

五种新品种多倍体萱草离体快繁技术研究

宋雪莲, 董 然, 赵和祥, 顾德峰

(吉林农业大学 园艺学院, 吉林 长春 130118)

摘 要:以 5 个新品种多倍体萱草的幼嫩花茎分蘖的节间为外植体, 成功建立了 5 个品种的快繁体系。结果表明: 愈伤诱导最佳培养基为 MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L+2,4-D 0.5 mg/L; 在增殖培养中, 品种“健壮利兰”最佳增殖培养基为 MS+6-BA 4 mg/L+NAA 0.4 mg/L, 增殖倍数为 3.12; “浅紫荷”、“Pink Embers”最适增殖培养基为 MS+6-BA 5 mg/L+NAA 0.5 mg/L, 增殖倍数分别为 2.93、3.02; “耀辉”、“Bed of Roses”最佳增殖培养基为 MS+6-BA 2 mg/L+NAA 0.2 mg/L, 增殖倍数分别为 3、2.87。培养基 1/2MS+NAA 0.4 mg/L 为“健壮利兰”与“耀辉”最适生根培养基, 生根率为 100%; “浅紫荷”、“Pink Embers”在 1/2MS+NAA 0.5 mg/L 培养基中生根率达到 100%; “Bed of Roses”在 1/2MS+NAA 0.6 mg/L 培养基中生根率也达到 100%。其移栽成活率为 100%。

关键词:多倍体萱草; 新品种; 快速繁殖

中图分类号: S 682.1⁺9 文献标识码: A 文章编号: 1001-0009(2011)07-0127-03

萱草属为百合科多年生草本花卉, 其植株健壮, 根系肥大, 抗旱、抗病虫能力强, 且花大色艳, 叶形、叶姿、叶色极其优美, 是优秀的园林绿化、庭院观赏植物。但是, 目前通过传统的繁殖方式已不能满足市场的需求量, 为了满足市场对多倍体萱草的需求, 增加新品种多倍体萱草的数量, 取代一成不变的萱草品种应用, 缓解目前多倍体萱草传统繁殖技术不能满足市场需求的困境。该试验从实际出发, 在对国内外优良品种异地引进适应性调查与综合评价研究的基础上, 结合吉林省的地域特点, 从 45 个品种中选出值得推广应用的 5 种优良的新品种多倍体萱草即“浅紫荷”、“耀辉”、“健壮利兰”、“Pink Embers”、“Bed of Roses”。“浅紫荷”属中株型、粗地茎、大花径、多花品种, 抗倒伏能力强、花期长; “耀辉”属高株型、中地茎、中花径、中花品种, 抗倒伏能力相对较强、花姿优美、花期相对较长; “健壮利兰”属中株型、粗地茎、中花径、中花品种, 花色纯正、艳丽、饱和度高且绿期相对较长, 是十分罕见的鲜红色品种; “Pink Embers”属中株型、粗地茎、中花径, 是早花期多花品种; “Bed of Roses”属高株型、粗地茎、中花径、多花品种, 花期结束较晚; 5

个品种花期先后衔接, 且花色各异, 可丛植、可应用于地被植物、可林下栽植, 且生长健壮, 可弥补空花期的缺憾, 因此选其进行离体快繁技术研究, 可为下一步工厂化生产和转基因培育新品种提供理论依据和技术支持。

1 材料与方法

1.1 试验材料

“浅紫荷”株高 40~50 cm, 浅紫色, 花茎 12~14 cm, 花期 15 d; “耀辉”株高 44~46 cm, 橙红色有橙色韵, 花茎 13.5~15 cm, 花期 41 d; “健壮利兰”花萼高 42 cm, 具有金属光泽的鲜红色, 花茎 13 cm, 花期 15 d; “Pink Embers”花萼高 0.8 cm, 花浅鲜肉色, 花茎 13.8 cm, 花期 22 d; “Bed of Roses”花萼高 50.7 cm, 深珊瑚色, 花茎 14.2 cm, 花期 33 d; 材料均取自吉林农业大学园艺学院花卉资源圃中, 以花茎分蘖的幼嫩节间为外植体。

1.2 试验方法

试材进行预处理后, 洗去浮尘, 用流水冲洗 1 h 左右并加入洗衣粉进行冲洗。在超净工作台上, 用无菌水冲洗 3~4 次, 然后放在 75% 的酒精中震荡 5 s 后用无菌水冲洗掉酒精, 放入 0.1% HgCl₂ 中消毒 13 min, 并加入 1 滴吐温-80 加强洗涤作用。接着用无菌水冲洗 5~6 次, 切成 1.5 cm 的小段, 用灭过菌的滤纸吸干水分后分别接种于诱导愈伤组织的培养基中(表 1), 每个处理 10 瓶, 每瓶接种 4 个外植体, 45 d 后统计其出愈率和萌芽率, 并将愈伤组织接种于丛生芽诱导的培养基中(表 2), 后接种于同样的培养基中进行增殖培养, 20 d 后观察丛生芽增殖情况。在试管苗长至 4 cm 时接种于生根培养基中(表 3)进行生根培养 15 d 统计其生根率并进行练苗移栽。

第一作者简介:宋雪莲(1981-), 女, 在读硕士, 现主要从事植物组织培养研究工作。

责任作者:顾德峰(1956-), 男, 教授, 硕士生导师, 现主要从事园林植物组织培养及离体快繁与野生观赏植物引种驯化和种质资源创新等研究工作。E-mail: gu.df@163.com。

基金项目:吉林省科技厅重点资助项目(20100259)。

收稿日期:2011-01-13

上述培养基均为蔗糖浓度 30 g/L, 琼脂 6 g/L, pH 5.8。培养温度为 (23±2)℃, 光照强度为 2 000 lx, 光照时间为 14 h/d。

表 1 诱导愈伤组织培养基				
培养基	6-BA/ mg · L ⁻¹	NAA/ mg · L ⁻¹	2,4-D/ mg · L ⁻¹	接种数/ 个
Q1	-	-	-	40
Q2	0.5	0.1	-	40
Q3	0.5	0.1	0.5	40
Q4	0.5	0.1	1	40
Q5	1	0.05	1	40
Q6	1	0.1	2	40
Q7	1	0.5	0.5	40
Q8	2	0.05	2	40
Q9	2	0.1	0.5	40
Q10	2	0.5	1	40

表 2 诱导丛生芽及增殖培养基			
培养基	6 BA / mg · L ⁻¹	NAA/ mg · L ⁻¹	接种数/ 丛
Z1	-	-	20
Z2	1	0.1	20
Z3	2	0.2	20
Z4	4	0.4	20
Z5	5	0.5	20

表 3 诱导生根培养基		
培养基	NAA/ mg · L ⁻¹	接种数/ 株
G1	0.1	40
G2	0.4	40
G3	0.5	40
G4	0.6	40
G5	1	40
G6	2	40

2 结果与分析

2.1 不同基因型多倍体萱草愈伤组织诱导及不定芽形成的差异

目前, 多倍体萱草组织培养技术已达到纯熟阶段, 但是, 由于品种基因型的不同, 在组织培养的过程中激素浓度的配比也有一定的差异。该试验根据前人的报道^[1-3], 参照其研究结果, 统一以 MS 培养基为基本培养基, 分别配以不同激素种类和浓度, 进行诱导萱草愈伤组织的形成及不定芽的生成。结果表明(表4), 5 种不同基因型的多倍体萱草在不同的激素配比浓度的培养基上, 其出愈率和幼芽诱导率均不同。出愈率表现为: “健壮利兰”>“耀辉”、“Pink Embers”>“浅紫荷”>“Bed of Roses”; 幼芽诱导率表现为: “健壮利兰”>“耀辉”>“Pink Embers”>“Bed of Roses”>“浅紫荷”。5 个品种出愈率同在 Q2、Q3、Q4、Q5 有不同的表现, 萌芽率同在 Q3、Q4、Q5 有不同的表现。从表 4 还可看出, 在 Q3 培养基上, 5 种不同基因型多倍体萱草的愈伤诱导率和萌芽率均最佳 Q3; MS+6-BA 0.5 mg/ L+NAA 0.1 mg/ L+2,4-D 0.5 mg/ L 可做 5 个不同基因型多倍体萱草品种的共同愈伤诱导培养基。且愈伤组织质地致密, 呈乳白色, 其不定芽浓绿健壮。

表 4 激素对不同基因型多倍体萱草愈伤诱导的影响

培 养 基	健壮利兰		浅紫荷		耀辉		Bed of Roses		Pink Embers	
	出愈 率/ %	萌芽 率/ %	出愈 率/ %	萌芽 率/ %	出愈 率/ %	萌芽 率/ %	出愈 率/ %	萌芽 率/ %	出愈 率/ %	萌芽 率/ %
Q1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Q2	19	0	18	0	29	0	18	0	17	0
Q3	81	78	77	56	79	74	73	63	77	73
Q4	30	26	27	25	36	29	28	26	25	24
Q5	52	40	50	32	53	41	48	35	43	37
Q6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Q7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Q8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Q9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Q10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

2.2 植物生长调节剂对不同基因型多倍体萱草增殖的影响

在以 MS 培养基为基本培养基的基础上, 添加不同浓度的 6-BA、NAA 对不同基因型多倍体萱草品种进行增殖培养。据报道^[46], 大多数萱草增殖培养以植物生长调节物质即细胞分裂素浓度是生长素浓度的 10 倍, 而该配比浓度也经常应用于大多数草本植物组织培养中^[78]。该试验设置了 6 种浓度梯度, 研究结果见表 5。该试验在上述的培养条件下, 试管苗丛生芽发育正常, 叶色浓绿, 长势健壮, 无玻璃化现象。其增殖倍数如下: “健壮利兰”在 Z4 培养基中增殖倍数为 3.12, “浅紫荷”在 Z5 培养基中增殖倍数为 2.93, “耀辉”在 Z3 培养基中增殖倍数为 3, “Bed of Roses”在 Z3 培养基中增殖倍数为 2.87, “Pink Embers”在 Z5 培养基中增殖倍数为 3.02。

表 5 激素对不同基因型多倍体萱草增殖的影响

培 养 基	健壮利兰		浅紫荷		耀辉		Bed of Roses		Pink Embers	
	总芽 数/ 个	增殖 倍数	总芽 数/ 个	增殖 倍数	总芽 数/ 个	增殖 倍数	总芽 数/ 个	增殖 倍数	总芽 数/ 个	增殖 倍数
Z1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Z2	75	1.25	0	0	92	1.53	103	1.72	0	0
Z3	98	1.63	80	1.33	180	3	172	2.87	75	1.25
Z4	187	3.12	105	1.75	109	1.82	84	1.4	100	1.67
Z5	0	0	176	2.93	0	0	0	0	181	3.02

2.3 NAA 浓度对不同基因型的多倍体萱草生根诱导的影响

以 1/2MS 培养基为基本培养基, 添加不同浓度的 NAA, 进行生根培养。萱草品种对其生根的条件也不是十分严格, 在大多数生根培养基中, 都能达到生根的目的, 但为其工厂化生产做前期准备, 应保证幼苗的质量和产量, 并在短时间内达到生根健壮, 植株健壮的效果。该试验设置了 6 种 NAA 梯度浓度, 结果表明(表 6), “健壮利兰”在 G2 中、“浅紫荷”在 G3 中、“耀辉”在 G2 中、“Bed of Roses”在 G4 中、“Pink Embers”在 G3 中都能够 在 15 d 达到具有 2~4 cm 的 5 条以上的粗壮根, 且生长健壮, 在培养中呈淡绿色或乳白色, 在培养基外则为白色并可见密集的根毛。

表6 NAA 浓度对不同基因型的多倍体萱草生根诱导的影响

培养基	健壮利兰		浅紫荷		耀辉		Bed of Roses		Pink Embers	
	生根数/株	生根率/%	生根数/株	生根率/%	生根数/株	生根率/%	生根数/株	生根率/%	生根数/株	生根率/%
G1	0	0	5	13	10	25	0	0	0	0
G2	40	100	31	78	40	100	7	18	20	50
G3	29	73	40	100	31	76	28	70	40	100
G4	18	45	28	70	25	63	40	100	27	68
G5	15	38	13	33	9	23	19	48	0	0
G6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

2.4 试管苗的练苗与移栽

当试管苗根长 2~3 cm 时,在室内日常光照下练苗 3 d,将已生根的健壮幼苗从培养瓶中取出,用自来水洗净根部的培养基,然后栽在比例为 1 : 1 的上沙下土的营养钵中,放在半阴半阳的地方并套袋保湿 5 d,以防水分流失,造成幼苗枯萎,后期逐渐加强光照至全日照,成活率达 100%。

3 结论

目前,该 5 个多倍体萱草品种,数量较少,还未进入市场。因此,通过组织培养技术建立离体快繁体系,为即将工厂化生产做好充足准备工作,在最短时间内生产出大量的优质、整齐的萱草种苗,以满足市场的需求及解决优良多倍体萱草品种快速繁殖技术的难题。

不同基因型多倍体萱草,在离体培养过程中,不同激素浓度对比对 5 种多倍体萱草愈伤组织及不定芽诱导的影响效果基本一致。但在同一品种中,激素配比浓度则有较大的差异,激素浓度过高则不形成愈伤组织和不定芽,30 d 后则慢慢死亡;2,4-D 可以加快愈伤组织的形成,但高浓度的 2,4-D 形成的愈伤组织为黄白色,随着培养物时间的延长则逐渐变为黄色且质地变成蜂窝状,严重影响其愈伤组织和幼苗的生长状态。因此低浓

度的适宜的激素更适合形成良好的愈伤组织。Q3 则为 5 个品种的最适愈伤诱导培养基。在增殖培养中,Z4 为“健壮利兰”最佳增殖培养基,其增殖倍数为 3.12;Z5 为“浅紫荷”、“Pink Embers”最适培养基其增殖倍数分别为 2.93、3.02;Z3 为“耀辉”、“Bed of Roses”最佳增殖培养基,其增殖倍数分别为 3、2.87,且生长健壮,叶色浓绿,无玻璃化现象。在诱导生根中,“健壮利兰”与“耀辉”在 G2 培养基中最佳,生根率为 100%;“浅紫荷”、“Pink Embers”在 G3 培养基中生根率也达到 100%;而“Bed of Roses”在 G4 培养基中生根率也达到 100%。5 个品种均可在 15 d 时达到 5 条以上的根数,且生长健壮,移栽成活率 100%,在生根环节可比已报道品种生根节省时间 3~5 d^[9-10]。

参考文献

[1]倪新,马毓.多倍体萱草的组织培养及其繁殖[J].园艺学报,1984,11(3):202-207.
[2]胡世宽,李雅英,段普凡,等.大花萱草快速繁殖技术研究[J].河北省科学院学报,1987(2):71-76.
[3]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,1990,2(3):137-141.
[4]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].河北农业科学,2006(8):120-122.
[5]张伟丽,刘凤民,许旭丹.组培法筛选高抗盐大花萱草品种的初步研究[J].北方园艺,2009(11):184-186.
[6]李秀华,杜贞,武银玉,等.大花萱草组培快繁体系的研究[J].植物研究,2009,29(6):757-762.
[7]李黎,陈菲,曲彦婷.重瓣丝石竹的组织培养与快速繁殖[J].国土与自然资源研究,2004(2):96.
[8]朱海军,俞红强,金迪,等.蓝刺头的组织培养和快速繁殖[J].植物生理学通讯,2007,43(2):313.
[9]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(自然科学版),2007,21(4):87-91.
[10]王蓉,杨彬,李秀霞.“红宝石”萱草的组织培养快繁技术研究[J].北方园艺,2009(9):173-175.

Research on Rapid Propagation Technique of *Hemerocallis hybrida* Polyploid of 5 New Species

SONG Xue-lian, DONG Ran, ZHAO He-xiang, GU De-feng
(College of Horticulture, Jilin Agricultural University, Changchun, Jilin 130118)

Abstract: The internode of tillering scape immature of *Hemerocallis hybrida* polyploid of 5 new species as explants, the successful establishment of five species of rapid propagation system. The results showed that the best medium for callus induction was MS + 6-BA 0.5 mg/L + NAA 0.1 mg/L + 2,4-D 0.5 mg/L, in the proliferation culture, the best proliferation medium for ‘Jianzhuanglilan’ MS + 6-BA 4 mg/L + NAA 0.4 mg/L, the proliferation of multiple was 3.12; ‘Qianzhe’, ‘Pink Embers’ the best proliferation of multiple for MS + 6-BA 5mg/L + NAA 0.5 mg/L, the proliferation of multiple, respectively 2.93, 3.02; ‘Yaohui’, ‘Bed of roses’ the best proliferation medium was MS + 6-BA 2 mg/L + NAA 0.2 mg/L, the proliferation was 3, 2.87. Medium 1/2MS + NAA 0.4 as ‘Jianzhuanglilan’ and ‘Yaohui’ rooting medium, the rooting rate was 100%; ‘Qianzhe’, ‘Pink Embers’ in the rooting medium 1/2MS + NAA 0.5 rate of 100%; ‘Bed of roses’ in the rooting medium 1/2MS + NAA 0.6, rate of 100%. The transplant survival rate of 100%.

Key words: *Hemerocallis hybrida*; new species; rapid propagation