

花菖蒲类鸢尾组培愈伤组织诱导及芽的分化研究

王文元¹, 王文和², 周文强¹, 王丹¹, 史国旭³, 许玉凤³

(1. 沈阳市植物园, 辽宁 沈阳 110163; 2. 北京农学院, 北京 102206; 3. 沈阳农业大学, 辽宁 沈阳 110866)

摘要:以日本花菖蒲类鸢尾的 2 个品种为试材,进行了愈伤组织的诱导和不定芽分化的组织培养试验。结果表明:日本花菖蒲类鸢尾组织培养最佳的外植体是花茎,而且是在花苞长度为 2~5 cm 左右处取样最佳,灭菌以采用 0.1% HgCl₂ 消毒 10 min 效果最好,污染率仅为 15%,成活率能达 75%。诱导愈伤组织和不定芽分化的最佳培养基为 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 1.0 mg/L,愈伤组织诱导率为 59.09%,不定芽的分化率为 50%。

关键词:日本花菖蒲;组织培养;诱导;分化

中图分类号:S 682.2⁺4 **文章标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)21-0092-03

花菖蒲系鸢尾包括玉蝉花、燕子花等原种以及玉蝉花经过长期栽培及杂交选育衍生出的品种群,是鸢尾属内育种较早、园艺水平较高的种,是无髯鸢尾中观赏价值最高的类群。花菖蒲在日本有 500 余年的栽培历史。在 19 世纪已经形成了 3 个品系,20 世纪 30 年代,花菖蒲被引种到欧美,通过品系间杂交,在世界范围内得到广泛发展。目前,花菖蒲在日本已经选育出了 500 多个品种,多为大花及重瓣类型。花菖蒲品种繁多,花色丰富,花瓣各异,花型多变,花朵硕大,具有很高的观赏价值。沈阳市植物园经过 6 a 的引种栽培试验,园林工作者已经掌握了花菖蒲的生态习性和栽培技术,认为一些花菖蒲品种基本适应了沈阳地区的生态条件,成为沈阳地区园林中予以推广应用的花卉^[1-3]。

观察研究发现,引进的多数种类花菖蒲种子干瘪,播种后不能正常萌发,所以不能进行种子繁殖,单靠分株繁殖比较慢。而从国外引进的优良品种数量少、价格昂贵,无法满足市场需求。组织培养是快速繁殖大量优质种苗最有效的措施^[4-6]。国内外有关花菖蒲鸢尾组织培养的报道很少。该研究以在沈阳地区生长较好的优良的花菖蒲品种为试材,探讨组织培养的适宜条件,为建立其快速繁殖体系,实现其工厂化育苗提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试花菖蒲品种 *Iris ensata* ‘Rose Frappe’ 和 *Iris*

ensata ‘Hougyoku’ 取自沈阳市植物园鸢尾专类园。分别从 2010 年 5 月初开始,取芽、幼叶、花茎和花苞作为外植体,用于接种。

1.2 试验方法

1.2.1 外植体消毒 将试验材料用流水洗净,蒸馏水冲洗 3 次后,在无菌的环境条件下用 75% 酒精浸泡 30 s,再用 0.1% HgCl₂ 分别消毒 6、8、10、12、14 min,然后用无菌水冲洗 3 次。将外植体接种于 MS 培养基上,每个处理 10 瓶,每瓶 2 个外植体。培养 7 d 后调查污染情况。

1.2.2 诱导愈伤组织和不定芽分化的最佳培养基的筛选 以花菖蒲花茎为外植体,以 MS 为基本培养基,加 30 g/L 蔗糖和 6 g/L 琼脂粉,pH 5.8~6.0,设不同激素的配比:(1)6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.5 mg/L;(2)6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L;(3)6-BA 1.5 mg/L+NAA 0.5 mg/L;(4)6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L;(5)6-BA 0.5 mg/L+NAA 1.0 mg/L;(6)6-BA 1.0 mg/L+NAA 1.0 mg/L;(7)6-BA 1.5 mg/L+NAA 1.0 mg/L;(8)6-BA 2.0 mg/L+NAA 1.0 mg/L。每种培养基分别接种 10 瓶,每瓶 3 个外植体,2 次重复。

1.2.3 最佳外植体的筛选试验 分别以 *I. ensata* ‘Rose Frappe’ 的花器官、幼叶、不同幼嫩程度的花茎为外植体,接种在 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 1.0 mg/L 培养基上。每个部位接种 10 瓶,每瓶 3 个外植体,观察离体培养后各部分的再生能力。条件为:培养室温度(25±2)℃,光照强度 2 000 lx,光照时间 12 h/d。

2 结果与分析

2.1 不同 HgCl₂ 消毒时间对花菖蒲鸢尾外植体接种污染率的影响

由表 1 可知,随 HgCl₂ 处理时间的延长,外植体污染率具有显著降低的趋势,尤其是处理 12 和 14 min 的污

第一作者简介:王文元(1971-),男,辽宁沈阳人,硕士,高级工程师,现主要从事园林植物引种栽培和繁殖技术的研究工作。E-mail:wwyxyl@yahoo.com.cn.

责任作者:许玉凤(1970-),女,辽宁沈阳人,博士,副教授,现主要从事园林花卉的栽培与育种工作。

基金项目:沈阳市科技局农业科技攻关资助项目(F10-099-3-00)。

收稿日期:2012-06-19

染率均低于 30%。但处理时间延长时,对外植体杀伤力较大,死亡率较高。如幼叶在处理 14 min 时死亡率达到了 100%。从外植体成活率的高低变化情况,可以看出幼芽采用 0.1% HgCl_2 消毒最佳处理时间为 12 min,幼叶和花茎的最佳处理时间为 10 min。

表 1 不同 HgCl_2 消毒时间对花菖蒲鸢尾外植体接种污染率的影响

灭菌 时间 /min	幼芽			幼叶			花茎		
	污染率 /%	死亡率 /%	成活率 /%	污染率 /%	死亡率 /%	成活率 /%	污染率 /%	死亡率 /%	成活率 /%
6	100	0	0	45	15	40	60	5	35
8	90	5	35	40	20	40	30	5	65
10	50	10	40	15	25	60	15	10	75
12	30	15	55	10	70	20	10	20	70
14	15	40	45	0	100	0	0	35	65

2.2 不同培养基对花茎外植体愈伤组织诱导及不定芽分化的影响

由表 2 可知,在 8 种不同培养基上,由日本花菖蒲鸢尾的花茎诱导产生的愈伤组织和分化形成不定芽的能力具有很大差异。2 种花菖蒲在 6 号培养基中愈伤组织诱导率 and 不定芽分化率均显著高于其它培养基,其中 *I. ensata* ‘Rose Frappe’ 诱导率高为 47.62%,分化率为 42.86%;*I. ensata* ‘Hougyoku’ 诱导率高为 55.00%,分化率为 45.00%。不同花菖蒲品种在相同培养基中愈伤组织的诱导率 and 不定芽的分化率也具有差异。因此,MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 1.0 mg/L 为日本花菖蒲类鸢尾愈伤组织诱导和不定芽分化的最佳培养基(图 1)。

表 2 不同培养基对花菖蒲鸢尾花茎外植体愈伤组织诱导及不定芽分化的影响

培养基 代号	<i>I. ensata</i> ‘Rose Frappe’		<i>I. ensata</i> ‘Hougyoku’	
	诱导率/%	分化率/%	诱导率/%	分化率/%
1	8.70	4.35	15.00	5.00
2	20.83	8.33	18.18	9.10
3	13.64	4.55	13.04	8.70
4	8.70	8.70	23.81	14.29
5	30.00	20.00	29.17	20.83
6	47.62	42.86	55.00	45.00
7	26.09	21.74	18.18	13.64
8	20.00	15.00	15.00	10.00

2.3 以花器官为外植体诱导愈伤组织及分化不定芽的能力比较

由表 3 可知,子房顶端的愈伤组织诱导率 and 不定芽分化率分别为 15.00% 和 10.00%;子房基部的愈伤组织诱导率稍高些,为 36.36%,不定芽分化率为 27.27%;花茎愈伤组织诱导率 and 不定芽分化率最高,分别为 45.83% 和 41.67%。花被、花丝、花柱、苞片等外植体则在培养 30 d 后相继死亡,均无愈伤组织和不定芽分化。由此可见,在花器官中,不同的花器官离体培养愈伤组织诱导率 and 不定芽分化率有较大差异,其中花茎是诱导愈伤组织和不定芽分化的最佳外植体(图 2)。

表 3 不同花器官外植体对花菖蒲鸢尾愈伤组织诱导及不定芽分化的影响

外植体	诱导率/%	分化率/%
子房顶端	15.00	10.00
子房基部	36.36	27.27
花茎	45.83	41.67
花被	0	0
花丝	0	0
花柱	0	0
苞片	0	0

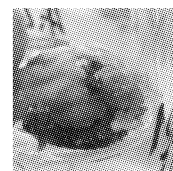
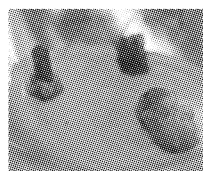


图 1 花茎诱导的愈伤组织 图 2 子房诱导的愈伤组织

2.4 以幼叶为外植体对愈伤组织诱导及不定芽分化的影响

由表 4 可知,以外层和中层叶片为外植体,不论是叶基,还是叶中和叶尖,诱导率均为 0;内层叶片的叶基和叶中诱导率分别为 25.00% 和 18.18%,分化率分别为 15.00% 和 9.08%。由此可见,不同部位的幼叶和幼叶的不同部位对愈伤组织诱导和不定芽分化影响很大,外层和中层叶片均不能诱导愈伤组织,而内层的幼叶愈伤组织诱导率 and 不定芽的分化率也较低(图 3)。

表 4 不同部位的幼叶外植体对花菖蒲鸢尾愈伤组织诱导及不定芽分化的影响

外植体		诱导率/%	分化率/%
外层叶片	叶基	0	0
	叶中	0	0
	叶尖	0	0
中层叶片	叶基	0	0
	叶中	0	0
	叶尖	0	0
内层叶片	叶基	25.00	15.00
	叶中	18.18	9.08
	叶尖	0	0

2.5 不同幼嫩程度的花茎外植体愈伤组织诱导及不定芽分化的比较

由表 5 可知,不同幼嫩程度的花茎外植体,其愈伤组织诱导率与不定芽分化率具有差异。花苞长 2~3 cm 的花茎非常幼嫩,愈伤组织诱导率与不定芽分化率均最高,分别为 59.09% 和 50.00%;花苞长 3~5 cm 的花茎次之,花苞长 5~7 cm 的花茎外植体愈伤组织诱导与不定芽分化率比较低,分别为 19.05% 和 9.52%;花苞长 7~9 cm 的花茎外植体不能诱导出愈伤组织和不定芽。因此,花茎外植体愈伤组织诱导及不定芽分化能力与花茎外植体幼嫩程度有关,花苞长度为 3 cm 左右为最佳取材时期,外植体生长状况良好,诱导形成愈伤组织和分化成不定芽的能力最高(图 4)。

表 5 以不同幼嫩程度的花茎为外植体对愈伤组织诱导及不定芽分化的影响

花苞大小/cm	诱导率/%	分化率/%
2~3	59.09	50.00
3~5	45.00	30.00
5~7	19.05	9.52
7~9	0.00	0.00

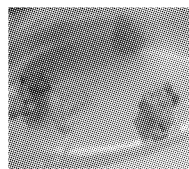


图 3 幼叶诱导的愈伤组织



图 4 不定芽

3 结论与讨论

在组织培养中激素对细胞的分化起着重要的调节作用,生长素和细胞分裂素的比例控制着细胞的分化和器官的形成,高浓度细胞分裂素与低浓度的生长素有利于芽的形成。不同的外植体愈伤组织的诱导和不定芽的分化难以程度不同。试验结果表明,日本花菖蒲类鸢尾组织培养最佳外植体是花茎,而且是在花苞长度在 2~5 cm 左右时取样为最佳,灭菌以采用 0.1% HgCl_2 消毒 10 min 效果最好,污染率仅为 15%,成活率能达 75%。诱导愈伤组织和不定芽分化的最佳培养基为 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 1.0 mg/L,愈伤组织诱导率为 59.09%,不定芽分化率为 50%。以芽为外植体不仅污染率高、存活率低,而且对母株伤害较大,不适宜做离体培养的外植体,与陈晨等^[4]研究结果一致;以幼叶为外植体,愈伤组织的诱导率和不定芽的分化率比较低。在花菖蒲的组织培养研究过程中发现,接种后外植体细胞脱分化的速度较慢,大约在 40 d 以后材料才开始逐渐形成愈伤组织,约 80 d 后逐渐分化出不定芽。

吴月燕等^[7]在对路易斯鸢尾组织培养研究中结果表明,愈伤组织诱导和芽的分化最佳外植体是花轴,最佳诱导和分化培养基为 MS+1.0 mg/L 6-BA+1.0 mg/L ZT。陈晨等^[4]研究结果表明,德国鸢尾愈伤组织的诱导和芽的分化的最佳外植体也是花茎,最佳培养基为 MS+6-BA 1.0 mg/L+IBA 0.5 mg/L。徐立军等^[8]研究结果表明,有髯鸢尾“爱抚”的不定芽分化的最佳培养基为 MS+BA 1.5 mg/L,而最佳外植体是花苞。黄苏珍等^[9]研究结果表明,杂种鸢尾组织培养最佳外植体是茎尖,诱导愈伤组织的最佳培养基为 MS+1.5 mg/L 6-BA+0.1 mg/L NAA,诱导分化培养基为 MS+1.0 mg/L 6-BA+0.5 mg/L NAA。荷兰鸢尾最佳外植体为鳞茎片基部,愈伤组织诱导和不定芽分化最佳培养基为 MS+BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L^[10]。

参考文献

- [1] Austin C. IRISES: A gardener's encyclopedia[M]. Timber Press, 2005: 235-238.
- [2] 赵毓棠. 鸢尾欣赏与栽培利用[M]. 北京:金盾出版社, 2005.
- [3] 黄苏珍,郭维明. 中国鸢尾属观赏植物资源的研究与利用[J]. 中国野生植物资源研究, 2003, 22(1): 4-7.
- [4] 陈晨,毕晓颖,卢明艳. 德国鸢尾组织培养快速繁殖技术研究[J]. 沈阳农业大学学报, 2010, 41(1): 27-32.
- [5] 黄苏珍,韩玉林,谢明云,等. 德国鸢尾的组织培养[J]. 江苏林业科技, 2000, 27(6): 37-44.
- [6] 黄苏珍,韩玉林,谢明云,等. 杂种鸢尾的组织培养与植株再生[J]. 植物生理学通讯, 2003, 36(6): 638.
- [7] 吴月燕,毛军平,周倩倩. 路易斯鸢尾组织培养过程中愈伤组织的诱导和芽的分化[J]. 浙江农业科学, 2009(1): 86-89.
- [8] 徐立军,管耀义,张建佐. 有髯鸢尾“爱抚”的组培快繁研究[J]. 河北林业科技, 2005, 8(4): 79.
- [9] 黄苏珍,韩玉林,谢明云,等. 杂种鸢尾的组织培养和植株再生[J]. 植物生理学通讯, 2003, 39(6): 638.
- [10] 黄淑珍,谢明云,佟海英,等. 荷兰鸢尾的组织培养[J]. 植物资源与环境, 1999, 8(3): 48-52.

The Callus Induction and Shoot Differentiation of Pedicels in Tissue Culture of *Iris ensata* L.

WANG Wen-yuan¹, WANG Wen-he², ZHOU Wen-qiang¹, WANG Dan¹, SHI Guo-xu³, XU Yu-feng³

(1. Shenyang Botany Garden, Shenyang, Liaoning 110163; 2. Beijing Agricultural College, Beijing 102206; 3. Shenyang Agriculture University, Shenyang, Liaoning 110866)

Abstract: Two species of Japanese *Iris ensata* L. were used as test materials to develop callus induction and shoot differentiation of pedicels. The results showed that flower stalks was the best explants when the length of flower bud was 2~5 cm, and disinfected with 0.1% HgCl_2 for 10 min were the most effective with the average contamination rate of 15.00% and survival rate of 75%. The optimal medium developing callus induction and shoot differentiation of pedicels was MS medium supplemented with 1.0 mg/L 6-BA and 1.0 mg/L NAA, the induction rate was 59.09% and differentiation rate was 50%.

Key words: *Iris ensata* L.; tissue culture; induction; differentiation