

文献著录格式: 詹菁, 王健, 周洋, 等. 玉簪大父的组培快繁技术 [J]. 浙江农业科学, 2017, 58 (8): 1362-1363.

DOI: 10.16178/j.issn.0528-9017.20170822

玉簪大父的组培快繁技术

詹菁¹, 王健¹, 周洋¹, 马广莹²

(1. 杭州市萧山区高级技工学校, 浙江 杭州 311200; 2. 萧山棉麻研究所, 浙江 杭州 311202)

摘要: 以玉簪新品种大父的叶片、叶柄、幼芽 3 个部分为外植体, 经升汞、次氯酸钠无菌处理后接种在添加植物组培抗菌剂的诱导培养基上, 通过改变植物生长调节物质配比及浓度进行无菌苗的增殖、生根试验。结果表明, 最佳外植体为幼芽, 0.1% 升汞结合 0.2% 的植物组培抗菌剂无菌化效果最佳; 最适的增殖培养基为 MS + 6-BA 3.0 mg · L⁻¹ + NAA 0.2 mg · L⁻¹; 最适的生根培养基为 1/2MS + NAA 0.2 mg · L⁻¹。

关键词: 玉簪; 大父; 组织培养; 快繁

中图分类号: S68

文献标志码: B

文章编号: 0528-9017(2017)08-1362-02

玉簪又名白萼、白鹤仙, 为百合科玉簪属多年生宿根草本植物^[1]。因其花苞质地娇莹如玉, 状似头簪而得名。性强健, 耐寒冷, 属于典型的阴性植物, 喜阴湿环境, 不耐强烈日光照射, 否则叶片变黄, 生长不良。要求土层深厚, 排水良好且肥沃的砂质壤土, 中国大部分地区均能露地越冬, 是中国著名的传统香花, 深受人们喜爱。

玉簪常见的繁殖方式有种子播种或分株繁殖。种子繁殖耗时较长, 播后需 2~3 年才能开花; 分株繁殖生产效率低, 难以大批量生产, 且周期相对较长。因此, 运用组培繁殖技术进行大批量工厂化生产势在必行。目前, INN、紫萼、花叶玉簪等玉簪品种的组培繁殖技术已有报道。大父为直立高大型玉簪新品, 叶片巨大, 偏蓝色, 观赏性状突出, 其组培快繁技术尚无报道。作者结合前人的研究成果, 选用不同的外植体^[2], 通过改变植物生长调节物质配比及浓度进行无菌苗的增殖、生根实验, 为建立玉簪大父的组培快繁体系和进一步相关的研究提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试玉簪品种大父取自浙江省农业科学院萧山花卉研究开发中心。选取生长旺盛、无病虫害的植株, 分别剪取其幼嫩的叶片、叶柄、幼芽为外植

体, 开展组培快繁试验。用海绵和清洁剂溶液轻轻擦洗除去表面污物, 再用自来水冲洗干净备用。

1.2 方法

1.2.1 无菌处理试验

将清洗干净的叶片用剪刀剪去外缘, 然后剪成长宽约为 3 cm 的小块, 叶柄剪成 5 cm 左右的小段和幼芽作为外植体备用。在无菌条件下将 3 种外植体用 75% 酒精浸泡 30 s, 用灭菌水冲洗 2 遍后, 再进行 6 种无菌处理, A₁~A₆ 分别为用 0.1% 升汞处理 5、10、15 min, 2% 次氯酸钠处理 10、15、20 min。处理后用无菌水冲洗 3 次。灭菌及冲洗时需间歇性摇晃, 以增大接触面积, 提高灭菌效率。灭菌结束后将外植体转移到滤纸上吸去多余水分, 将叶片剪成长宽约 1.5 cm 的小块, 将叶柄剪成长约 1.5 cm 的小段, 剥去幼芽外层叶片, 将 3 种处理好的外植体接种在诱导培养基 MS + 6-BA 1.0 mg · L⁻¹ + NAA 0.2 mg · L⁻¹ + 3% 蔗糖 + 0.7% 琼脂粉 (pH 值 5.5) 上, 每个处理 40 瓶, 一半添加 0.2% 植物组培抗菌剂 (PPM), 每瓶接种 3 个外植体, 于培养室进行培养, 10 d 后统计污染率, 统计成活数 (外植体转绿且无污染视为成活)。

1.2.2 增殖培养基试验

为了提高增殖效率, 设计 9 种不同激素配比处理, B₁~B₉ 分别为 6-苄基氨基嘌呤 (6-BA) 2.0 mg · L⁻¹ + α-萘乙酸 (NAA) 0、0.2、0.5 mg · L⁻¹; 6-BA

收稿日期: 2017-05-12

基金项目: 杭州市科技局种子种苗项目 (20150932H13); 杭州市萧山区高级技工学校课题

作者简介: 詹菁 (1984—), 女, 湖北武汉人, 农艺师, 硕士, 从事园林植物种质资源的引进与繁育研究工作, E-mail: 365712408@qq.com。

3.0 mg · L⁻¹ + NAA 0、0.2、0.5 mg · L⁻¹; 6-BA 5.0 mg · L⁻¹ + NAA 0、0.2、0.5 mg · L⁻¹; 力求外植体直接再生, 省略愈伤组织形成阶段。将成功无菌化的 3 种外植体转接到增殖培养基上进行增殖试验。增殖培养基以 MS 培养基为基础培养基, 进行增殖试验。每个处理 10 瓶, 每瓶接种 3 个外植体。培养基中添加 3% 蔗糖和 0.7% 琼脂粉, pH 值 5.5 左右, 经 121 ℃ 高温灭菌 20 min。培养温度为 (25 ± 2) ℃, 每天光照时间为 16 h · d⁻¹, 光照强度约为 75 μmol · m⁻² · s⁻¹。30 d 后调查出芽数。

1.2.3 生根培养基试验

将长度在 4 cm 以上, 形态健全的芽体转接到生根培养基上进行生根培养。生根培养基以 1/2MS 为基础培养基, 附加 3 种 NAA 浓度处理, C₁ ~ C₃ 分别为 0.1、0.2、0.5 mg · L⁻¹。每瓶接种 4 芽, 每个处理 20 瓶。生根培养基中添加 3% 蔗糖和 0.7% 琼脂粉, pH 值 5.5 左右, 经 121 ℃ 高温灭菌 20 min。培养 25 d 后调查出根率、出根数。

2 结果与分析

2.1 外植体无菌处理

表 1 结果表明, 以玉簪大父的叶片、叶柄、幼芽为外植体时, 升汞和次氯酸钠均能起到较好的杀菌效果, 处理时间增加, 无菌化效果增强, 但时间过长时, 外植体损伤过度, 不利于后期芽体的分化, 其中以升汞 10 min 或次氯酸钠 15 min 效果最佳。PPM 能在一定程度上降低污染率。

表 1 不同杀菌剂对玉簪大父 3 种外植体无菌处理的效果

处理代号	叶片外植体成活数		叶柄外植体成活数		幼芽外植体成活数	
	无 PPM	有 PPM	无 PPM	有 PPM	无 PPM	有 PPM
A ₁	13	21	14	18	15	25
A ₂	32	36	34	38	33	37
A ₃	21	23	30	33	28	31
A ₄	31	34	24	30	25	32
A ₅	35	34	32	34	32	34
A ₆	22	24	34	38	33	35

2.2 增殖培养基

3 种外植体转接到增殖培养基 30 d 后发现, 叶片、叶柄外植体仅在剪切伤口与培养基接触处产生愈伤组织, 且随着 6-BA 浓度的增加, 愈伤组织形成的速度加快, 当 6-BA 浓度达 5.0 mg · L⁻¹ 时, 愈伤组织出现玻璃化, 全程没有形成完整的幼苗。

幼芽为最佳增值材料, 可以直接增殖, B₅ 培养基增殖效果最佳, 达 4 ~ 5 倍 (表 2)。

表 2 不同激素配比对玉簪大父 3 种外植体的增殖效果

处理代号	不同外植体出芽数		
	叶片外植体	叶柄外植体	幼芽外植体
B ₁	0	0	2.2
B ₂	0	0	2.8
B ₃	0	0	1.7
B ₄	0	0	3.3
B ₅	0	0	4.6
B ₆	0	0	2.9
B ₇	玻璃化	玻璃化	玻璃化
B ₈	玻璃化	玻璃化	玻璃化
B ₉	玻璃化	玻璃化	玻璃化

2.3 生根培养基

从表 3 可以看出, NAA 浓度影响玉簪大父的生根, 出根率和平均出根数随着激素浓度的增加而增大。当 NAA 浓度为 0.1 mg · L⁻¹ 时, 虽然玉簪的出根率也有 80%, 但生根速度慢, 出根数少, 不利于后期移栽与批量生产; 浓度为 0.2 和 0.5 mg · L⁻¹ 时, 生根情况较好, 两者差异不明显。最适的生根培养基为 1/2MS + NAA 0.2 mg · L⁻¹。

表 3 不同 NAA 浓度对玉簪大父生根的影响

处理代号	出根率/%	出根数	根长/cm
C ₁	80	2.3	4.8
C ₂	95	4.2	7.3
C ₃	96	5.1	8.0

3 小结

试验研究结果表明, 玉簪大父幼芽是组培繁殖最适的外植体。洗净的幼芽先后经 75% 酒精浸泡 30 s、0.1% 升汞浸泡 10 min 后, 用灭菌水冲洗干净, 接种在添加 0.2% PPM 的诱导培养基上无菌效果最好, 无菌率可达 93% 以上。最适的增殖培养基为 MS + 6-BA 3.0 mg · L⁻¹ + NAA 0.2 mg · L⁻¹; 最适的生根培养基为 1/2MS + NAA 0.2 mg · L⁻¹。

参考文献:

- [1] 李钱鱼. 玉簪属 (*Hosts*) 植物的品种资源及其花叶嵌合体特性研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2004.
- [2] 蒋素华, 田云芳, 黄萍, 等. 紫萼的组培快繁技术研究 [J]. 北方园艺, 2013 (18): 94-96.

(责任编辑: 张才德)