

萱草花茎离体培养研究

宋 阳^{1,2}, 雷家军¹, 胡新颖¹

(1. 沈阳农业大学园艺学院, 沈阳 110161;

2. 辽宁林业职业技术学院园林系, 沈阳 110101)

摘要: 试验研究了多种因素对萱草花茎组织培养的影响。结果表明: 70%酒精 30s+0.1%升汞 10min 对花茎消毒效果最好, 污染率和成活率分别为 28.0% 和 72.0%。基因型对花茎愈伤组织诱导的影响较大, ‘金娃娃’和‘东方不败’的愈伤组织诱导率分别为 69.8% 和 44.6%, 但对愈伤组织分化的影响不大, 两个品种愈伤组织的分化率均为 82% 左右。‘金娃娃’的最适宜培养基为 MS+IBA 0.5mg/L+BA 1.0mg/L, 愈伤组织诱导率和分化率分别为 70.3% 和 89.7%。花茎不同部位的愈伤组织诱导能力从强到弱依次为上部、中部、下部。对花茎进行 10 d 暗培养有利于愈伤组织诱导, 诱导率可达 79.2%。

关键词: 萱草; 花茎; 组织培养

中图分类号: S 682.103 **文献标识码:** A

文章编号: 1001-0009(2007)01-0155-02

萱草是百合科萱草属(*Hemerocallis*) 多年生草本宿根花卉, 别名忘忧草、黄花菜等。萱草适应性强, 叶丛姿态优美, 花色花形丰富, 花期长, 是庭园、花坛及街头绿化的理想花卉。但萱草一般采用分蘖方式进行增殖, 1 株萱草每年仅可繁殖 4~5 株, 难以适应市场商品化生产的要求^[1]。因此, 建立萱草有效的离体再生和快繁体系是解决优良品种推广应用的关键问题之一。萱草离体培养在国外研究较早, Meyer (1976)^[2]、Griesbach (1989)^[3]、Saker (1998)^[4] 等先后对萱草离体培养的研究。我国对萱草组织培养研究较晚, 近些年来, 杨乃博

表 1

不同消毒方法对‘金娃娃’花茎消毒效果的影响

消毒方法	接种外植体数(块)	污染外植体数(块)	污染率(%)	成活外植体数(块)	成活率(%)
0.1% HgCl ₂ 10 min	50	18	36.0	32	64.0
70%酒精 30s+0.1% HgCl ₂ 10 min	50	14	28.0	36	72.0
5% NaClO 10 min	50	26	52.0	22	44.0
70%酒精 30s+5% NaClO 10 min	50	26	52.0	18	36.0

的影响

将‘金娃娃’的花茎外植体接种到 9 种不同的培养基上, 不同激素及浓度对比对诱导产生愈伤组织和分化的影响见表 2。可以看出, 这几种激素配比均能诱导花茎产生愈伤组织及愈伤组织分化出苗。其中培养基 MS+IBA 0.5 mg/L+BA 1.0 mg/L 对愈伤组织的诱导和分化最有效, 花茎的愈伤组织诱导率为 70.3%, 继代

(1985)、郭达初(1990)等陆续进行了研究报道, 但研究结果不尽相同^[5~11]。试验对萱草花茎组织培养过程中的影响因素进行研究, 期望建立萱草花茎培养的有效再生体系和快速繁殖途径。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试材来自沈阳植物园, 选取的两个品种为‘金娃娃’和‘东方不败’。

1.2 试验方法

1.2.1 外植体的消毒和接种 取长约 10 cm 的萱草花茎作为外植体。首先置于流水下冲洗 20 min, 然后将其切分为上、中、下三个部分。用 70% 的酒精、0.1% 升汞和 5% 次氯酸钠单独或组合使用进行消毒。共试验 4 种消毒方法, 依次为 I: 0.1% 升汞 10 min; II: 70% 酒精 30s+0.1% 升汞 10 min; III: 5% 次氯酸钠 10 min; IV: 70% 酒精 30s+5% 次氯酸钠 10 min。最后用无菌水冲洗 4~6 遍。
1.2.2 培养基和培养条件 以 MS 为基本培养基, 添加不同浓度配比的 NAA、IBA、BA 和 KT, 培养基中蔗糖 30.0 g/L (1/2MS 减半), 琼脂 6.5 g/L, pH 值为 5.8。培养温度 25 °C, 光照强度为 1 000~1 500 Lx, 光照时数是 12 h/d。

2 结果与分析

2.1 不同消毒方法对花茎消毒效果的影响

不同消毒剂及不同组合对‘金娃娃’花茎消毒效果有明显不同(表 1)。可以看出, 使用 70% 酒精与 0.1% 升汞溶液组合消毒效果最好, 花茎成活率最高, 消毒后花茎的污染率为 28.0%, 成活率为 72.0%。单独使用 5% 的次氯酸钠溶液消毒和使用 70% 酒精与 5% 的次氯酸钠溶液组合消毒的效果相近, 污染率都高达 52.0%。另外, 试验中还观察发现使用 70% 酒精与 5% 的次氯酸钠溶液组合消毒对花茎外植体的伤害较大, 接种 4d 后部分花茎外植体开始变黄或发黑, 最后死掉, 成活率仅为 36.0%。可见, 使用 70% 酒精 30s+0.1% 升汞溶液 10min 是萱草花茎较为适合的消毒方法。

2.2 不同激素浓度及对比对花茎愈伤组织诱导及分化

培养中愈伤组织的分化率为 89.7%; 在培养基 MS+IBA 0.1 mg/L+BA 2.0 mg/L 上花茎的愈伤组织诱导率最低, 仅为 36.5%; 愈伤组织在培养基 MS+IBA 1.0 mg/L+BA 0.5 mg/L 上的分化率最低, 为 52.2%。可见, MS+IBA 0.5 mg/L+BA 1.0 mg/L 是‘金娃娃’花茎初代培养和继代培养的最适培养基。

2.3 基因型对花茎离体培养的影响

将‘金娃娃’和‘东方不败’的花茎外植体接种在 MS+IBA 0.5 mg/L+BA 1.0 mg/L 培养基中(表 3), 观察不同基因型对花茎外植体诱导产生愈伤组织及愈伤组织再分化的影响。可以看出, 两个品种的愈伤组织诱

第一作者简介: 宋阳, 女, 1971 年生, 沈阳农业大学园艺学院在读硕士, 工程师。

通讯作者: 雷家军, 男, 1966 年生, 沈阳农业大学教授, 博士。

收稿日期: 2006-11-20

导率有差异较明显,‘金娃娃’为 69.8%;‘东方不败’为 44.6%。不同基因型对愈伤组织的再分化影响不大,这两个品种的愈伤组织分化率都约为 82%左右。

表 2 不同激素浓度及配比对‘金娃娃’花茎愈伤组织诱导及分化的影响

培养基 (mg/L)	接种外植体 (块)	产生愈伤 组织的外植 体数(块)	愈伤组织 诱导率 (%)	分化的愈伤 组织数 (块)	愈伤组织 分化率 (%)
MS+IBA0.1+BA0.5	54	27	50.0	19	70.4
MS+IBA0.1+BA1.0	52	25	48.1	20	80.0
MS+IBA0.1+BA2.0	52	19	36.5	14	73.6
MS+IBA0.5+BA0.5	53	32	60.4	21	65.6
MS+IBA0.5+BA1.0	54	39	70.3	35	89.7
MS+IBA0.5+BA2.0	53	28	52.8	22	78.6
MS+IBA1.0+BA0.5	55	23	41.8	12	52.2
MS+IBA1.0+BA1.0	53	27	50.9	20	74.1
MS+IBA1.0+BA2.0	53	31	58.5	26	83.9

表 3 萱草不同品种对花茎愈伤组织诱导及分化的影响

品种	接种外 植体数 (块)	产生愈伤 组织的外植 体数(块)	愈伤组织 诱导率 (%)	分化的愈伤 组织数 (块)	愈伤组织 分化率 (%)
金娃娃	63	44	69.8	36	81.8
东方不败	65	29	44.6	24	82.8

2.4 花茎不同部位对愈伤组织诱导的影响

将‘金娃娃’的花茎切段放入 MS+IBA0.5 mg/L+BA1.0 mg/L 培养基中(表 4),20 d 后茎段开始形成愈伤组织。不同部位的花茎产生愈伤组织的能力有较大的差异,上部的愈伤组织诱导率最高,为 81.0%,下部的诱导率最低,仅为 21.1%。因此在使用萱草花茎作快速繁殖时,应选用幼嫩花茎的上部为外植体。

表 4 ‘金娃娃’花茎不同部位对诱导愈伤组织的影响

部位	接种外植体数 (块)	产生愈伤组织 的外植体数(块)	愈伤组织 诱导率(%)
上部	58	47	81.0
中部	60	37	61.7
下部	57	12	21.1

2.5 暗培养对花茎愈伤组织诱导的影响

表 5 暗培养对‘金娃娃’花茎愈伤组织诱导的影响

暗培养时间 (d)	接种外植体数 (块)	产生愈伤组织 的外植体数(块)	愈伤组织 诱导率(%)
0	53	35	66.0
5	55	41	74.5
10	53	42	79.2
15	54	41	75.9
30	54	26	48.1

将‘金娃娃’的花茎接种在 MS+IBA0.5 mg/L+BA1.0 mg/L 培养基中,进行 5 d,10 d,15 d,30 d 的暗培养,30 d 后观察黑暗环境对花茎外植体诱导产生愈伤组织的影响(表 5)。可以看出,暗培养 10 d 对花茎愈伤组织诱导最有利,其诱导率可达 79.2%。试验中可观察到,暗培养 5 d 后,花茎由绿色变为黄绿色,花茎形态学下端的切口处有膨大现象,膨大的组织呈淡黄色、半透明状;暗培养 10 d 后,切口处膨大的组织脱分化形成愈伤组织,同时在外植体的中部有部分组织膨大生长;处理 15 d 后部分花茎外植体颜色开始变黄,中部膨大的组织形成质地紧密、呈黄绿色的愈伤组织;处理 30 d 后部分外植体变黄甚至死亡。

3 讨论

3.1 萱草花茎离体培养的成苗途径

在对萱草组织培养的研究中,大多数报道都是先经过愈伤组织的诱导、再分化出芽的途径来实现植株再生,仅刘先芳等^[12]在 MS+6-BA1.0+NAA0.1、MS+6-BA1.0+NAA0.2 和 MS+6-BA1.0+IBA0.4 三种培养基上直接得到了不定芽,且第一种培养基中的出芽率达到 75%,但这些芽最终只能形成一棵独苗。本试验中,在 9 种培养基中培养的萱草花茎也是通过先形成愈伤组织,再使愈伤组织分化成苗的途径进行植株再生的,这样可能易产生变异。因此,如何能够实现萱草花茎直接再生不定芽而成苗还有待今后进一步研究。

3.2 不同基因型和暗培养对萱草离体再生的影响

王晓娟等^[13]研究发现,萱草不同品种在离体培养中愈伤组织诱导和芽分化能力存在一定差异。在本试验中,‘金娃娃’和‘东方不败’两个品种的花茎外植体在 MS+IBA0.5 mg/L+BA1.0 mg/L 培养基中的愈伤组织诱导率有明显差异,其中‘金娃娃’为 69.8%;‘东方不败’为 44.6%,而愈伤组织的再分化频率差异不大,都约为 82.0%。这可能与供试品种有关。

近些年来,研究者越来越重视光在植物组织培养中的作用。但暗培养对萱草离体培养的影响至今未见报道。试验中,将‘金娃娃’的花茎接种在培养基上然后进行不同天数的暗处理,发现暗处理 10 d 对花茎愈伤组织诱导最有利,这说明一定天数的暗培养对萱草花茎愈伤组织的形成有利,但其机理还有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 王晓娟,金樑,陈家宽. 萱草的组织培养与快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 2003, 39(3): 234.
- [2] M. M. Meyer, Jr. Propagation of Daylilies by Tissue Culture[J]. HortScience, 1976, 11(5): 485-487.
- [3] Griesbach, R. J.. Selection of a dwarf hemerocallis through tissue culture[J]. HortScience, 1989, 24(6): 1027-1028.
- [4] Saker, M.; Rady, M.; El-Bahr, M.. Towards commercial production of ornamental bulbs in vitro[J]. Egyptian Journal of Horticulture, 1998, 25(1): 113-128.
- [5] 杨乃博. 杂种大花萱草的试管繁殖[J]. 植物生理学通讯, 1985, (5): 39.
- [6] 郭达初,刘克斌,柴明良,等. 大花萱草组织培养快速繁殖[J]. 浙江农业学报, 1990, (3): 137-141.
- [7] 吴铁明,于晓英,冯爽英,等. 野生重瓣大花萱草的选育 II. 组织培养快速繁殖[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2002, 28(4): 305-307.
- [8] 杨永花. 金娃娃萱草组织培养技术研究[J]. 甘肃农业科技, 2003, (12): 33-35.
- [9] 王汉海,程贯召,杜延飞,等. 大花萱草—金娃娃的初代培养和无性系的建立[J]. 潍坊学院学报, 2002, 2(2): 9, 10, 16.
- [10] 王汉海,程贯召,杜延飞. 大花萱草新品种“金娃娃”的组织培养和快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 2002, 38(5): 458.
- [11] 冯玲秀. 现代萱草的组织培养[J]. 江苏农业科学, 1990, (5): 52-53.
- [12] 刘先芳,罗军,吴铁明. 重瓣大花萱草组织培养快速繁殖的研究[J]. 湖南林业科技, 2001(28)4: 41-42, 34.
- [13] 王晓娟,金樑,陈家宽. 大花萱草不同外植体诱导愈伤组织的比较研究[J]. 生命科学研究, 2005, 9(3): 242-246.