

风信子离体快繁技术研究

刘 爽, 孙余丹, 李叶青

(湛江师范学院 生命科学与技术学院, 广东 湛江 524048)

摘 要:利用离体快繁技术,以风信子的鳞茎为外植体,添加不同浓度 6-BA 和 NAA 进行不定芽的诱导、不定芽的继代和生根培养。结果表明:鳞片的初代最佳诱导培养基为:MS+6-BA 1.5 mg/L+NAA 0.3 mg/L,诱导率达到 80%;最佳继代培养基为:MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L;生根诱导最佳培养基:1/2MS+NAA 0.3 mg/L,生根率可达 90%。

关键词:风信子;鳞茎;不定芽;6-BA;NAA

中图分类号:S 682.2⁺9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2011)20-0137-03

风信子(*Hyacinthus orientalis* L.)又名西洋水仙、五色水仙,为百合科风信子属多年生具鳞茎的草本植物,花有紫、白、红、蓝等颜色,香气清雅,是世界著名的观赏花卉。我国风信子也已进入家庭和公共场所空间,需求量在逐年增加。

风信子在自然条件下利用种子繁殖可以避免病毒积累,但是实生苗的培育大约需要 4 a,移栽后,需 1~2 a 才能开花^[1];通过分球繁殖,数量有限;鳞片扦插易腐烂,成活率低,且易造成退化^[2]。采用离体快繁技术进行风信子的快速繁殖,很好地解决了其鳞茎的季节性休眠、环境适应难、品种退化、分球繁殖系数低等问题,从而满足市场的大量要求。目前,国内对风信子也进行了不少的研究,但仍未取得很好的成效。该试验利用风信子的鳞茎进行离体快繁研究,由鳞茎分化生芽生根,为其快繁提供一定的参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 外植体的选择 风信子的鳞茎数量相对较多,受季节性的影响较小,是非常适合器官发生的外植体^[3],在直接器官发生和间接器官发生途径上均较容易得到再生植株,故该研究选择了鳞茎为风信子的外植体。该试验选用的风信子品种是:白花卡耐基(Carnegie)风信子晚花种。

1.1.2 培养基和培养条件 直接诱导不定芽培养基:(1)MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L、(2)MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L、(3)MS+6-BA 1.5 mg/L+NAA 0.3 mg/L、(4)MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.6 mg/L、(5)MS+6BA 5.0 mg/L+

NAA 1.0 mg/L;不定芽继代培养基:(6)MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L;生根诱导培养基:(7)1/2MS+NAA 0.05 mg/L、(8)1/2MS+NAA 0.1 mg/L、(9)1/2MS+NAA 0.3 mg/L、(10)1/2MS+NAA 0.5 mg/L、(11)1/2MS+NAA 1.0 mg/L。培养条件为:培养室的温度(25±2)℃,光照强度为 2 000 lx,光照时间在 12~14 h/d 左右。生根培养时适当减少一定量的光照强度和光照时间。

1.1.3 仪器与试剂 主要仪器:电子天平、卧式高压蒸汽锅、超净工作台;试剂:75%酒精、0.1%升汞、琼脂、蔗糖、MS 母液、NAA、6-BA。

1.2 试验方法

鳞茎的消毒灭菌:取健壮无病毒的鳞茎,首先流水冲洗 45 min,在超净工作台中用 70%~75%的乙醇浸泡 5 min,然后用 0.1%氯化汞消毒 8 min 后,用无菌水漂洗 2 次,去掉鳞茎的外皮和外部 2~3 层鳞片后,切去少许顶部及基部,剥开一层一层的鳞片,将鳞片置于 0.1%氯化汞继续消毒 10 min,最后用无菌水冲洗 5 次,待接种^[4]。培养方法:将鳞片剪成 1 cm×1 cm 大小的方块,接种到不定芽培养基上(鳞茎外植体近轴面向上),诱导不定芽的形成。待到外植体萌发产生较密集的不定芽后,分割成适当的小块,培养在继代培养基中,培养 2 个星期左右得到较为健壮的幼苗,将其转到生根培养基中进行生根培养。

2 结果与分析

2.1 不定芽的诱导

当细胞分裂素浓度等于生长分裂素时,随着生长分裂素浓度的提高,鳞片再生不定芽的频率增高,平均分化不定芽的数量也增加。当细胞分裂素浓度高于生长素浓度且大约等于生长素的 5 倍时,鳞片分化不定芽的频率最高,平均分化不定芽的数量也最多。当细胞分裂素浓度低于生长素浓度时,随着生长素浓度的提高,鳞片再生不定芽的频率降低,平均每块鳞片分化不定芽的数量也减少。不同培养基的激素浓度不同对

第一作者简介:刘爽(1980-),女,黑龙江伊春人,硕士,讲师,现主要从事园林方面的教学研究工作。E-mail: liushuangaaa@163.com。

收稿日期:2011-07-18

芽的诱导的影响结果如表 1 所示。

接种到培养基(3)中的鳞片小块,培养 1 个月后,鳞片上开始出现白色突起(即小鳞茎),3 周后开始分化,产生较密集的丛生芽,诱导效果很好,20 块外植体中 16 块都长出小芽,诱导率达 80%(图 1);接种到培养基(1)、(2)中的鳞茎培养的时间相对较长,而且形成

的小鳞茎也稀疏,诱导率也相对较低;接种到(4)、(5)的鳞茎分化较快,诱导率也相对较高,但是(5)分化出较多的愈伤组织,不利于芽的产生,使得芽稀少(图 2)。由此可见,风信子鳞片诱导不定芽的最佳培养基(3) MS+6-BA 1.5 mg/L+NAA 0.3 mg/L。

表 1 不同培养基对不定芽的诱导情况

不同培养基/mg·L ⁻¹	外植体数/块	分化数/块	诱导率/%	芽分化的情况
(1)MS+6-BA 0.5+NAA 0.1	20	7	35	40 d 开始分化形成稀少的不定芽
(2)MS+6-BA 1.0+NAA 0.2	20	15	75	32 d 开始分化稀疏的不定芽
(3)MS+6-BA 1.5+NAA 0.3	20	16	80	30 d 开始分化较密而多的不定芽
(4)MS+6-BA 2.0+NAA 0.5	20	14	70	28 d 开始分化较密的不定芽
(5)MS+6-BA 5.0+NAA 1.0	20	18	90	20 d 开始分化愈伤和稀少的不定芽

2.2 不定芽继代扩繁

目前关于风信子继代扩繁的研究比较少,繁殖系数也比较低。Paek 认为,不定芽继代的最佳培养基是 MS+IAA 1.0 mg/L+IBA 1.0 mg/L^[5],吕燕波等认为适于芽生长培养基 MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 2.0 mg/L^[6],而赵秀芳则认为 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L 是不定芽继代培养的最佳培养基,通过试验结果比较,赵秀芳的培养基得到相对较好的效果,故该试验的不定芽继代扩繁选择了培养基为(6) MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L。将诱导出的不定芽丛切成带 2~3 个芽的小块,接种于继代培养基(6)中,蔗糖 30 g/L,琼脂 5 g/L。培养 4 周后,继代培养基(6)上的不定芽生长快且健壮,高于 2 cm 的苗数也很多,20 块外植体带芽小块中就有 15 块上的不定芽数增加 1~2 个,诱导率达到 75%(图 3)。

2.3 生根培养

将健壮的幼苗接种在生根培养基(9)中,培养 3 周后分化出根,且较为粗壮,7 周后观察到根的长度可达 2~3 cm,平均每株再生苗有 3~4 条不定根,生根率达到 90%(图 4);接种到培养基(7)、(8)中,幼苗的根较稀少而且很细弱;接种到培养基(10)中,幼苗的根较多但细弱(图 5);接种到培养基(11)中,幼苗的根稀少且细弱。所以最佳生根培养基为:(9) 1/2MS+NAA 0.3 mg/L,蔗糖 20 g/L,琼脂 7 g/L(表 2)。

表 2 不同培养基对风信子生根的诱导情况

不同培养基/mg·L ⁻¹	外植体数	长根块数	长根率/%	长根的情况
(7)1/2MS+NAA 0.05	20	12	60	根稀少
(8)1/2MS+NAA 0.1	20	14	70	根较稀疏
(9)1/2MS+NAA 0.3	20	18	90	根数多且较长
(10)1/2MS+NAA 0.5	20	16	80	根较多但细弱
(11)1/2MS+NAA 1.0	20	14	70	根较稀少且细弱



图 1 鳞茎诱导培养的不定芽

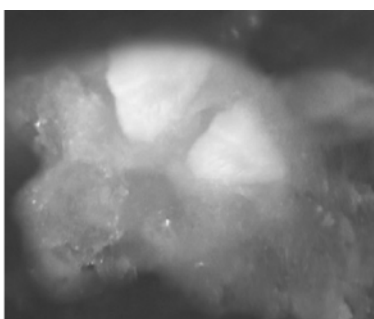


图 2 鳞茎诱导不定芽的愈伤组织和不定芽

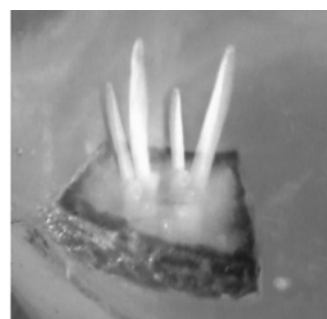


图 3 鳞茎继代培养的不定芽



图 4 鳞茎不定芽诱导生根
(添加 0.3 mg/L NAA 培养基)



图 5 鳞茎不定芽诱导生根
(添加 0.5 mg/L NAA 培养基)



图 6 鳞茎诱导不定芽的小鳞茎

3 小结与讨论

3.1 外植体分化途径

不同的激素及其组合直接影响着风信子外植体的分化途径,在基本培养基 MS 中,风信子鳞片不用添加任何的激素便可长出小鳞茎,但不定芽的生长需要添加一定浓度的激素,先形成愈伤后进一步诱导小鳞茎也是比较困难,因为愈伤组织不利于芽的产生;所以该试验外植体分化途径为:鳞片直接形成小鳞茎,再由小鳞茎诱导形成芽(图 6)。

3.2 继代扩繁的途径

风信子继代扩繁的繁殖系数较低,途径有以下 3 种:①以小鳞茎继代;②以不定芽继代;③不定芽发育成小鳞茎方式继代。风信子以小鳞茎方式进行继代时,无论添加激素 6-BA 还是 NAA,抑或是它们的组合,小鳞茎只是在重量上增加了,数量上没有明显的增加;不定芽发育成小鳞茎方式继代时,在不定芽转接到添加了 GA 或 NAA 的培养基中,1 个月后不定芽才发育成细小的鳞茎,这种方法扩繁的时间很长,而且系数也很低,不能够达到快繁的目的;所以该试验选择以不定芽直接继代的方式扩繁。

3.3 生根诱导途径

不定芽生根诱导的途径有 2 条:一条是试管(瓶)内生根,另一条是试管(瓶)外生根。试管内生根有利于难生根植物生根。因为风信子是需要较长时间才能开花、较难生根的植物,所以该试验研究选择试管内生根。通过不同浓度的 6-BA 和 NAA 组合配比对风

信子鳞茎的鳞片诱导不定芽的试验结果进行分析,其中培养基(2)、(3)、(5)的诱导率都达到 75%以上,最早诱导出芽的是培养基(5),但不定芽的长势和数量都比培养基(3)的差很多。因此培养基(3) MS + 6-BA 1.5 mg/L + NAA 0.3 mg/L 最适合于风信子不定芽的诱导,即 6-BA 和 NAA 组合配比倍数大约为 5 倍时最好,6-BA 和 NAA 的浓度过低或过高都不利于不定芽的形成。

对风信子小鳞茎生根的研究中可以得出,使用 NAA 的浓度在 0.3~0.5 mg/L 生根率达到 80%以上,而且根数也比较多,但是 NAA 的浓度为 0.3 mg/L 时根的长度最长,也比较粗壮。也就是说,浓度为 0.3 mg/L NAA 最适合风信子鳞茎生根的诱导,NAA 的浓度过高或过低都不利于根的形成。

参考文献

- [1] 林伯年,堀内昭作.园艺植物繁育学[M].上海:上海科学技术出版社,1994.
- [2] 赵秀芳.风信子组培快繁技术的研究[J].山东林业科技,2004(1):26-27.
- [3] Chung J D, Chun C K, Choi S O. Variation of totipotency form individual organ parts of *Hyacinthus orientalis* cultured *in vitro* a different growth stages [J]. Journal of the Korean Society for Horticultural Science, 1984, 23(4): 353-360.
- [4] 沈海龙.植物组织培养[M].北京:中国林业出版社,2005.
- [5] Paek K Y. Studies on the clonal propagation by the culture of bulb scale segments, inflorescence stems and flower-buds in hyacinths [J]. Plant Tissue Culture, 1982, 55: 713-714.
- [6] 吕燕波,陈善娜.风信子子房的组织培养[J].云南大学学报(自然科学版),1998,20(5):395-396.

Study on the Rapid Propagation *in vitro* of Common *Hyacinthus*

LIU Shuang, SUN Yu-dan, LI Ye-qing

(School of Bioscience and Technology, Zhanjiang Normal College, Zhanjiang, Guangdong 524048)

Abstract: From the body of rapid propagation technique, taking bulb of *Hyacinthus* as explant addition different of 6-BA and NAA, directly *in vitro* shoot induction, *in vitro* shoot subculture multiplication and root of training. The results showed that the scales at best and inductive medium was MS+6-BA 1.5 mg/L+NAA 0.3 mg/L, induction rate of 80%; The best medium on subculture multiplication was MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L; Take root induction medium; 1/2 best MS with NAA 0.3 mg/L, rooting rate could amount to 90%.

Key words: common *Hyacinthus*; scale; adventitious bud; 6-BA; NAA