

萱草种子无菌培养及快繁技术研究

张文莲, 安娜

(西宁市城南苗圃, 青海 西宁 810001)

摘要:通过对萱草种子进行了无菌培养, 研究其快繁技术。结果表明, 萱草的组培快繁中, 播种芽苗最佳脱分化诱导培养基为 MS + BA $0.5\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ + NAA $0.2\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$; 最佳再分化培养基为 MS + BA $0.5\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$; 最佳壮苗培养基为 MS + BA $0.2\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$; 最佳生根培养基为 $1/2\text{MS} + \text{NAA} 0.5\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$; 最佳炼苗基质为草炭 + 珍珠岩 (7: 3)。

关键词:萱草; 种子; 无菌培养; 快繁技术

中图分类号: S682.1

文献标识码: A

文章编号: 1004-9967(2008)02-0017-03

Study on Sterile Culture and Rapid Breeding Technique of *Hemerocallis fulva* Seed

ZHANG Wen-lian, AN Na

(Chengnan Nursery, Xining Qinghai 810001, China)

Abstract: Rapid breeding technique of *Hemerocallis fulva* seed according to its sterile culture. The results showed the best differentiation induced culture medium for breeding bud seedlings was MS + BA $0.5\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ + NAA $0.2\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$. The best second differentiation culture medium was MS + BA $0.5\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$. The best sound seedling culture medium was MS + BA $0.2\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$. The best strike culture medium was $1/2\text{MS} + \text{NAA} 0.5\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$. The best suitable interim culture medium was meadow podzolic soil + perlite (7: 3).

Key words: *Hemerocallis fulva*; Seed; Sterile culture; Rapid breeding technique

萱草 (*Hemerocallis fulva*) 是百合科萱草属多年生宿根花卉^[1]。春季萌发后叶丛美丽, 花葶高出叶丛, 适宜作花境材料; 可丛植于路旁或疏林边, 能够很好的体现自然风光, 是优良的夏季园林花卉, 也是西宁市城市园林绿化中应用比较广泛的花卉之一^[2]。随着西宁城市绿化步伐的不断加快, 传统的分株繁殖已无法满足绿化需求。为了适应市场商品化生产的需求, 我们开展了萱草组织培养实验, 初步掌握和总结了萱草的快繁技术, 并成功繁殖了萱草组培苗万余株。

1 材料与方法

1.1 材料的来源

供试材料为城南苗圃引进的“黄花菜”品种当年采收的种子。

1.2 基本培养基选择

以 MS 培养基为基本培养基, 每个设置中均附加 3% 的蔗糖, 0.64% 的琼脂, pH 值调节为 5.8。培养温度 $20 \pm 2^\circ\text{C}$, 光照强度 2000lx, 光照时数 12h/d。

1.3 试验方法

1.3.1 种子消毒及接种

0.3% 高锰酸钾溶液浸泡 30min—流水冲洗干净—超净台上 75% 酒精浸泡 30s—无菌水冲洗 4 次—0.1% 升汞溶液浸泡 6min—无菌水冲洗 8 次—无菌滤纸吸干种子的水分—分别接种到种子诱导培养基上。

1.3.2 不定芽诱导

将从种子诱导出的愈伤组织和带不定芽的愈伤组织, 分别切成 0.5cm^3 的愈伤块和带 3 芽以上的愈伤小块分别转接到增殖培养基中进行培养观察。

1.3.3 不定根诱导

切取高 2—3cm, 具 4 片叶片的不定芽, 转接到含有不同无机盐浓度和不同激素浓度的培养基中观察生根情况。

表 1 30d 时种子发芽结果调查表

BA 浓度 ($\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$)	NAA 浓度 ($\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$)	接种数量 (粒)	发芽数量 (粒)	发芽率 (%)
0.2	0.2	28	0	0
0.5	0.2	28	7	25
1.0	0.2	28	1	3.6
2.0	0.2	28	0	0

1.3.4 生根苗的驯化及移栽

将已生根的瓶苗放置于温室, 盖 75% 遮荫布, 闭瓶驯化 3d, 开瓶 3d 后移植到消毒处理好的基质中。移栽基质选用园土、草炭 + 珍珠岩、园土 + 草炭等 3 个不同的基质, 15d 后调查成活率。

2 结果与分析

萱草的增殖繁育过程详见附图。

2.1 种子在不同培养基上的萌发

部分生有细根。具体情况见表 1。

分析结果表明, 在 NAA 含量相同的情况下, 培养基中 BA 含量为 $0.2\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 时发芽率为 0;

收稿日期: 2007-06-14

作者简介: 张文莲 (1973-), 女, 青海湟中人, 林业工程师, 目前主要从事植物组织培养和彩叶苗木的扦插繁育。电话: 0971-6272359

BA 含量为 $0.5\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 时发芽率最高;BA 含量为 $1.0\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 中有发芽现象,但发芽后生长停止;BA 含量为 $2.0\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 中发芽率为 0。结果表明萱草种子在 BA 含量为 $0.5\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 的培养基上发芽率最高。

种子接种 15d 后种子开始露白。30d 后种子具 2~4 片淡绿色叶片,株高 0.5~2cm 不等,

表 2

50d 时愈伤组织诱导结果调查表

BA 浓度 ($\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$)	NAA 浓度 ($\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$)	接种数量 (株)	诱导数量 (株)	诱导率 (%)	生长情况
0.5	0.2	7	2	28.6%	芽苗基部诱导出淡黄色愈伤组织。
1.0	0.2	1	0	0	芽苗停止生长并死亡。

2.3 不定芽诱导及壮苗培养

2.3.1 不定芽诱导

当愈伤组织增大到 $2\text{cm}^3 \sim 3\text{cm}^3$ 大时,切成 0.5cm^3 大小的小块转接到不定芽诱导培养基上继续培养,30d 后表面出现瘤状突起,45d 后突起发育成不定芽。具体诱导结果见表 3。分析可知,

表 3

不同培养基类型对不定芽诱导的影响

BA 浓度 ($\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$)	NAA 浓度 ($\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$)	接种愈伤组织 数量(块)	诱导出不定 芽的数量	不定芽诱导 率(%)	增殖不定芽 数量(株)	增殖 倍数
0.2	0	50	20	40	95	3.7
0.5	0	50	23	46	115	4.0
0.2	0.2	50	11	22	45	2.7
0.5	0.2	50	13	26	55	3.2

2.3.2 壮苗培养

观察接种到不定芽诱导培养基中的带不定芽的愈伤块,20d 时原不定芽有明显的生长,高度 2~13cm 不等。在不定芽周围分化出新愈伤组织。30d 观察,原不定芽基部生长健壮且带淡紫晕,新愈伤上又分化出不定芽,同时,也诱发“玻璃化苗”的发生,不同培养基类型发生程度不同,具体见表 4。表 4 表明,在萱草增殖转接中,玻璃化苗的数量也随 BA 含量的增高而增高,即玻璃化苗的形成与 BA 含量成正相关,BA 含量为 $0.5\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 的培养基中比 BA 含量为 $0.2\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 的培养基中玻璃化苗的发生率高;在不含 NAA 的培养基中其玻璃化数量较少。综合各因素,选择 BA 含量为 $0.2\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$, NAA 含量为 0 的培养基作为

表 4

不同培养基对不定芽壮苗的影响统计表

BA 浓度 ($\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$)	NAA 浓度 ($\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$)	接种 量(株)	增殖后数 量(株)	增殖 倍数	壮苗数 (株)	壮苗增 殖倍数	玻璃化数 量(株)	玻璃化率 (%)
0.5	0.2	50	210	4.2	100	2.0	12	24
0.5	0	50	230	4.6	110	2.7	9	18
0.2	0.2	50	190	3.8	115	2.3	7	14
0.2	0	50	205	4.1	120	2.4	6	12

表 5

不同 MS 浓度对诱导不定根培养的影响

MS 浓度	NAA 浓度 ($\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$)	接种数量 (株)	生根数量 (株)	生根率 (%)	生根情况
MS	0	100	38	38	不定根粗细均匀,根长较长,数量少
MS	0.03	100	49	49	不定根粗壮,根长较长,数量少
1/2 MS	0.03	100	71	71	不定根粗细均匀,根长较长,数量少

2.4.2 同一生长素不同浓度对诱导不定根的影响

2.2 愈伤组织诱导

在诱导培养基上继续培养无菌播种苗,40d 后芽基部出现淡黄色愈伤组织,50d 后愈伤组织上出现淡绿色小突起。具体结果见表 2。分析结果表明,萱草播种苗在诱导培养基 MS + 6 - BA $0.5\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ + NAA $0.2\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 中能脱分化诱导出愈伤组织。

芽丛转接后的不定芽诱导与 BA 的含量呈正相关。同样,BA 含量为 $0.5\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 时的增殖倍数比 BA 含量为 $0.2\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 时的增殖倍数高。附加 NAA 的培养基中不定芽的诱导率和增殖倍数有所下降。所以,BA 含量为 $0.5\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$, NAA 含量为 0 时不定芽诱导率最高。

增殖继代培养基,既降低了“玻璃化”程度,提高了瓶苗的质量,又缩短了增殖壮苗的时间。在增殖继代的同时,也达到了壮苗的目的。

2.4 不定根的诱导

2.4.1 不同无机盐浓度对诱导不定根的影响

将苗高达 2~3cm,具 4 片叶的不定芽分别转接到含不同 MS 浓度的培养基上,15d 观察统计其生根情况。具体见表 5。从表 5 中可知,当 NAA 含量不变时,1/2MS 的培养基其生根率与根系生长情况明显优于 MS 培养基。表明在生根培养基中,降低盐浓度能促进不定芽的生根,与很多资料报道相同^[3]。而在 MS 含量相同,含 NAA $0.03\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$ 与不含 NAA 的培养基相比,没有明显区别,这也主要与 NAA 含量较低有关。

将苗高达 2~3cm,具 4 片叶的不定芽分别转接到含 1/2MS 和不同 NAA 浓度的培养基上,15d

观察统计其生根情况。结果见表6。表6表明,萱草无根苗的生根率在MS无机盐减半的条件下,随其NAA浓度的增加而增大。从根的生长情况看,当NAA含量超过 $1\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ 时,易生并排连

根,根数量减少,这与有些资料相同^[4]。从生根率和根系生长情况综合考虑,大量元素减半,NAA浓度为 $0.5\text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ 的培养基为萱草的最佳生根培养基。

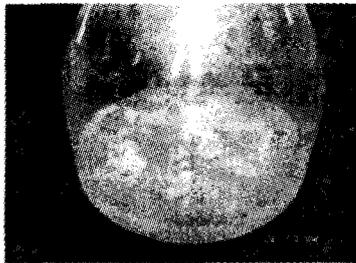
表6 同一生长素不同浓度对诱导不定根的影响

NAA含量 ($\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$)	接种数量 (株)	生根数量 (株)	生根率 (%)	生根情况
0.03	100	69	69	根系粗细均匀,根长较长,数量少
0.1	100	71	71	根系粗细均匀,根长较长,数量少
0.5	100	79	79	根系粗细均匀,根长较长,数量较多
1.0	100	86	86	根系粗细均匀,有少量并联根,根长较短,数量较多
1.5	100	87	87	根系粗壮,并联根多,根长较短,数量少

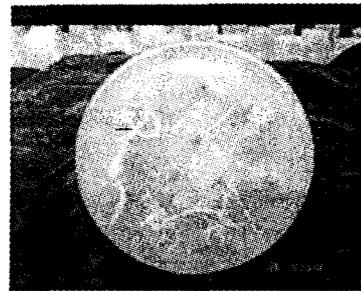
2.5 生根瓶苗的移栽结果

根据设置和试验要求,种植于不同基质中的生根苗其成活率各不相同。在园土中的移栽成活率为69%;草炭+珍珠岩中的成活率为90%,园土+草炭中的成活率为81%,分析原因珍珠岩具有较大的孔隙度,增加透气,不积水,而园土的透气性较差,成活率相对较低。

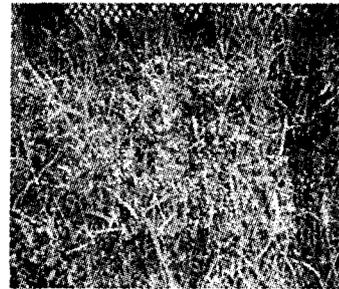
附:图片



愈伤组织分化不定芽



生根



炼苗

3 小结

3.1 萱草种子无菌快繁中,播种芽苗最佳脱分化诱导培养基为MS + BA0.5 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ + NAA0.2 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ 。

3.2 最佳再分化培养基为MS + BA0.5 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ 。

3.3 最佳壮苗增殖培养基为MS + BA0.2 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ 。



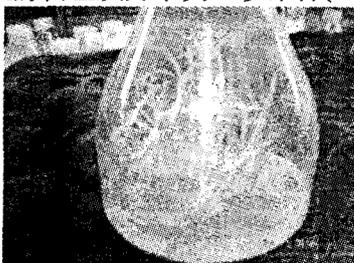
增殖



定植

3.4 最佳生根培养基为1/2MS + NAA0.5 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ 。

3.5 最佳炼苗基质为草炭+珍珠岩(7:3)。



壮苗

参考文献:

- [1] 谭文澄,戴策刚. 观赏植物组织培养技术[M]. 北京:中国林业出版社,2001.
- [2] 韦三立. 花卉组织培养[M]. 北京:中国林业出版社,2000.
- [3] 刘燕. 园林花卉学[M]. 北京:中国林业出版社,2003.
- [4] 曹孜义,刘国民. 组织培养与生物技术[M]. 兰州:甘肃科学技术出版社,1996.