

Study on Tissue Culture and Rapid Propagation Techniques in *Crocasmia crocosmifolra*

LIU Zheng-lan, LIU Jun**

(College of Forestry and Horticulture, Sichuan Agricultural University, Yaan 625014, Sichuan, China)

Abstract: The tissue culture and rapid propagation techniques were developed by using corm as explant in *Crocasmia crocosmifolra*. The results indicated that the optimal medium for bud inducement is MS medium with 6-BA 3.0 mg/L and NAA 0.1 mg/L added. The optimal medium for bud multiplication is MS medium with 6-BA 1.0 mg/L and NAA 0.3 mg/L added. The multiplication rate is higher than 7. The proper rooting medium is 1/2 MS medium with IBA 0.5 mg/L added. The rooting rate is up to 73.00%.

Key words: *Crocasmia crocosmifolra*; tissue culture; rapid propagation technique

雄黄兰组织培养和快繁技术研究

刘正兰, 刘 军**

(四川农业大学 林学院园艺学院, 四川 雅安 625014)

摘要: 以雄黄兰的球茎为外植体, 进行组织培养和快速繁殖技术研究。结果表明, 芽诱导的最佳培养基为 MS 培养基添加 6-BA 3.0 mg/L 和 NAA 0.1 mg/L。芽增殖的最佳培养基为 MS 添加 6-BA 1.0 mg/L 和 NAA 0.3 mg/L, 增殖系数大于 7。生根培养基用添加 IBA 0.5 mg/L 的 1/2 MS 培养基为宜, 生根率达 73.0% 以上。

关键词: 雄黄兰; 组织培养; 快繁技术

中图分类号: S682.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-2650(2008)01-0045-03

雄黄兰 (*Crocasmia crocosmifolra*) 为鸢尾科 (*Iridaceae*) 雄黄兰属 (*Crocasmia*) 多年生草本, 原产南非^[1]。我国南方可露地栽培, 北方多为盆栽。该植物为穗状圆锥花序, 花火红色, 花型美丽, 花期 7~8 月^[1]。雄黄兰是布置花境、花坛和切花的材料, 也宜成片栽植于街道绿岛、建筑物前、草坪上、湖畔等, 叶可作为插花的辅助材料^[2]。迄今, 鸢尾科植物中的唐菖蒲 (*Gladiolus gandavensis*)、番红花 (*Crocus sativus*)、香根鸢尾 (*Iris pallida*)、荷兰鸢尾 (*I. hollandica*)、德国鸢尾 (*I. germanica*)、有髯鸢尾 (*I. germanica* 'Lovely') 和香雪兰 (*Freesia refracta*) 等, 都已成功建立了组织培养再生体系。所选外植体有球茎、花蕾、茎尖、叶片、幼芽、花梗、鳞片和胚, 有的直接产生不定芽, 有的先诱导出愈伤组织, 再分化形成不定芽, 切割不定芽增殖培养, 最后诱导根的发生, 成为完整植株。诱导和增殖主要以 MS 为基本培养基, 生根培养基以 1/2 MS 为主, 植

物生长调节剂主要选用萘乙酸 (a-naphthaleneacetic acid, NAA), 6-糠氨基腺嘌呤 (6-benzyladenine, 6-BA), 2,4-二氯苯氧乙酸 (2,4-dichlorophenoxyacetic acid, 2,4-D) 和吲哚丁酸 (Indolebutyric acid, IBA)。雄黄兰的普通繁殖方法为分株繁殖和球茎繁殖, 但因受季节限制, 繁殖系数低, 利用离体繁殖则可增大繁殖系数, 做到周年供应。对雄黄兰的组织培养和快速繁殖技术尚未见报道。

1 材料与方法

供试材料取自四川省雅安市碧峰峡景区海拔 1000 m 左右的雄黄兰球茎。

将雄黄兰的球茎去除外层鳞片, 加入洗洁剂浸泡, 用毛刷轻轻刷洗球茎, 放于流水中冲洗 1 h 左右, 滤干, 置于超净工作台上用 70% 的酒精浸泡 30 s, 无菌水冲洗干净, 0.1% 的升汞消毒 7 min, 无菌水冲洗干净, 滤去无菌水。将球茎切成 0.5 cm × 0.5

* 收稿日期: 2007-09-29

** 通讯作者 (Corresponding author)。

cm 大小的方块备用。

诱导培养采用二因素三水平完全组合设计,6-BA 设 1.0、2.0 和 3.0 mg/L 3 个水平, NAA 设 0.05、0.1 和 0.5 mg/L 3 个水平。将初代培养萌发的芽切下,接种于继代增殖培养基上,继代培养采用二因素三水平的正交试验设计,6-BA 设 0.5、1.0 和 2.0 mg/L 3 个水平, NAA 设 0.1、0.3 和 0.5 mg/L 3 个水平。将继代培养所获得健壮芽苗接种于生根培养基,使用 0.1、0.2、0.5 和 1.0 mg/L 4 种浓度的 IBA 诱导生根。诱导和增殖培养以 MS 为基本培养基,生根以 1/2 MS 为基本培养基。各培养基中均加入 0.7% 琼脂和 3% 蔗糖,生根培养基为 2% 蔗糖, pH 5.8~6.0。

培养条件为温度(25±2)℃,光照 12 h/d,光照强度 1500~2000 lx。

2 结果与分析

2.1 不同激素组合对芽诱导的影响

将雄黄兰的球茎切块接入诱导培养基中 10 d,芽眼处开始膨大并出现芽点,继续培养一周后芽点开始突起,并抽生出叶片(图 1)。培养 30 d 后统计芽的诱导率(表 1)。

诱导率的方差分析重复间差异不显著,而 6-BA、NAA 间的差异显著。由此说明,不同浓度的 6-BA 和 NAA 对芽苗分化有不同的影响,进一步对各因素各水平间进行新复极差检验,6-BA 3 水平的检验结果表明 3.0 mg/L 和其他 2 水平差异显著,2.0 和 1.0 mg/L 间差异不显著,3.0 mg/L 对芽的诱导效果最好。NAA 3 水平间差异极显著,以 NAA 0.1 mg/L 诱导效果最好。

平均芽高的方差分析说明,各重复间差异不显著,6-BA 的差异不显著,NAA 的差异显著。对 NAA 各水平间进行新复极差检验,0.1 mg/L 和其

他两水平差异显著,0.05 和 0.5 mg/L 间差异不显著。

表 1 不同激素组合对雄黄兰芽诱导的影响

Table 1 Influence of different hormone composition on initiation rate of *Crocasmia crocosmifolra*

处理 Treatments	6-BA (mg·L ⁻¹)	NAA (mg·L ⁻¹)	诱导率 Initiation rate (%)	平均芽高 Average height of shoots (cm)	生长情况 Growth state of buds
1	1.0	0.05	37.62 ^{Cc}	1.60 ^{CDcd}	萌芽迟,芽长势差
2	1.0	0.1	52.15 ^{Bb}	2.37 ^{Bb}	萌芽快,芽长势好
3	1.0	0.5	39.03 ^{Cc}	2.20 ^{BCb}	萌芽迟,芽长势差
4	2.0	0.05	24.79 ^{Dd}	1.90 ^{BCbc}	萌芽迟,芽长势好
5	2.0	0.1	59.21 ^{Bb}	3.12 ^{Aab}	萌芽早,芽长势较好
6	2.0	0.5	38.81 ^{Cc}	2.13 ^{BCb}	萌芽迟,芽长势差
7	3.0	0.05	41.82 ^{Cc}	2.10 ^{BCbc}	萌芽迟,芽长势差
8	3.0	0.1	78.48 ^{Aa}	3.63 ^{Aa}	萌芽早,芽长势最好
9	3.0	0.5	13.42 ^{Ee}	1.20 ^{Dd}	萌芽迟,有褐化现象

注:小写字母表示 0.05 水平上显著,大写字母表示 0.01 水平上显著,字母相同者表示水平间不显著(下表同)。

Note: The small letters indicate the significance at 0.05 level, the capital letters indicate the significance at 0.01 level, the same letters indicate no significant difference (all table are the same).

综合诱导率和平均芽高,初代培养最终选用 MS+6-BA 3.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L 作诱导培养基。

2.2 不同激素组合对雄黄兰芽增殖的影响

将诱导出的单芽,接种到不同浓度 6-BA 和 NAA 的 MS 培养基上进行增殖培养。30 d 后统计增殖情况,并记录芽苗的生长情况(图 2、表 2)。

方差分析表明重复间差异不显著,说明试验结果具有较好的重复性。而 6-BA、NAA、6-BA×NAA 间的差异显著,进一步对该两因素进行新复极差检验。6-BA 3 水平的检验结果表明,1.0 和 0.05 mg/L 差异显著,1.0 和 2.0 mg/L 差异不显著,6-BA 浓度以 1.0 mg/L 最好。NAA 3 水平检验结果表明,3 水平间差异均达显著,0.3 与 0.1

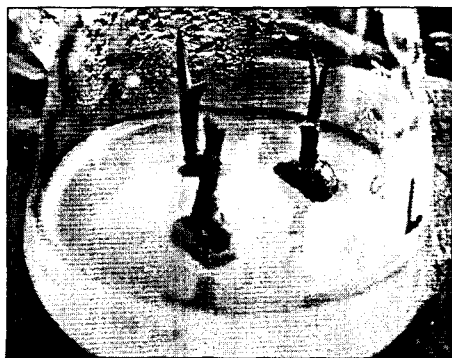


图 1 雄黄兰球茎诱导的芽

Figure 1 Shoots differentiated from corm in *Crocasmia crocosmifolra*

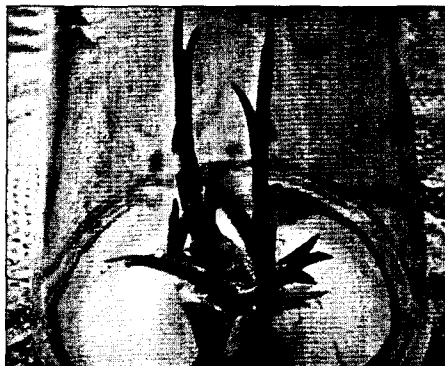


图 2 雄黄兰芽的继代增殖

Figure 2 Shoots propagation in subculture of *Crocasmia crocosmifolra*

mg/L 差异达到极显著, NAA 浓度以 0.3 mg/L 最好。最终选定 MS + 6-BA 1.0 mg/L + NAA 0.3 mg/L 为继代增殖的最佳培养基。

表 2 不同继代培养基对芽增殖的影响

Table 2 Effects of different subculture mediums on sprout proliferation

处理 Treatments	6-BA (mg·L ⁻¹)	NAA (mg·L ⁻¹)	接种数 Number of inoculation	芽苗总数 Total buds of subculture	增殖系数 Propagation coefficient
1	0.5	0.1	30	66	2.17 ^{Fe}
2	0.5	0.3	30	133	4.43 ^{DEd}
3	0.5	0.5	30	107	3.57 ^{Ed}
4	1.0	0.1	30	70	2.33 ^{Fe}
5	1.0	0.3	30	221	7.37 ^{Aa}
6	1.0	0.5	30	166	5.53 ^{CDd}
7	2.0	0.1	30	135	4.50 ^{DEd}
8	2.0	0.3	30	190	6.33 ^{ABb}
9	2.0	0.5	30	174	5.80 ^{B^Cb}

2.3 不同浓度的激素对诱导生根的影响

将继代培养的增殖苗从基部切断, 除去周围的小芽及组织, 接种到生根培养基上, 10 d 即可见白色根尖从基部处长出, 培养 30 d 后统计生根情况(表 3)。通过多重比较, 4 种培养基生根率彼此间差异极显著。3 号培养基中根量最多, 根长势好(图 3), 与其他培养基存在显著差异。即采用 1/2 MS + IBA 0.5 mg/L 培养基为诱导生根培养基, 生根早, 根数多, 根粗壮, 生根率达 73.17%。

表 3 不同浓度的 IBA 对幼苗生根的影响

Table 3 The effect of IBA density on rooting

处理 Treatments	IBA (mg·L ⁻¹)	生根率 Rooting percentage (%)	平均生根数 Average No. of root	平均根长 Average length of root (cm)
1	0.1	23.48 ^{Cd}	1.70 ^{Bc}	0.87 ^{Cc}
2	0.2	59.05 ^{Ab}	4.40 ^{Ab}	3.43 ^{Bb}
3	0.5	73.17 ^{Aa}	5.70 ^{Aa}	4.70 ^{Aa}
4	1.0	33.75 ^{Bc}	2.20 ^{Bc}	1.50 ^{Cc}



图 3 雄黄兰生根培养

Figure 3 Rooting culture in *Crocosmia crocosmifolra*

2.4 练苗与移栽

将经 30 d 生根培养, 根系生长正常的试管苗, 打开瓶口, 在培养箱里培养 7 d, 然后移植到蛭石: 珍珠岩: 泥炭 = 1:1:1 的基质中, 放置到温室中进行炼苗, 15 d 后移至露天进行炼苗, 30 d 后统计移栽情况, 移栽成活率可达 83.00%。

3 讨 论

本试验采用雄黄兰的球茎作为外植体, 成功获得了再生植株。植物组织培养成功与否跟植物激素使用配比密切相关, 不同种类的外源激素对外植体的诱导与分化作用不同。研究表明, 植物生长调节剂对雄黄兰的芽再生有重要的影响, 当细胞分裂素与生长素的比值大于 10:1 时, 有利于雄黄兰球茎的启动, 其中以 6-BA 3.0 mg/L 和 NAA 0.1 mg/L 的组合对启动影响最显著, 这与前人研究鸢尾科的某些植物植株再生研究结果不一致^[3,4], 这可能是由于不同种植物对外源激素种类及浓度的反应不一致所致。在继代增殖中, 6-BA 与 NAA 两者的比例决定着芽的增殖情况, 随细胞分裂素与生长素比值的减小, 有利于芽的增殖, 6-BA 的使用浓度高则抑制增殖, 且芽和芽之间变得更紧密, 芽细弱, 这与江明^[5]对香根鸢尾的研究结果一致。继代增殖以 MS + 6-BA 1.0 mg/L + NAA 0.3 mg/L 组合最好, 增殖系数可达 7.37 倍。

不同浓度的 IBA 诱导生根中, 表现出 IBA 的浓度过低时, 根的诱导率较低, IBA 的浓度过高时, 根诱导率也会降低, 根质量下降, 雄黄兰诱导生根的最佳 IBA 浓度为 0.5 mg/L, 这与郝红云^[6]、王有庆等^[7]的研究结果一致。其他植物生长调节剂(NAA、IAA)诱导雄黄兰组培生根的效果有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志十六卷第一分册[M]. 北京: 科学出版社, 1985. 120.
- [2] 宫伟, 李黎, 陈菲. 美丽的宿根花卉——鸢尾科植物[J]. 国土与自然资源研究, 2004, 4: 96.
- [3] 艾丽皎, 李名扬. 唐菖蒲球茎芽高频再生体系的建立[J]. 西南农业大学学报(自然科学版), 2005, 27(6): 844-846.
- [4] 王仁睿, 刘军, 卢昌泰. 观音兰的组织培养与快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 2007, 43(2): 316.
- [5] 江明, 谢文申. 香根鸢尾的组织培养和快速繁殖[J]. 园艺学报, 1995, 22(3): 301-302.
- [6] 郝红云, 义鸣放. 唐菖蒲花茎愈伤植株再生途径的优化[J]. 华中农业大学学报(自然科学版), 2007, 26(2): 246-250.
- [7] 王有庆, 唐蓉, 王晋民, 等. 生长调节剂对唐菖蒲茎段培养中器官分化的影响[J]. 青海大学学报(自然科学版), 2003, 21(3): 4-7.

(本文审稿: 王永清)