

四个玉簪品种组培快繁研究

胡岷桐¹, 王克凤², 顾德峰¹

(1. 吉林农业大学 园艺学院, 吉林 长春 130118; 2. 长春科技学院, 吉林 长春 130600)

摘要:为推进玉簪工厂化育苗进程,以 MS 为基本培养基,研究不同激素配比培养基对 4 个玉簪品种组培苗组培快繁的影响。结果表明:*Hosta* 'Big Daddy' 在 MS+4.0 mg·L⁻¹6-BA+0.2 mg·L⁻¹NAA 培养基上的启动效果最好。金鹰和小黄金叶在 MS+3.5 mg·L⁻¹6-BA+0.2 mg·L⁻¹NAA 培养基上的启动效果最好。MS+2.5 mg·L⁻¹6-BA+0.2 mg·L⁻¹NAA 为翠鸟最适启动培养基。4 个玉簪品种均在 6-BA5.0 mg·L⁻¹+NAA 0.2 mg·L⁻¹培养基上的增殖效果最好。

关键词:玉簪; 茎尖; 快繁

中图分类号:S682.1⁺9; Q945.51 **文献标识码:**A **文章编号:**1002-2767(2015)05-0020-03 DOI:10.11942/j.issn1002-2767.2015.05.0020

玉簪(*Hosta plantaginea*), 百合科(Liliaceae)玉簪属(*Hosta*), 亚洲东部特有的新兴园林绿化植物。近年来,我国玉簪属植物的研究集中在系统分类^[1]、药理^[2]、光合特性^[3]等方面。对玉簪组织培养研究并不深入。目前国外玉簪的组织培养研究主要围绕降低生产成本、缩短生长周期和寻找离体材料保存的适宜条件^[4-5],以及玉簪悬浮培养技术和方法的探讨^[6]等方面。王春婷等^[7]、张红娣等^[8]分别用未成熟胚芽和根为外植体,对玉簪进行了组织培养快繁技术研究。杨丹等^[9]以幼嫩的花蕾为外植体诱导不定芽,建立离体快繁体系。本文以繁殖速度最快的组织培养方式进行繁殖培育,在预选的 16 个来自国外的品种当中筛选出最优性状的 4 个品种,对其植株在不同季节的繁殖速率进行研究,筛选出最适宜玉簪扩繁的季节和培养基类型,以及组培技术手段,从而提高繁殖速度,降低由国外引种的费用,同时也为玉簪的工厂化育苗提供可靠依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为国外引进的 *Hosta* 'Big Daddy'、金鹰、小黄金叶以及翠鸟。4 个优良玉簪品种均具有抗萎蔫能力强,对强光照具有一定适应性,并且自身具有抗病虫和蜘蛛害的特点。

收稿日期:2014-12-30

第一作者简介:胡岷桐(1989-),女,吉林省长春市人,硕士,从事园林植物资源与种质创新研究。E-mail:humintong@163.com。

通讯作者:顾德峰(1956-),男,硕士,教授,从事园林植物资源与种质创新研究。E-mail:gu.df@163.com。

1.2 方法

1.2.1 外植体灭菌 选择生长健壮无离体变异产生的植株。选取茎尖部位,剥去外层叶柄,露出包含潜伏芽的部位,在自来水下冲洗 30 min,然后在无菌操作室的超净工作台上对外植体进行灭菌。切取包含生长点,长度约为 2 cm 的茎尖,用 75%酒精浸泡 30 s,然后在 0.1% HgCl₂ 中浸泡 8 min,再用无菌水冲洗 6~8 次。试验所用的外植体分别取于 2012 年 4 月和 7 月。

1.2.2 启动培养 将灭菌后的外植体,分别接种于含不同浓度 6-BA 的启动培养基中,6-BA 浓度分别为 2.5、3.5 和 4.0 mg·L⁻¹。每次接种 30 瓶,每瓶 1 个外植体,3 次重复。接种 30 d 后统计启动率。启动率(%)=(萌动的外植体总数/未污染的外植体总数)×100。

1.2.3 增殖培养 将萌动成为多株的植株分割成单株,修剪成高约 2~3 cm 的植株,分别接种于不同激素配比的培养基中,分别为 Z1:6-BA 1.0 mg·L⁻¹+NAA0.1 mg·L⁻¹; Z2:6-BA1.0 mg·L⁻¹+NAA0.2 mg·L⁻¹; Z3:6-BA1.0 mg·L⁻¹+NAA0.3 mg·L⁻¹; Z4:6-BA3.0 mg·L⁻¹+NAA0.1 mg·L⁻¹; Z5:6-BA3.0 mg·L⁻¹+NAA0.2 mg·L⁻¹; Z6:6-BA3.0 mg·L⁻¹+NAA0.3 mg·L⁻¹; Z7:6-BA 5.0 mg·L⁻¹+NAA0.1 mg·L⁻¹; Z8:6-BA5.0 mg·L⁻¹+NAA0.2 mg·L⁻¹; Z9:6-BA5.0 mg·L⁻¹+NAA0.3 mg·L⁻¹; 每次处理 5 瓶,每瓶 10 株,3 次重复。继代 1 个月后,观察玉簪生长状态,统计丛生芽增殖率。增殖系数=增殖瓶数/接种总瓶数。

基本培养基选用 MS,添加蔗糖 30.0 g·L⁻¹,

琼脂 $6.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, pH5.8~6.0, 培养温度为 $(24 \pm 2)^\circ\text{C}$, 光照强度为 2000 lx , 光照时间为 $14 \text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$ 。启动培养基中额外添加 NAA $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

1.2.4 数据处理 试验数据用 Excel 2003 和 DPSv7.05 统计软件进行分析。

2 结果与分析

2.1 取材季节对外植体灭菌效果和启动率的影响

表 1 结果表明, 接种 7 d 以后, *Hosta* ‘Big Daddy’、金鹰和翠鸟 3 个玉簪品种多数外植体的染菌率会随着取材季节的延后而升高。可能是由于 4 月份处于玉簪休眠期或萌动前期, 玉簪植物体内积累了较丰富的营养和内源激素, 材料易启动^[13]。小黄金叶的污染率随取材季节的延后而下降, 在 4 月份的污染率为 38.9%, 7 月份下降到 21.4%。

2.2 不同激素浓度配对外植体启动效果的影响

由表 2 可见, 随着 6-BA 的浓度升高, *Hosta* ‘Big Daddy’ 的启动率呈现先下降后上升趋势。

当 6-BA 浓度为 $4.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 启动率最高, 达 100%。6-BA 浓度为 $2.5 \sim 3.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 启动率为 75.0%~80.0%, 不适宜启动。金鹰和小黄金叶的启动率均呈先上升后下降的趋势, 当 6-BA 浓度为 $3.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 启动率达最大值, 分别为 84.6% 和 83.3%。不同 6-BA 浓度对翠鸟启动效果影响不大, 3 个浓度处理下的启动率均超过 90%。当 6-BA 浓度为 2.5 和 $4.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 翠鸟的启动率均达 100.0%。

2.3 不同激素浓度配对外植体增殖效果的影响

由表 3 可知, 4 个玉簪品种均在 Z8 培养基(6-BA $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 的增殖效果最好, 金鹰、小黄金叶和翠鸟的增殖倍数均极显著大于其它培养基。*Hosta* ‘Big Daddy’ 在 Z8 培养基上的增殖倍数除与 Z3 和 Z4 差异不显著外, 均极显著大于其它处理, 在 Z2 培养基上的增殖倍数最小。金鹰在 Z1 培养基上的增殖倍数最小。小黄金叶在 Z6 培养基上的增殖倍数最小。翠鸟在 Z2 培养基上的增殖倍数最小。

表 1 不同取材季节对外植体灭菌效果的影响

Table 1 Effect of different sampling season on sterilization effect of explants

品种 Varieties	4 月 April			7 月 July		
	接种数 Number of explants	污染数 Number of contamination	污染率/% Contamination rate	接种数 Number of explants	污染数 Number of contamination	污染率/% Contamination rate
<i>Hosta</i> ‘Big Daddy’	27	4	14.8	30	10	33.3
金鹰	37	8	21.6	15	6	40.0
小黄金叶	36	14	38.9	14	3	21.4
翠鸟	39	1	2.6	10	4	40.0

表 2 不同激素浓度配对外植体启动效果的影响

Table 2 Effect of different hormone concentrations on start-up effect of explants

6-BA/ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	NAA/ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	<i>Hosta</i> ‘Big Daddy’			金鹰			小黄金叶			翠鸟		
		接种数 Number of explants	成活数 Survival rate	启动率/% Germination rate									
2.5	0.2	10	8	80.0	11	8	72.7	12	8	66.7	13	13	100.0
3.5	0.2	8	6	75.0	13	11	84.6	12	10	83.3	13	12	92.3
4.0	0.2	9	9	100.0	13	10	76.9	12	4	33.3	13	13	100.0

表3 不同激素浓度配比对外植体增殖效果的影响

Table 3 Effect of different hormone concentration on explants growth effect

培养基 Medium	6-BA/ (mg·L ⁻¹)	NAA/ (mg·L ⁻¹)	增殖倍数 Multiplication			
			<i>Hosta 'Big Daddy'</i>	金鹰	小黄金叶	翠鸟
Z1	1.0	0.1	(1.00±0.05) cC	(0.11±0.02) hH	(0.97±0.07) cC	(1.00±0.02) cC
Z2	1.0	0.2	(0.13±0.02) fF	(0.96±0.01) fgFG	(0.55±0.04) eE	(0.05±0.02) hG
Z3	1.0	0.3	(1.25±0.18) abAB	(1.02±0.05) efEF	(1.09±0.04) bB	(0.96±0.02) dC
Z4	3.0	0.1	(1.27±0.09) abAB	(1.26±0.10) dD	(0.71±0.05) dD	(0.12±0.02) gF
Z5	3.0	0.2	(0.33±0.03) eE	(1.96±0.09) cC	(0.36±0.02) fF	(0.69±0.02) fE
Z6	3.0	0.3	(1.13±0.08) bcBC	(2.12±0.03) bB	(0.05±0.03) gG	(1.32±0.02) bB
Z7	5.0	0.1	(0.70±0.02) dD	(1.11±0.02) eE	(0.65±0.04) dD	(0.81±0.01) eD
Z8	5.0	0.2	(1.35±0.10) aA	(3.99±0.07) aA	(2.70±0.03) aA	(2.52±0.02) aA
Z9	5.0	0.3	(1.04±0.03) cC	(0.87±0.04) gG	(0.66±0.02) dD	(0.11±0.03) gF

3 结论与讨论

控制或降低污染率是组织培养先期阶段的关键所在,也是提高组织培养工作效率的重点操作流程。综合考虑,玉簪最佳的外植体取材时间应该在植株生长开始阶段,此时萌动率高,细菌活性较低,污染率低。随着植株进入生长旺盛阶段,细菌活性较高,比较容易染菌。因此,接种的时间最好选择温度较低的春天。本试验结果表明,于4月份取材的外植体污染率小于7月份。这与郭晓东^[13]和徐刚^[14]等研究的结论一致。

*Hosta 'Big Daddy'*在MS+4.0 mg·L⁻¹ 6-BA+0.2 mg·L⁻¹ NAA培养基上的启动效果最好。金鹰和小黄金叶在MS+3.5 mg·L⁻¹ 6-BA+0.2 mg·L⁻¹ NAA培养基上的启动效果最好。翠鸟在MS+2.5或4.0 mg·L⁻¹ 6-BA+0.2 mg·L⁻¹ NAA培养基上的启动率均达到了100%,考虑经济因素,MS+3.5 mg·L⁻¹ 6-BA+0.2 mg·L⁻¹ NAA为翠鸟最适启动培养基。4个玉簪品种均在Z8培养基(6-BA5.0 mg·L⁻¹+NAA0.2 mg·L⁻¹)的增殖效果最好。

培养基内添加一定量的NAA,启动率会随着6-BA浓度的增加而升高,这与胡相伟^[15]的观点一致。通过对四种玉簪的继代增殖培养发现,在NAA浓度一定的情况下,6-BA浓度增减与植株增殖率呈正相关。这与白伟琴^[16]对波叶红果树的研究结果相同。在6-BA浓度较低的情况下,NAA的增殖效果都不明显。这与肖小君^[17]等的研究结果相同。张仁贵^[18]、王华宇^[19]和张新平^[20]等研究得出,当6-BA浓度为5.0 mg·L⁻¹时

抑制芽的增殖,且植株生长状态开始恶化。

参考文献:

- [1] 莫健彬. 玉簪属品种资源分类及耐热品种筛选[D]. 上海: 上海交通大学, 2008.
- [2] 解红霞, 薛培凤, 周静, 等. 蒙药玉簪花镇痛作用的实验研究[J]. 内蒙古医学院学报, 2010, 32(1): 36-38.
- [3] 李金鹏, 董然. 3种彩色叶玉簪光合日变化[J]. 东北林业大学学报, 2011, 39(10): 56-58, 70.
- [4] Wilson S B, Rajapakse N C. Media composition and light affect storability and poststorage recovery of micropropagated *Hosta* plantlets[J]. Hort Science, 2000, 35(6): 1159-1162.
- [5] Wilson S B, Rajapakse N C. Carbohydrate status and Post-storage recovery of micropropagated *Hosta* plantlets stored at varying temperatures in light or darkness[J]. Acta Hort, 2001, 543: 265-270.
- [6] Saito H, Nakano M. Plant regeneration from suspension cultures of *Hosta sieboldiana* [J]. Plant Cell, 2002, 71: 23-28.
- [7] 王春婷, 石大兴, 王米力. 紫萼玉簪的组织培养和快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 2006, 42(4): 685.
- [8] 张洪娣, 张琛, 吕卉, 等. 紫萼玉簪快速繁殖的研究[J]. 湖北农业科学, 2011, 50(1): 180-182.
- [9] 杨丹, 顾德峰, 董然, 等. 三种玉簪新品种离体快繁技术的研究[J]. 北方园艺, 2012(1): 124-126.
- [10] 李庆杰, 赫玉芳, 王婵, 等. 玉簪属植物研究进展[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(22): 11826-11829.
- [11] 崔佩荣, 刘洪章, 刘树英, 等. 玉簪属植物在抗性及其引种栽培方面的研究进展[J]. 北方园艺, 2013(10): 185-189.
- [12] 张金政, 施爱萍, 孙国锋, 等. 玉簪属植物研究进展[J]. 园艺学报, 2004, 31(4): 549-554.
- [13] 郭晓东. 预防和控制植物组织培养污染的研究[D]. 山西: 山西农业大学, 2005: 13.
- [14] 徐刚, 汪一婷, 吕永平, 等. 玉簪的组培快繁[J]. 中国花卉园艺, 2008(22): 15-17.
- [15] 胡相伟. 法兰西玉簪组培技术[J]. 甘肃科技, 2013, 29(4): 146-148.