

## 花叶菖蒲组织培养与快繁技术试验

许彩霞<sup>1</sup>, 汤庚国<sup>2</sup>, 易军<sup>3</sup>

(1. 浙江省宁波市鄞州区建设局, 浙江 宁波 315100; 2. 南京林业大学森林资源与环境学院, 江苏 南京 210037;

3. 宁波市城市职业技术学院, 浙江 宁波 315100)

**摘要:** 取花叶菖蒲的茎尖作外植体, 培养于附加不同激素配比的 MS 培养基上进行不定芽诱导、增殖及试管苗生根等试验, 结果表明, 6 种配比培养基中, 最适合花叶菖蒲不定芽诱导的培养基为 MS + 6-BA 5 mg/L; 增殖培养基为 MS + 6-BA 5 mg/L + NAA 0.5 mg/L; 试管苗生根诱导前在空白 MS 培养基先壮苗培养一代, 生根培养基为 MS + NAA 0.5 mg/L。试管苗不经炼苗可直接出瓶, 移栽于蛭石: 珍珠岩为 1:1 的混合基质中, 成活率可达 98% 以上。

**关键词:** 花叶菖蒲; 组织培养; 茎尖; 快速繁殖

**中图分类号:** S682.36

**文献标识码:** A

花叶菖蒲 (*Acorus calamus* 'Variegatus'), 是天南星科 (Araceae) 菖蒲属 (*Acorus*) 多年生挺水草本观叶植物, 叶基生, 剑状线形, 叶两边具有美丽的条纹, 极为耀眼。生长较菖蒲慢, 其它习性和性状同菖蒲。花叶菖蒲叶色鲜艳, 端庄秀丽, 是一种新优的观叶水生花卉。在我国, 目前应用于园林水景和湿地景观的水生花卉新品种数量很少, 尤其是花叶菖蒲的应用几乎是空白, 因此, 利用组织培养技术快速繁殖是解决花叶菖蒲市场应用需求的有效途径。本实验旨在筛选适合的培养基配方, 为花叶菖蒲的工厂化生产提供理论依据。

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料

取自上海上房绿建景观园艺公司水生花卉苗圃地, 以春季花叶菖蒲根茎两侧萌发的茎尖为外植体。

#### 1.2 方法

**1.2.1 材料处理和外植体灭菌** 将外植体用利刃从田间取回, 清洗干净, 先用稀肥皂水浸泡 5~10 min, 后用流动的自来水冲洗 20 min 左右, 在无菌的环境条件下用 70% 乙醇处理 30 s 后, 无菌水冲洗 2 次, 转入 0.1% HgCl<sub>2</sub> 消毒 10 min, 无菌水冲洗 4~6 次后, 切取 2~5 mm 大小茎尖作为外植体, 接种于适当的培养基上<sup>[1]</sup>。

#### 1.2.2 试验处理

**1.2.2.1 不定芽的诱导** 激素的浓度组合以 MS 为基本培养基附加不同浓度的 6-BA (6-苄基腺嘌呤) 和 NAA (萘乙酸)。6-BA 处理: 0.5、2.0、5.0、10.0 mg/L; NAA 处理: 0、0.1、0.5、1.0 mg/L。

将 6-BA 和 NAA 按两因素正交设计, 共有 16 个组合。定期统计有芽分化的外植体个数及其分化的芽数量, 测芽的平均高。

**1.2.2.2 继代与增殖培养** 继代培养基为: ① MS + 6-BA 2.0 mg/L + NAA 0.5 mg/L; ② MS + 6-BA 5.0 mg/L; ③ MS + 6-BA 5.0 mg/L + KT (激动素) 0.5 mg/L; ④ MS + 6-BA 5.0 mg/L + NAA 0.5 mg/L; ⑤ MS + 6-BA 5.0 mg/L + KT 0.5 mg/L + NAA 0.5 mg/L; ⑥ MS + 6-BA 10.0 mg/L + NAA 0.5 mg/L。

收稿日期: 2006-01-09; 修回日期: 2006-01-25

作者简介: 许彩霞 (1975-), 女, 江西广丰人, 工程师, 硕士, 从事园林植物应用与景观设计。

1.2.2.3 不定根的诱导与移栽 试验设两组，一组直接进行生根诱导，另一组先在空白的 MS 培养基上壮苗培养一代，再进行生根诱导。生根培养基为 MS 培养基附加 IBA 0.1、0.5mg/L 或 NAA 0.1、0.5mg/L，共 4 个处理组合：①MS + NAA 0.1 mg/L；②MS + NAA 0.5 mg/L；③MS + IBA 0.1 mg/L；④MS + IBA 0.5 mg/L。苗生根后，移至蛭石与珍珠岩按 1：1 混合的基质中，保持湿度。

上述各培养基中含蔗糖 3%、琼脂 6.0 g/L，灭菌前 pH 调至 6.0，121℃高温、0.11MPa 高压灭菌 20 min。培养温度为 25℃，光照时间 12 h/d，光照强度 2 000 lx。重复次数为 20 次。

2 结果与分析

2.1 不定芽的诱导

实验发现，花叶菖蒲茎尖成苗的时间较短，一般在 2 个星期后即可长成茎尖苗，但在初代培养过程中，不容易分化出芽。在不同的培养基配方中，其出芽的数量与时间的长短差异很大。重复 3 次的实验结果表明，花叶菖蒲 6 种培养基中，最适合的诱导培养基组合为 MS + 6-BA 5.0 mg/L，接种 30 d 后有部分外植体芽基部萌发出小芽，数量多者可达到 3 芽。

在实验中观察到生长素 6-BA 的浓度对花叶菖蒲芽诱导的影响较大，在一定范围内，外植体芽的诱导率随 6-BA 浓度的增大而上升，当 6-BA 的浓度增大到 10.0 mg/L 时，外植体芽的诱导率反而出现下降的趋势，如表 1。

表 1 培养基中不同 6-BA 浓度对芽诱导率的影响

| 6-BA/mg · L <sup>-1</sup> | 接种数/个 | 有芽分化的外植体数/个 | 芽诱导率/% |
|---------------------------|-------|-------------|--------|
| 0.5                       | 60    | 0           | 0      |
| 2.0                       | 60    | 4           | 6.67   |
| 5.0                       | 60    | 29          | 48.33  |
| 10.0                      | 60    | 17          | 28.33  |

2.2 不同激素水平对不定芽增殖的影响(表 2)

培养 3 周后统计每芽增殖数和平均芽高，发现在 6-BA 浓度为 5.0 mg/L 以下浓度时，平均每芽的增殖倍数随 6-BA 浓度的增大而上升，6-BA 浓度增大到 5.0 mg/L 时，芽增殖倍数达到最大值，平均为 6.13 倍，继续增大 6-BA 的浓度到 10.0 mg/L 时，芽的增殖受到抑制，每芽增殖倍数急剧下降为 2.95 倍。6-BA 对芽

表 2 培养基中不同激素浓度组合对继代的影响

| 6-BA 浓度 /mg · L <sup>-1</sup> | NAA 浓度 /mg · L <sup>-1</sup> | KT 浓度 /mg · L <sup>-1</sup> | 平均每芽增殖倍数 | 芽平均高 /cm |
|-------------------------------|------------------------------|-----------------------------|----------|----------|
| 2.0                           | 0.5                          | 0.0                         | 2.55     | 2.01     |
| 5.0                           | 0.0                          | 0.0                         | 6.90     | 2.06     |
| 5.0                           | 0.0                          | 0.5                         | 5.93     | 2.01     |
| 5.0                           | 0.5                          | 0.0                         | 6.25     | 2.11     |
| 5.0                           | 0.5                          | 0.5                         | 5.45     | 2.04     |
| 10.0                          | 0.5                          | 0.0                         | 2.95     | 1.76     |

的诱导增殖效果好于 KT，在培养基中加入 KT 后，芽的增殖倍数与芽平均高均比对照低，说明 KT 的加入不利于花叶菖蒲丛生芽的增殖。在 6 种增殖培养基配方中，以 MS + 6-BA 5.0 mg/L 的培养基配方，平均每芽的增殖倍数最高，达到 6.9 倍，但随着继代次数的增加，细胞分裂素在植株体内不断积累，出现繁殖系数越来越高的现象，导致分化出的丛生芽弱小、数量多，且出现玻璃苗现象，此时应当降低培养基中的细胞分裂素浓度或增大生长素浓度<sup>[2]</sup>。加大生长素浓度（即采用 MS + 6-BA 5.0 mg/L + NAA 0.5 mg/L 的培养基），可有效地解决丛生芽细小、生长不良的现象。因此，花叶菖蒲适合的增殖培养基配方为 MS + 6-BA 5.0 mg/L + NAA 0.5 mg/L。

值得注意的是，因为花叶菖蒲是园艺品种，叶片上鲜艳的条纹在培养时会出现褪色、全株变白、全株为青绿色等典型症状。叶片的颜色与植物激素的浓度及配比有一定的相关关系，植物激素特别是细胞分裂素的浓度起着关键的作用，当 6-BA 浓度增大到 10 mg/L 时，增殖芽明显出现褪色现象，叶边上的条纹变白，有的全株出现黄化现象。而接种于低浓度（2.0 mg/L 以下）的 6-BA 培养基增殖 2 个星期后，叶片没有出现褪色现象，而是出现个别苗全株变绿现象。5.0 mg/L 6-BA 培养基增殖芽出现的症状介于两者之间，既有全株变绿的、也会出现叶片全部发白现象。在转接 4 个星期后进行观测记录，见表 3。

表 3 不同激素浓度对增殖芽质量的影响

| 6-BA 浓度/mg · L <sup>-1</sup> | 转接芽数 | 增殖芽总数 | 典型芽数 | 典型芽占百分比/% | 典型芽症状     |
|------------------------------|------|-------|------|-----------|-----------|
| 0.5                          | 128  | 19    | 2    | 10.53     | 全株变绿      |
| 2.0                          | 140  | 287   | 16   | 5.57      | 全株变绿      |
| 5.0                          | 144  | 846   | 14   | 1.65      | 3 棵变绿、余变白 |
| 10.0                         | 132  | 335   | 32   | 9.55      | 叶片变白、条纹消失 |

### 2.3 不定芽的生根与植株再生

在试管苗生根过程中, 先在空白 MS 培养基中进行壮苗培养是必需的, 未经壮苗培养的试管苗出根时间较长, 植株长势弱, 不定根细弱、数量少, 而对照组在接种 10 d 后就可见不定根的形成。将试管苗接种到附加不同浓度 NAA 和 IBA 的生根培养基上进行生根诱导后, 苗基部先有白色不定根突起, 然后苗基部生出多条辐射状白根。实验结果表明(表 4), NAA 对花叶菖蒲生根效果较 IBA 好, 生根速度较快, 且生根率达 100%。在 NAA 的两种浓度中, 0.5 mg/L 对花叶菖蒲的生根效果要比 0.1 mg/L 效果好。在 4 种培养基中, 以 MS + NAA 0.5 mg/L 的培养基组合, 花叶菖蒲生根效果最优。

表 4 试管苗生根诱导结果

| 培养基组合 | 生根苗数量 | 出根速度<br>/d | 每苗平均根数 | 生根率/% |
|-------|-------|------------|--------|-------|
| 1     | 60    | 18         | 3.38   | 100.0 |
| 2     | 60    | 10         | 5.64   | 100.0 |
| 3     | 60    | 20         | 2.35   | 84.5  |
| 4     | 60    | 16         | 2.81   | 95.3  |

在生根实验诱导的同时, 切取生长旺盛的 2~3 个芽直

接插入到已灭过菌的蛭石与珍珠岩按 1:1 混合的基质中进行微扦插实验, 保持湿度, 第 5 天观察发现, 插下去的苗 2/3 因污染而死亡, 其余均出现叶片枯黄、萎蔫现象, 继续培养未见有生根现象。

已诱导生根的试管苗在移栽时, 无须炼苗, 直接移栽入介质中, 初期细心管理, 注意保持适当的湿度和温度, 成活率达 98% 以上。

## 3 讨论

### 3.1 植物激素对丛生芽分化的影响

植物激素的种类、浓度、相关配比和处理方式对花叶菖蒲芽的分化具有重要的调控作用。生长素有助于诱导器官分化, 促进培养物的生长, 而细胞分裂素具有促进细胞分裂和器官分化等作用。6-BA 和 NAA 两种化学合成的植物激素结构比较稳定, 两者配合效果较好, 所以采用 6-BA 和 NAA 组合用于诱导丛生芽的植物激素。研究中发现, 低浓度(2.0 mg/L)的 6-BA 丛生芽增殖率不高, 以 5.0 mg/L 的 6-BA 诱导丛生芽的形成效果最佳。高浓度(10.0 mg/L)的 6-BA 反而抑制了丛生芽的分化, 使得已分化的丛生芽不能伸长, 容易产生矮小的苗。而且多次继代于高浓度的细胞分裂素的培养基上, 易增加苗的变异和外植体的玻璃化现象。前人的很多研究证明, 适当浓度的 KT 和 6-BA 的配合有利于丛生芽的增殖<sup>[3,4]</sup>。但在本实验中, KT 的加入不利于丛生芽的增殖, 这可能与植物材料不同有关。

NAA 对花叶菖蒲芽的分化影响不大, 在本实验中, 不加生长素的培养基便可诱导出大量的丛生芽。但随着继代次数的增加, 细胞分裂素在植株体内积累量达到一定程度时, 诱导出的丛生芽易出现停止伸长, 芽矮小呈玻璃状, 且纤细瘦弱, 从而影响了芽的分化和芽的质量。因此, 适当浓度的 NAA 对花叶菖蒲芽的诱导增殖是必要的, 以 0.5 mg/L 的浓度对丛生芽的增殖效果较理想。

### 3.2 试管苗的变异现象

由于花叶菖蒲为园艺品种, 其性状在组培过程中易发生变异现象。试管苗的变异与培养基中的激素浓度有着一定的关系, 在高浓度的激素作用下, 细胞分裂和生长加快, 不正常分裂频率增多, 再生植株变异也增多<sup>[2]</sup>。在本实验中发现, 当细胞分裂素浓度过高时, 试管苗易出现褪色变白现象, 细胞分裂素偏低, 试管苗中有整个芽变绿, 花叶症状消失而退化为原有的普通品种现象。其原因可能是施加外源植物激素在组培过程中引起试管苗内源激素含量的变化, 进而改变了试管苗的外观症状。

### 参考文献:

- [1] 韦三立. 花卉组织培养[M]. 中国林业出版社, 2000. 8.
- [2] 熊丽, 吴丽芳. 观赏花卉的组织培养与大规模生产[M]. 北京: 化学工业出版社, 2002. 12.
- [3] 王进茂, 郑均宝. 花烛组织培养的研究[J]. 河北林果研究, 2000 (1): 71-76.
- [4] 江如蓝, 张施君. 红掌的组织培养和快速繁殖[J]. 仲恺农业技术学院学报, 2002 (4): 52-56.

在把组培苗的培养基洗净后,放在阴凉避风处 2~3 d,种球移植的成活率依然可达到 80%以上,所以百合种球通过组培快繁的方式生产,完全可以经过长途运输发送到更远的地方且不会明显降低种球的成活率。

### 参考文献:

- [1] 洪波. 百合花卉的研究综述[J]. 东北林业大学学报, 2000, 28(2): 68-70.
- [2] 余小涵. 百合组织培养技术研究. 林业科技开发[J]. 2002, 16(6): 27-29.
- [3] 龚学, 赵祥云, 陈新露, 等. 促进观赏百合试管苗移栽成活的研究[J]. 园艺学报, 1996, 23(1): 73-77.
- [4] 徐琼, 王有琪, 张文利, 等. 不同基质配比对东方系百合生长的影响[J]. 甘肃农业大学学报, 2004, 39(1): 59-61.
- [5] 赵庆芳, 曾小英, 丁兰, 等. 东方百合组织培养和快速繁殖研究[J]. 西北师范大学学报(自然科学版), 2003, 39(1): 66-68.
- [6] 王丽艳, 梁国鲁. 百合的离体培养及再生植株的快速繁殖[J]. 贵州农业科学, 2003, 31(6): 19-21.
- [7] 张立娟, 于亚军, 周其兴, 等. 新铁炮百合试管苗的生根与移栽技术研究[J]. 北方园艺, 2004(4): 72-73.

## Transplanting Test of Lily Tube Tissue Cultured Seedling

LI Xiang-yang, ZENG Bing-shan, QIU Zhen-fei, LIU Ying

(Tropical Forestry Institute of CAF, Guangzhou 510520, China)

**Abstract:** Study was carried out on effect of substrate, seed ball size and air drying days, transplanting season on survival rate, rooting, leaf and bud growth of transplanted Lily. The result showed that the survival rate of seed ball still reached over 80% with 100% perlite or 50% perlite+50% peaty soil as substrate, seed ball diameter  $\geq 0.5\text{cm}$  and air dried 2-3 days, transplanted in spring or autumn. With suitable substrate, seed ball size and transplanting season, the tissue cultured Lily seedling could reached 90% even without hardening.

**Key word:** Lily; transplanting; tissue cultured seedling

[illegible]

(上接第25页)

# Study on Tissue Culture and Rapid Propagation of *Acorus calamus* 'Variegatus'

XU Cai-xia<sup>1</sup>, TANG Gen-guo<sup>2</sup>, YI Jun<sup>3</sup>

(1. Yinzhou Construction Bureau of Ningbo, Ningbo 315100, China;

**2. Nanjing Forestry University College of Forest Resources and Environment, Nanjing 210037, China;**

3. Ningbo Urban Vocational College, Ningbo 315100, China)

**Abstract:** The shoot apexes of *Acorus calamus* 'Variegatus' were cultured as explant on MS media with different combinations of hormone for adventitious bud induction, multiplication and rooting. The results showed that the best medium for adventitious bud induction was MS + 6-BA 5.0 mg/L, for multiplication was MS + 6-BA 5.0 mg/L + NAA 0.5 mg/L, and for rooting, MS + NAA 0.5 mg/L after one generation in blank MS medium. Without hardening, seedling could transplanted to mixed medium with vermiculite : perlite = 1 : 1 and survival rate was above 98%.

**Key words:** *Acorus calamus* 'Variegatus'; tissue culture; shoot apex; rapid propagation