簪属植物种质资源及其园林应用现状[J]. 中国园林, 2004(2): 77-79.
- [3] 施爱萍,张金政,张启翔,等. 不同遮阴水平下 4 个玉簪品种的生长性状分析[J]. 植物研究, 2004, 24(4): 847.
- [4] 张金政,施爱萍,孙国峰,等. 玉簪属植物研究发展[J]. 园艺学报, 2004, 31(4): 550-552.
- [5] 虞耀瑾,王泰哲. 玉簪组织培养器官的建成[J]. 上海农业学报, 1996, 12(1): 23-27.
- [6] 周青,任旭琴,俞建飞,等. 玉簪的组培快繁技术研究[J]. 江苏农业科学, 2005(6): 89-91.
- [7] Meyer M M Jr. In vitro propagation of *Hosta sieboldiana*[J]. Hort Science, 1980, 15(6): 737-738.
- [8] 奚元龄,颜昌敬编译. 植物细胞培养手册[M]. 北京:农业出版社, 1992: 108.
- [9] 陈士良. ABT6 号、7 号新型植物生长调节剂对棉花的生理生化效应的研究[C]//王涛,陶章安,尤爱华主编. 绿色植物生长调节剂应用技术论文集(第 1 集). 北京:中国林业出版社, 1997: 473-476.

Study on technique of in vitro culture of new and fine varieties of *Hosta plantaginea*

CHEN Bi-sheng¹, MO Jian-bin¹, DU Yong-qin², HUANG Mei¹

(¹Shanghai Botanical Garden, Shanghai 200231, China; ²Forestry and Pomology Research Institute, Shanghai Academy of Agricultural Sciences, Shanghai 201106, China)

Abstract: The rapid propagation of newly introduced *Hosta plantaginea* varieties was studied by means of tissue culture. The results showed that when the shoot tips at the end of dormancy period were used as explants, the survival rate was 69.7%. The multiplication medium that was suitable for most varieties of *Hosta plantaginea* was MS + 3.0 mg/L 6-BA + 0.1 mg/L IBA, and the highest propagation coefficient reached 4.9 times. The appropriate rooting medium was MS + 0.3 mg/L ABT, and the rooting rate could be up to 96.5%. In the meantime, the period of culture was shortened. Turf + perlite (v/v = 2/1) was a good transplant substrate for the plantlet growth.

Key words: *Hosta plantaginea*; New and fine varieties; Rapid propagation technology