

大花萱草工厂化快繁技术研究

赵玉芬^{1,2}, 储博彦^{1,2}, 尹新彦^{1,2}, 刘满光^{1,2}, 王 丽³

(1. 河北省林业科学研究院, 河北 石家庄 050061; 2. 河北省林木良种工程技术中心, 河北 石家庄 050061;

3. 保定职业技术学院, 河北 保定 071051)

摘 要:以大花萱草“红运”的茎段和花蕾为外植体,进行了消毒剂 and 移栽基质的筛选,研究不同浓度激素组合对茎段、花蕾、丛芽愈伤组织诱导和生根的影响。结果表明:茎段愈伤诱导最佳培养基为 MS+6-BA 1.5 mg/L+IBA 0.2 mg/L;花蕾愈伤诱导最佳培养基为 MS+6-BA 2.0~3.0 mg/L+IBA 0.2 mg/L;丛芽分化增殖适宜的培养基为 MS+6-BA 0.3 mg/L+IBA 0.1 mg/L 和 MS+6-BA 1.5 mg/L+IBA 0.2 mg/L,二者可交替使用;最佳生根培养基为 1/2MS+IBA 0.5 mg/L;用 0.1% HgCl₂ 溶液消毒 10 min 为宜,蛭石为适宜大规模生产的移栽基质。

关键词:大花萱草;工厂化育苗;快繁体系;培养基;激素

中图分类号:S 682.1⁺9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2011)02-0152-04

大花萱草(*Heimerocallis hybrida* Hort.)系百合科萱草属多年生草本宿根花卉,具有较强的抗旱、抗寒、抗盐碱、抗病虫害等特性。近年来国内引进的多倍体新品种具有花色花型丰富、花期长等优点,备受园林绿化的青睐。“红运”因其花朵硕大、花为红色、生长健壮等诸多优点而成为大花萱草中的珍品。但自然繁殖速率低,远不能满足园林绿化日益增长的需求,建立完整的快繁技术体系是解决供需矛盾的有效途径之一。关于萱草属的组织培养研究有不少报道^[1-5],但因品种、激素组合配比及微环境等因素的影响,得出的结论差异性较大。2006~2009年,课题组一直致力于大花萱草“红运”(Baltimore oriole)工厂化快速育苗的技术体系研究,在保证种苗质量的前提下,探寻一种快速、高效、简便的适合种苗工厂化生产的有效方法和途径,旨在使其尽快应用于生产,满足园林绿化的需求。

1 材料与方法

1.1 试验材料

2006年7月15日采集河北省林业科学研究院内大花萱草“红运”植株及2~4 cm的幼嫩花蕾。先将整个植株去掉根和叶片,用洗洁精清洗后,用流水冲洗干净。将芽体外层的叶剥掉,切成1.5 cm左右,形成带生长点的茎段,然后转到超净工作台上进行消毒处理。将花蕾顶部去掉,留1 cm左右的花托略带花柄,并纵切,用

0.1% HgCl₂ 溶液消毒 10 min,清洗后待接种。

1.2 试验方法

1.2.1 培养基及培养条件 外植体愈伤诱导培养基: W₁:MS+6-BA 1.0 mg/L+IBA 0.2 mg/L(单位下同); W₂:MS+6-BA 1.5+IBA 0.2; W₃:MS+6-BA 2.0+IBA 0.2; W₄:MS+6-BA 3.0+IBA 0.2; W₅:MS+6-BA 4.0+IBA 0.2;最佳分化增殖培养基的筛选: F₁:MS; F₂:MS+6-BA 0.3+IBA 0.1; F₃:MS+6-BA 0.3+IBA 0.2; F₄:MS+6-BA 0.5+IBA 0.1; F₅:MS+6-BA 0.5+IBA 0.2; F₆:MS+6-BA 2.0+IBA 0.5; W₁:MS+6-BA 1.0+IBA 0.2; W₂:MS+6-BA 1.5+IBA 0.2; W₃:MS+6-BA 2.0+IBA 0.2。白砂糖 30 g/L,琼脂 6 g/L,pH 5.8,培养温度 23~25℃,光照 1 000~2 000 lx,光照时数 12~14 h。

1.2.2 消毒药剂及消毒时间的选择 试验设处理 A: 5% NaClO 溶液消毒 30 min;处理 B:84K 原液稀释 50 倍消毒 30 min;处理 C:0.1% HgCl₂ 溶液消毒 10 min;处理 D:处理 A+处理 C。每处理 20 个单芽(完整,没有做纵切处理),转入 W₁ 中。培养 20 d 后,调查其污染率及生长情况(表 1)。

1.2.3 茎段诱导愈伤组织培养基的最佳选择 将茎段经处理 C 消毒后,分别接种到 W₁~W₃ 3 种培养基中,25 d 转接 1 次,连续转接 3 次。第 2 次转接时先将备用接种的培养瓶称重记为 G₁,将组培苗剪留 3 cm 左右,接种后再称重记为 G₂,苗重记为 G₃,即 G₃=G₂-G₁。第 3 次转接前先称瓶和苗的总重量记为 G₄,取出苗后再称 1 次瓶重记为 G₅,试管苗的生长量记为 G₆,即 G₆=G₄-G₅(表 2)。

1.2.4 花蕾诱导愈伤组织培养基的最佳选择 将消毒处理好的花蕾纵切后接种于 W₁~W₅ 5 种培养基中,每

第一作者简介:赵玉芬(1974-),女,高级工程师,现主要从事园林植物的栽培及组织培养技术研究工作。E-mail:hbzyf74@163.com。

基金项目:河北省林业局重点资助项目(200803159)。

收稿日期:2010-11-25

处理接种 20 块,25 d 转接时调查其存活数、愈伤组织诱导率、愈伤组织及生长情况(表 3)。

1.2.5 最佳丛芽增殖培养基的选择 将 1.0 cm×1.0 cm 无芽的愈伤组织块,接种在 $F_1 \sim F_6$ 及 $W_1 \sim W_3$ 9 种培养基中,培养 25 d 后,调查出芽愈伤数、芽体再生方式、出芽率、转接后有效愈伤及芽数块数、有效增殖系数(表 4)。

1.2.6 最佳生根培养基的选择 将高 1~1.5 cm 的丛生芽块接种在生根培养基: G_1 :1/2MS+NAA 0.1、 G_2 :1/2MS+NAA 0.3、 G_3 :1/2MS+NAA 0.5、 G_4 :1/2MS+NAA 0.7、 G_5 :1/2MS+IBA 0.1、 G_6 :1/2MS+IBA 0.3、 G_7 :1/2MS+IBA 0.5、 G_8 :1/2MS+IBA 0.7;白砂糖 20 g/L,其它培养条件同上。20 d 后,调查接种数、生根株数、根条总数、生根率、平均根条数、平均根长(表 5)。

1.2.7 移栽基质的筛选 将 3~4 cm 长的试管苗分别移栽至蛭石、草炭、草炭+珍珠岩=1:1 的 3 种不同种类及配比的基质中,每处理 100 株。移栽 10 d 内用塑料薄膜覆盖,保持 90% 以上的相对湿度,10 d 后逐渐揭膜进行练苗生根,20 d 后调查生根条数、平均根长、生长势、移栽成活率(表 6)。

1.2.8 试管苗的驯化移栽及生长发育 移栽前,将试管苗移到光线较好的练苗室闭口练苗 3~4 d。然后移栽到日光温室中,以蛭石为基质,做畦,搭建塑料小拱棚,注意保湿和保温。练苗 40~50 d 后可移栽到大田中转入正常的田间管理。

2 结果与分析

2.1 不同消毒剂及消毒时间对“红运”茎段外植体影响

由表 1 可知,处理 A 和处理 B 对芽体无伤害,但污染率极高,存活率较小,分别为 5% 和 10%;处理 C 和处理 D 对芽体伤害较处理 A、B 重,但污染率极低,存活率均高达 85%。处理 C 和处理 D 对芽体伤害在 7 d 内略受影响,20 d 后,4 种处理方式的生长情况没有明显的区别。4 种处理在接种 7 d 后均出现了生根现象,处理 A 和处理 B 由于污染率极高,存活较少,不便统计生根率;处理 C 和处理 D 在 20 d 后的生根率分别达到了 83% 和 85%,分析其原因可能是接种茎段时虽然将其根部切除了,但由于所留部分较大并且未做纵切,没有形成伤口且未伤及根原基,不利于愈伤组织的形成,而利于根的生长,从而形成了完整的试管苗植株。试验结果表明,处理 C 是最理想的消毒处理。

表 1 不同消毒剂处理对“红运”茎段存活及生长的影响

处理	处理瓶数	污染数	存活数	存活率/%	生长情况
A	20	19	1	5	叶色浓绿,7 d 时有生根现象,心叶生长至 6~7 cm;20 d 时的株高达 12~13 cm,有生根现象
B	20	18	2	10	叶色浓绿,7 d 时无生根现象,心叶生长至 6~7 cm;20 d 时的株高达 12~13 cm,有生根现象
C	20	3	17	85	叶色黄绿,7 d 时无生根现象,心叶生长至 6~7 cm;20 d 时的株高达 12~13 cm,生根率达到 83%
D	20	3	17	85	叶色黄绿,7 d 时无生根现象,心叶生长至 2~3 cm;20 d 时的株高达 12~13 cm,生根率达到 85%

2.2 不同浓度 6-BA 对“红运”茎段愈伤诱导分化影响

由表 2 可知,“红运”第 2 次转接(外植体接种 50 d 后)在 W_2 培养基中的平均生长量达到了 2.29 g/瓶,分别是 W_1 、 W_3 平均生长量的 1.55 倍和 1.68 倍,生长分化情况最好;随着 6-BA 浓度的增加,其生根率依次降低;当 6-BA 的浓度增加到 2.0 mg/L 时,生根率降至 0。第 3 次转接(外植体接种后 80 d)在 W_2 培养基中的平均生长量

达到了 10.56 g/瓶,分别是 W_1 、 W_3 平均生长量的 1.94 倍和 1.92 倍,其生长分化情况依然最好,产生的愈伤组织最多,丛芽分化较多;根均不再伸长;当 6-BA 浓度为 2.0 mg/L 时,产生的愈伤组织及丛芽减少。分析根不再伸长的原因可能是多次转接后 6-BA 浓度逐渐对其产生了抑制作用。结果表明 W_2 为“红运”的最佳诱导分化培养基。

表 2 不同浓度的 6-BA 对“红运”茎段愈伤诱导分化的影响

处理	处理瓶数	第 2 次转接 平均苗重/g	第 2 次转接分化情况	第 3 次转接 平均生长量/g	第 3 次转接分化情况
W_1	6	1.48	83.3% 有生根现象,根长 0.1~0.5 cm, 1 条;16.7% 基部膨大,有少量愈伤	5.45	愈伤组织少,平均 0.5 cm×0.5 cm;丛芽 少;根不再伸长
W_2	10	2.29	50% 有生根现象,根长 0.1~1.0 cm,1~2 条;50% 产生大量愈伤组织	10.56	均产生大量愈伤和丛芽,平均 2.5 cm× 3.0 cm;根不再伸长
W_3	5	1.36	无生根现象,基部膨大,无愈伤	5.5	均产生愈伤,平均 1.0 cm×1.0 cm;并产 生少量丛芽

2.3 不同浓度 6-BA 对“红运”花蕾愈伤诱导分化影响

由表 3 可知,随着 6-BA 激素浓度增加,花蕾愈伤诱导率均呈一定的递增趋向,当 6-BA 浓度增加到 3.0 mg/L 时,其愈伤诱导率高达 84%,但是 6-BA 浓度增加到 4.0

mg/L 时,其诱导率有所下降。5 种培养基其诱导形成的愈伤组织均为白色或白绿色。 W_3 和 W_4 (6-BA 2.0~3.0 mg/L)培养基经过 25 d 的培养,均产生大量的愈伤组织并有绿色芽点或丛芽生成;而 W_5 (6-BA 4.0 mg/L)

上只产生愈伤未见有芽点或芽生成,这说明适宜的细胞分裂素和生长素的配比才有利于芽的分化和生长,浓度配比过高或过低都不利于芽的分化和生长。试验中各培养基均出现了接种花托上部枯死的现象,分析其原因可能与大花萱草的开花特性(一日花)有关。

表3 不同浓度的6-BA对“红运”花蕾愈伤诱导分化的影响

处理	接种数	存活数	愈伤块数	愈伤诱导率/%	愈伤分化情况
W ₁	20	10	6	60	花托上部枯死,基部膨大,形成少量的白色或白绿色愈伤组织
W ₂	20	11	8	72.7	同上
W ₃	20	10	8	80	同上,并有绿色芽点生成
W ₄	20	13	10	84	同上,形成大量的白色或白绿色愈伤组织,并有芽生成
W ₅	20	9	7	77.8	同上,形成大量的白色或白绿色愈伤组织

表4 不同浓度的激素对“红运”分化芽体再生方式的影响

处理	接种数	分化情况				转接后的有效愈伤及芽块数	有效增殖系数
		出芽愈伤数	未出芽的愈伤情况	芽的再生方式	出芽率/%		
F ₁	33	14	黄褐或黄白透明状	丛芽、愈伤	42.4	26	0.79
F ₂	33	28	多呈黄绿或绿色透明状	丛芽、愈伤	84.8	60	1.82
F ₃	30	16	黄白或黄绿透明状	单芽、愈伤	53.3	57	1.90
F ₄	24	17	黄白或黄绿透明状	单芽、愈伤	70.8	40	1.67
F ₅	33	27	多呈黄白色透明状	单芽、愈伤	81.8	67	2.03
F ₆	30	16	黄白或黄绿透明状	单芽、愈伤	53.3	32	1.07
W ₁	27	11	呈黄白透明状	单芽、愈伤	40.7	24	0.89
W ₂	30	24	黄白或黄绿透明状	丛芽、愈伤	80	61	2.03
W ₃	9	5	黄绿或褐死	单芽、愈伤	55.5	14	1.56

2.5 不同激素种类及浓度组合对大花萱草“红运”生根的影响

由表5可知,G₇:1/2MS+IBA 0.5 mg/L的生根率达到了100%、平均根条数4.82条、平均根长为2.54 cm,3项指标均表现最好,为最佳生根培养基,2种生长素均存在最适浓度,当NAA为0.3 mg/L时,生根率达到了91.7%;当IBA为0.5 mg/L时,生根率达到了100%;当二者浓度超出最适浓度后,均存在生根率下降的趋势。在同一品种试验中,其结论却与李艳梅^[6]MS+2.0 mg/L NAA、柏文琴^[7]1/2MS+0.05 mg/L NAA的不同,这可能与试验设计的激素种类、浓度梯度、培养物切分所带愈伤组织的大小、继代次数、培养条件有关。

2.6 不同种类及配比的基质对大花萱草“红运”移栽生长的影响

3种不同的基质对移栽成活率没有影响,均达到了95%以上,从生根条数、平均根长、生长势等3个指标综合考虑,草炭:珍珠岩=1:1为最佳移栽基质,生根条数达到4.8条,平均根长3.25 cm。但从降低生产成本角度出发,可以考虑使用蛭石作为栽培基质。

2.4 不同浓度的激素对“红运”分化再生方式的影响

由表4可知,受激素种类和浓度配比的影响,红运的再生方式分为单生芽、丛生芽、愈伤3种。从增殖和生产实际出发,考虑其再生方式为丛生芽及愈伤为最佳,筛选出F₁:MS、F₂:MS+6-BA 0.3+IBA 0.1、W₂:MS+6-BA 1.5+IBA 0.2 3种培养基。其中F₂:MS+6-BA 0.3+IBA 0.1的丛生芽率达到了84.8%,是F₁的2倍;有效增殖系数为1.82,是F₁的2.30倍。W₂:MS+6-BA 1.5+IBA 0.2的丛生芽率达到了80%,是F₁的1.89倍;有效增殖系数2.03,是F₁的2.57倍。通过出芽率及有效增殖系数指标综合分析,结合生产实际筛选出F₂:MS+6-BA 0.3+IBA 0.1、W₂:MS+6-BA 1.5+IBA 0.2的2种分化培养配方,二者可交替使用。当试管苗生产进入良性发展后,二者交替使用可以有效增殖系数提高到5~7倍。

表5 不同激素种类及不同浓度组合对大花萱草“红运”生根的影响

处理	接种数/个	生根株数/条	根条总数/条	生根率/%	平均根条数/条	平均根长/cm
G ₁	62	53	128	85.5	2.42	1.24
G ₂	36	33	107	91.7	3.24	1.98
G ₃	82	62	184	75.6	2.97	1.74
G ₄	48	34	70	70.8	2.06	1.85
G ₅	70	51	158	72.9	3.1	1.96
G ₆	63	57	213	90.5	3.74	2.3
G ₇	60	60	289	100	4.82	2.54
G ₈	70	56	192	80	3.43	1.75

2.7 试管苗的驯化移栽及生长发育

经过几年的实践观察,6月份前移栽到大田的试管苗,第2年有少量开花,第3年全部开花。6月份以后移栽到大田的试管苗,第2年不开花,第3年全部开花。田间观测表明,大花萱草组培苗的性状与原品种性状相同。这与解有利^[8]等人的结论相一致。

表 6 不同种类及配比的基质对
大花萱草“红运”移栽生长的影响

基质种类 及配比	生根条数 /条	平均根长 /cm	移栽成活率 /%	生长势
蛭石	4.5	3.18	95	生长正常,叶色绿
草炭	4.8	3.25	96	生长正常,叶色浓绿
草炭:珍珠岩 为 1:1	4.3	2.85	95	生长正常,叶色浓绿

3 结论与讨论

大花萱草“红运”以茎芽和花蕾做外植体时,用 0.1% HgCl_2 溶液消毒 10 min 为宜。茎段愈伤诱导最佳培养基 $\text{MS}+6\text{-BA } 1.5 \text{ mg/L}+\text{IBA } 0.2 \text{ mg/L}$, 丛芽和愈伤生长较多,其平均生长量达到了 10.56 g/瓶。花蕾愈伤诱导最佳培养基 $\text{MS}+6\text{-BA } 2.0\sim 3.0 \text{ mg/L}+\text{IBA } 0.2 \text{ mg/L}$, 诱导率可达 80% 以上。分化增殖培养基: $\text{MS}+6\text{-BA } 0.3 \text{ mg/L}+\text{IBA } 0.1 \text{ mg/L}$ 和 $\text{MS}+6\text{-BA } 1.5 \text{ mg/L}+\text{IBA } 0.2 \text{ mg/L}$, 二者在工厂化育苗生产中可交替使用。生根最佳培养基: $1/2\text{MS}+\text{IBA } 0.5 \text{ mg/L}$ 。蛭石为适宜大规模生产的移栽基质。田间观测表明,大花萱草组培苗的性状与原品种性状相同。从而建立了一套完整的适合工厂化育苗的技术体系。现筛选出的最佳生根培养基 $\text{G7}:1/2\text{MS}+\text{IBA } 0.5 \text{ mg/L}$, 其结论却与李艳梅^[6] $\text{MS}+$

2.0 mg/L NAA 、柏文琴^[7] $1/2\text{MS}+0.05 \text{ mg/L NAA}$ 的不同。这可能与试验设计的激素种类、浓度梯度、培养物切分所带愈伤组织的大小、继代次数、培养条件有关。在实际工厂化育苗生产中切记盲目照搬,一定要根据切实的生产环境条件先进行试验后再规模化生产。

参考文献

- [1] 孔刚,施冰,相连宏. 大花萱草的组织培养[J]. 国土与自然资源研究, 2001(3):79-80.
- [2] 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.
- [3] 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.
- [4] 刘志洋,李海涛,朱祥春,等. 大花萱草组织培养研究[J]. 东北农业大学学报, 2008,39(1):43-45.
- [5] 谭文澄,戴策刚. 观赏组织植物培养技术[M]. 北京:中国林业出版社,1999.
- [6] 李艳梅,王桂兰,陈超,等. 大花萱草新品种“红运”快繁体系的建立[J]. 河南农业科学, 2006(8):20-22.
- [7] 柏文琴,李韵,李荣荣. 大花萱草组培苗的生根诱导研究[J]. 山西师范大学学报, 2007,21(4):87-91.
- [8] 解有利,陈兰芬,石进朝. 大花萱草组织培养研究[J]. 北京农业职业学院学报, 2007,21(5):25-27.

Study on Tissue Culture and Plant Propagation System of *Hemerocallis hybrida* Hort. cv. Baltim ore oriole

ZHAO Yu-fen^{1,2}, CHU Bo-yan^{1,2}, YIN Xin-yan^{1,2}, LIU Man-guang^{1,2}, WANG Li³

(1. Hebei Academy of Forestry Science, Shijiazhuang, Hebei 050061; 2. Hebei Engineering Research Center for Trees Varieties, Shijiazhuang, Hebei 050061; 3. Baoding Vocational and Technical College, Baoding, Hebei 071051)

Abstract: Taking subterranean stem and flower buds of *Hemerocallis hybrida* Hort. cv. Baltim ore oriole as explants, the disinfectant and transplant material were sifted. the effect of different combinations and concentrations of hormones on the callus induction of stem, flower buds, cluster buds and rooting were studied. The results showed that the best culture medium of subterranean stem was $\text{MS}+6\text{-BA } 1.5 \text{ mg/L}+\text{IBA } 0.2 \text{ mg/L}$, and the best culture medium of flower buds was $\text{MS}+6\text{-BA } 2.0\sim 3.0 \text{ mg/L}+\text{IBA } 0.2 \text{ mg/L}$; for bud proliferation was $\text{MS}+6\text{-BA } 0.3 \text{ mg/L}+\text{IBA } 0.1 \text{ mg/L}$ and $\text{MS}+6\text{-BA } 1.5 \text{ mg/L}+\text{IBA } 0.2 \text{ mg/L}$ were suitable, and can be used alternately; the best culture medium for rooting was $1/2\text{MS}+\text{IBA } 0.5 \text{ mg/L}$; In the field, vermiculite was suitable for the transplant material. explants sterilized with 0.1% HgCl_2 for ten minutes were the best sterile method.

Key words: *Hemerocallis hybrida*; industrialized nursery process; propagation system; medium; hormone