

## 紫萼玉簪快繁体系建立和移栽初步研究

李 玲, 杨 杰, 袁华玲, 朱小茜  
(合肥师范学院生命科学系, 合肥 230601)

**摘 要:** 以安徽黄山产野生紫萼玉簪叶片作为外植体, 对其快繁体系的建立和幼苗移栽技术进行初步研究。结果表明, 利于愈伤组织诱导的最佳取材季节为春季, 诱导愈伤组织形成和不定芽分化的最佳培养基为 MS+6-BA2.0+NAA0.3; 适宜的不定芽增殖培养基为 MS+6-BA3.0+NAA0.1; 利于生根的培养基为 1/2MS+NAA0.3。最佳的移栽基质为珍珠岩+腐殖土(1:3), 移栽成活率最高, 幼苗长势好, 明显优于其他 3 个处理。

**关键词:** 紫萼玉簪; 快繁体系建立; 移栽

中图分类号: S682.265

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X(2014)01-0155-05

### Preliminary study on establishing rapid propagation system and transplant of *Hosta ventricosa*

LI Ling, YANG Jie, YUAN Hualing, ZHU Xiaoxi  
(Department of Life Sciences, Hefei Normal University, Hefei 230601)

**Abstract:** The wild *Hosta ventricosa* leaves which collected from Huangshan Mountain in Anhui Province were used as explants. The establishment of rapid propagation system and seedlings transplant was carried out in the study. The results indicated that the best season for explant selection was spring; the best medium for the callus induction and the adventitious buds differentiation was MS+6-BA2.0+NAA0.3; the suitable medium for the propagation of adventitious buds was MS+6-BA3.0+NAA0.1; the best medium for rooting was 1/2 MS+NAA0.3. The transplanting survival rate was highest, and the tissue culture seedlings grew well when the transplant medium was composed of perlite and humus (3:1), in which the survival rate and growth vigour of the seedlings were remarkably better than those of the other three treatments.

**Key words:** *Hosta ventricosa*; establishment of rapid propagation system; transplant

紫萼玉簪(*Hosta ventricosa*)是百合科玉簪属多年生草本植物, 又称紫萼、紫玉簪, 为我国原产玉簪属 4 个品种之一。主要分布在我国华东、西南等地。安徽省主要分布在祁门、石台、休宁、歙县、黄山等地<sup>[1]</sup>。由于其花、叶均可欣赏, 具有较高的观赏价值及耐阴性强等特点, 逐渐成为优秀的林下地被植物<sup>[2]</sup>。此外, 紫萼玉簪还具有一定的食用和药用价值<sup>[3]</sup>。

目前紫萼玉簪在我省原产地的野生种较少, 而且紫萼玉簪的童龄期长, 从播种到开花需 3 年以上时间, 且形成种子很少, 一般不用种子繁殖<sup>[4]</sup>。采用组织培养技术扩大繁殖是紫萼玉簪商业化大量生产的一种有效途径之一。现在对紫萼玉簪组织培养研究报道很少, 王春婷等<sup>[4]</sup>、张红娣等<sup>[5]</sup>分别以未

成熟胚芽和根为外植体对紫萼玉簪的组织培养和快速繁殖进行了研究, 以紫萼玉簪叶片作为外植体的研究在国内外尚未见报道。由于叶片取材更广更容易, 因此, 本研究以黄山产野生紫萼玉簪叶片为外植体, 对外植体取材季节、适合愈伤组织诱导、不定芽分化增殖、生根的培养基和移栽基质进行研究, 筛选出外植体最佳取材季节, 适宜诱导愈伤组织、不定芽分化增殖及生根的培养基和最适的移栽基质, 旨在为紫萼玉簪快繁体系建立和工厂化育苗提供理论依据和技术方法。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

试验材料为安徽省黄山产野生紫萼玉簪(*Hosta*

收稿日期: 2013-09-18

基金项目: 安徽省教育厅青年教师一般项目(2008jq1126)资助。

作者简介: 李 玲, 讲师。E-mail: li97ling@163.com

*ventricosa*)。分别于春季4月份和秋季10月份选取生长健壮、无病虫害的植株上的幼叶作为外植体。

1.2 试验方法

1.2.1 材料的处理 取幼叶于自来水下冲洗干净,在超净工作台上用0.1%升汞加2滴吐温浸泡8 min,用无菌水漂洗5~6次,用滤纸吸干,剪成1 cm<sup>2</sup>大小备用。

1.2.2 培养基 初代和继代选用MS为基本培养基,添加不同浓度的6-BA和NAA,生根基本培养基分别选择MS培养基和1/2 MS培养基,添加不同浓度NAA,每种培养基中植物生长调节物质的浓度为mg·L<sup>-1</sup>,均添加蔗糖30 g·L<sup>-1</sup>,琼脂6.5 g·L<sup>-1</sup>,pH调整为5.8,配成不同初代、继代增殖和生根培养基。

1.2.3 培养条件 培养温度为(25±1)℃,光照强度为20~25 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>,光照时间12 h·d<sup>-1</sup>。

1.2.4 炼苗与移栽 当生根培养中的幼苗长至4~5 cm,根长达3~4 cm时进行驯化移栽。出瓶前,将培养瓶从培养箱中取出放入室温下适应2 d,将瓶盖松开1 d,最后将瓶盖打开1 d,进行炼苗。炼苗后将苗从培养瓶中取出,洗净根部培养基,移栽到珍珠岩、珍珠岩+腐殖土、细沙、细沙+腐殖土等各种

基质中(表5),栽培容器选用营养钵,各基质采用高压灭菌法进行消毒,栽后用塑料薄膜覆盖,保持一定的温度和湿度,一周后移去薄膜,且前3周每周用1000倍液的多菌灵进行消毒。

1.2.5 统计和计算方法 初代培养30 d统计愈伤组织块数,45 d统计不定芽分化数,继代增殖30 d统计新增芽数,生根培养30 d统计生根情况,移栽15 d后统计其成活率,30 d后记录其生长状况。

愈伤诱导率%=形成愈伤组织块数/接种总块数×100

芽分化率%=发生芽分化块数/愈伤组织分化块数×100

每块平均分化芽数=芽分化总数/愈伤组织块数

芽增殖倍数=新增芽数/接种芽数

生根率%=生根数/接种数×100

移栽成活率%=移栽成活株数/移栽株数×100

2 结果与分析

2.1 取材季节对紫萼玉簪愈伤组织诱导的影响

试验分别于春季和秋季采取紫萼玉簪的幼叶作为外植体进行接种(表1)。

表1 不同取材季节对紫萼玉簪愈伤组织诱导的影响

Table 1 Effects of different seasons on the callus induction of *Hosta ventricosa*

| 取材季节<br>Sampling season | 接种块数/块<br>Inoculation number | 形成愈伤块数/块<br>Calli formation number | 愈伤组织诱导率/%<br>Induction ratio of calli | 生长状况<br>Growth situation |
|-------------------------|------------------------------|------------------------------------|---------------------------------------|--------------------------|
| 春季 Spring               | 30                           | 23±2.65                            | 76.7±8.82                             | 外植体边缘膨大,形成大量绿色略透明愈伤组织    |
| 秋季 Autumn               | 30                           | 2±1.00                             | 6.7±3.3                               | 外植体边缘略增厚,有少许颗粒状愈伤组织      |

表2 不同培养基对愈伤组织诱导及不定芽分化的影响

Table 2 Effects of different mediums on callus induction and differentiation of adventitious buds

| 编号 | 激素配比 |     | 接种块数/块 | 形成愈伤组织块数/块 | 愈伤组织诱导率/% | 芽分化率/%    | 平均每块分化芽数/个 | 生长状况                    |
|----|------|-----|--------|------------|-----------|-----------|------------|-------------------------|
|    | 6-BA | NAA |        |            |           |           |            |                         |
| 1  | 1.0  | 0.1 | 30     | 0          | 0         | 0         | 0          | 外植体边缘褐化,无愈伤组织形成         |
| 2  | 1.0  | 0.3 | 30     | 11±1.00    | 36.7±3.33 | 27.3±7.96 | 2.8±0.12   | 形成愈伤,有少量不定芽形成           |
| 3  | 1.0  | 0.5 | 30     | 13±1.73    | 53.7±5.77 | 0         | 0          | 形成愈伤,但无不定芽形成            |
| 4  | 2.0  | 0.1 | 30     | 0          | 0         | 0         | 0          | 外植体边缘略有增厚               |
| 5  | 2.0  | 0.3 | 30     | 23±2.65    | 76.7±8.82 | 95.7±4.00 | 6.8±0.30   | 形成绿色略透明愈伤组织,不定芽分化多,且芽饱满 |
| 6  | 2.0  | 0.5 | 30     | 20±1.00    | 66.7±3.33 | 45±1.00   | 3.6±0.11   | 形成白色透明愈伤,但不定芽分化少        |

培养基编号 Code for medium; 激素配比 Hormone combination; 接种块数 Inoculation number; 形成愈伤块数 Calli formation number; 愈伤组织诱导率 Induction ratio of calli; 芽分化率 Differentiation of adventitious buds; 平均每块分化芽数 Average number of adventitious bud differentiation; 生长状况 Growth situation.

表1结果表明,春季选取的外植体材料形成的愈伤组织多,质量好,诱导率高,达76.4%;秋季

选取的外植体材料形成的愈伤组织少,质量差,诱导率低,仅为6.4%。且在培养过程中,于春季取材

接种的叶片即使未形成愈伤组织,叶片仍保持绿色,而于秋季取材接种的未形成愈伤组织叶片,均黄化、衰老、死亡。这主要原因可能是紫萼玉簪为多年生落叶宿根花卉,春季属于其旺盛生长阶段,体内积累大量促进生长的内源激素,到了秋季虽呈幼叶,但受整株影响,植株体内营养物质下降,促进生长的激素下降,衰老激素含量增加,影响其分化。

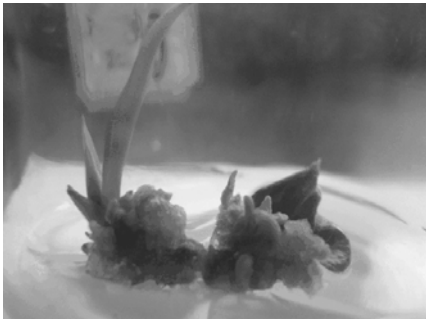


图 1 紫萼玉簪愈伤组织的诱导和不定芽的分化

Figure 1 Callus induction and adventitious buds differentiation of *Hosta ventricosa*

## 2.2 不同培养基对愈伤组织诱导及不定芽分化的影响

由表 2 可以看出,不同激素配比的培养基对诱导紫萼玉簪愈伤组织和不定芽分化的影响不同,培养基 1 号与 4 号均无愈伤组织和芽的分化,培养基

3 号有愈伤组织的形成但无不定芽的分化,培养基 5 号愈伤组织诱导率与不定芽分化率最高,分别为 76.7% 和 95.7%,且其平均每块分化的不定芽数最多,为 6.8,不定芽生长状况最好(图 1)。培养基 6 号,愈伤组织诱导率虽较高,但不定芽分化率较低。培养基 2 号有愈伤组织和不定芽的分化,但其愈伤诱导率和不定芽分化率均较低。综合分析表明,以紫萼玉簪幼叶为外植体,诱导愈伤组织诱导和不定芽分化最佳培养基为 5 号培养基 MS+6-BA2.0+NAA0.3。

## 2.3 不同培养基对紫萼玉簪不定芽增殖的影响

将不定芽切分接种到不同的增殖培养基上(每瓶接 1 个芽),30 d 后观察记录不定芽的增殖和生长情况。结果表明(表 3),不同培养基上不定芽的生长与增殖数存在差异,培养基 2 中不定芽增殖倍数最高,增殖倍数为 5.2,且不定芽生长最好(图 2)。由表 3 还可以看出,6-BA 在一定浓度范围内,随其浓度的增加芽的增殖数增加,但当 6-BA 浓度过高时,抑制芽的形成。同时当 6-BA 浓度一定时,NAA 浓度也影响其分化。对于紫萼玉簪叶片,当 NAA 浓度为  $0.1\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  时有利于不定芽的形成,当 NAA 浓度为  $0.3\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  时,不利于芽的形成,在基部形成愈伤组织。因此,适于紫萼玉簪继代培养不定芽增殖的培养基为 2 号 MS+6-BA3.0+NAA0.1 培养基。

表 3 不同培养基对不定芽增殖的影响

Table 3 Effects of different mediums on propagation of adventitious buds

| 编号<br>No. | 激素配比<br>Hormone combination |     | 接种不定芽数/个<br>Inoculated adventitions<br>bud number | 培养 30 d 后芽数/个<br>Bud number<br>after 30 days | 增殖倍数/倍<br>Proliferation rate | 不定芽生长状况<br>Growth situation of<br>adventitions bud |
|-----------|-----------------------------|-----|---|--|------------------------------|--|
|           | 6-BA                        | NAA |   |  |                              |  |
| 1         | 2.0                         | 0.1 | 30  | 99±4.36                                      | 3.3±0.15                     | 芽较饱满,绿色  |
| 2         | 3.0                         | 0.1 | 30  | 156±6.08                                     | 5.2±0.20                     | 芽饱满、深绿色  |
| 3         | 4.0                         | 0.1 | 30  | 87±4.00                                      | 2.9±0.13                     | 芽细弱、黄绿色  |
| 4         | 2.0                         | 0.3 | 30  | 51±3.60                                      | 1.7±0.12                     | 芽细弱、黄绿色  |
| 5         | 3.0                         | 0.3 | 30  | 72±4.58                                      | 2.4±0.15                     | 芽较饱满,绿色  |
| 6         | 4.0                         | 0.3 | 30  | 48±2.65                                      | 1.6±0.09                     | 芽细弱、黄绿色  |



图 2 紫萼玉簪不定芽的增殖

Figure 2 Propagation of adventitious buds of *Hosta ventricosa*

## 2.4 不同培养基对紫萼玉簪生根的影响

选择生长健壮的紫萼玉簪组培苗,切取长 2~3 cm 高小苗转接入不同生根培养基,每瓶接 1 株。结果表明(表 4),在同等 NAA 浓度下,基本培养基为 MS 的培养基生根率低,且植株长势相对较弱,在 1/2 MS 培养基中生根率高,植株长势相对较好。因此紫萼玉簪的生根基本培养基选择 1/2 MS 为佳。由表 4 还可以看出,不同 NAA 浓度对紫萼玉簪生根影响差异显著。NAA 浓度低时,诱导生根率低,根生长不好,NAA 浓度过高时,茎基部形成愈伤组

织,不利于根的分化和生长,当 NAA 浓度为 0.3 mg·L<sup>-1</sup> 时,紫萼玉簪组培苗生根率最高,根系多而粗壮,且植株长势健壮(图 3)。综合以上分析,诱

导紫萼玉簪生根的最佳培养基为 6 号培养基 1/2 MS+NAA0.3。

表 4 不同培养基对紫萼玉簪生根的影响  
Table 4 Effects of different mediums on rooting of *Hosta ventricosa*

| 编号<br>No. | 培养基配方<br>Medium component | NAA | 接种株数/株<br>Inoculation plant | 生根株数/株<br>Rooting plant | 生根率/%<br>Rooting rate | 生长状况<br>Growth situation |
|-----------|---------------------------|-----|-----------------------------|-------------------------|-----------------------|--------------------------|
| 1         | MS                        | 0.1 | 30                          | 0                       | 0                     | 茎基部无变化,植株形态正常            |
| 2         | MS                        | 0.3 | 30                          | 8±2.00                  | 26.7±6.67             | 根少而细,植株形态正常              |
| 3         | MS                        | 0.5 | 30                          | 2±1.00                  | 6.7±3.33              | 根少而细,植株叶色黄、叶片小           |
| 4         | MS                        | 0.7 | 30                          | 0                       | 0                     | 茎基部膨大,无根,植株叶色黄、叶片小       |
| 5         | 1/2 MS                    | 0.1 | 30                          | 5±1.00                  | 16.7±3.33             | 茎基部膨大,根少,植株形态正常          |
| 6         | 1/2 MS                    | 0.3 | 30                          | 30±0.00                 | 100±0.00              | 根多而粗壮,植株叶色浓绿             |
| 7         | 1/2 MS                    | 0.5 | 30                          | 12±2.65                 | 40±8.81               | 根多而细,植株叶绿色               |
| 8         | 1/2 MS                    | 0.7 | 30                          | 0                       | 0                     | 茎基部有大量愈伤组织,无根,植株叶色黄      |



图 3 紫萼玉簪组培苗生根情况

Figure 3 Rooting situation of tissue seedling of *Hosta ventricosa*

2.5 紫萼玉簪的炼苗与移栽

由表 5 可以看出,移栽基质对紫萼玉簪组培苗移栽成活率和生长状况有较大的影响。用珍珠岩+腐殖土(1:3)作为紫萼玉簪的移栽基质成活率最高,达 94%,且叶色浓绿,苗生长旺盛(图 4),明显优于另外 3 种配方的基质。以珍珠岩为基质成活率相对也较高,达 84%,但苗长势一般,新生叶少,根毛少,以细沙+腐殖土(1:3)为基质虽然苗长势良好,新生叶较多,根粗多根毛,但其成活率低。而以细沙作为移栽基质成活率最低,且苗长势差,叶黄绿色,根细弱,苗瘦,表明细沙不适宜作为紫萼玉簪的移栽基质。比较起来,紫萼玉簪组培苗适宜的移栽基质为珍珠岩+腐殖土(1:3)。

表 5 不同基质对紫萼玉簪组培苗移栽的影响

Table 5 Effects of different transplant mediums on tissue culture seedling transplanting of *Hosta ventricosa*

| 栽培基质<br>Culture medium           | 移栽株数/株<br>Transplanting plant | 成活株数/株<br>Survival plant | 成活率/%<br>Survival rate | 植株生长状况<br>Plant growth situation |
|----------------------------------|-------------------------------|--------------------------|------------------------|----------------------------------|
| 珍珠岩 Perlite                      | 50                            | 42±2.00                  | 84±4.00                | 叶绿色,新生叶 1 片,根较粗,根毛少              |
| 细沙 Fine sand                     | 50                            | 26±1.73                  | 52±3.46                | 叶黄绿色,根细弱,无新生叶,苗瘦弱                |
| 珍珠岩+腐殖土(1:3)<br>Perlite + humus  | 50                            | 47±2.00                  | 94±4.00                | 叶浓绿色,新生叶 3 片,根粗多根毛               |
| 细沙+腐殖土(1:3)<br>Fine sand + humus | 50                            | 34±2.65                  | 68±5.29                | 叶绿色,新生叶 2 片,根较粗多根毛               |

3 小结与讨论

本试验研究表明以紫萼玉簪叶片作为外植体进行组织培养,叶片取材季节影响其愈伤组织的诱导和生长状况,研究表明取材季节以春季为佳。而陈必胜等<sup>[6]</sup>以玉簪基部幼芽为外植体进行组织培养研

究表明冬芽比春芽效果好。这说明以不同外植体进行组织培养取材的最佳时间存在差异。

诱导紫萼玉簪叶片愈伤组织的形成和不定芽分化的最佳培养基为 MS+6-BA2.0+NAA0.3,愈伤组织和不定芽分化多,且芽生长健壮饱满。不定芽增殖的最适培养基为 MS+6-BA3.0+NAA0.1,培养 30 d

后增殖倍数最高为 5.2。这说明在 MS 培养基上加入不同比例的 6-BA 和 NAA 对愈伤组织的诱导、不定芽分化和增殖具有促进作用。这与周青<sup>[7]</sup>、顾德峰<sup>[8]</sup>等研究一致。主要原因是 NAA 可以诱导受伤的组织表面一至数层细胞恢复分裂能力,形成愈伤组织,与一定量的 6-BA 共同可以诱导不定芽的分化、侧芽萌发与生长。



图 4 紫萼玉簪组培苗移栽生长情况

Figure 4 Growth situation of tissue culture seedling transplanting of *Hosta ventricosa*

有利于诱导紫萼玉簪生根的基本培养基为 1/2MS 培养基,因为矿物质元素浓度过高时有利于发展茎叶,而较低时有利于生根<sup>[9]</sup>。这与王春婷等<sup>[4]</sup>研究相一致。在培养基中添加 NAA 可诱导根的形成<sup>[9]</sup>。本试验研究结果认为在 1/2MS 培养基中添加 0.3 mg·L<sup>-1</sup>NAA 对诱导紫萼玉簪生根的效果最佳。

组培苗出瓶移栽是组培的最后一个环节,移栽过程中除了控制环境条件外,移栽基质也尤为重要。

本试验选择的 4 种常用栽培基质配方中以珍珠岩+腐殖土(1:3)成活率最高,长势最好。原因可能是珍珠岩透气保水性好,腐殖土不仅透气保水还可提供养分。以珍珠岩作为基质成活率也较高,但植株长势一般,主要原因可能是珍珠岩透气保水性好,有利于植株的成活,但不能提供养分。如以珍珠岩作基质,在植株生长过程中浇灌营养液,是否可促进植株生长,有待进一步研究。以细沙为基质,植株成活率和长势均不好,主要原因可能是细沙保水保肥力差,易板结,通气状况不良,从而不利于组培苗根部的呼吸,降低成活率和生长。

#### 参考文献:

- [1] 安徽植物志协作组. 安徽植物志[M]. 合肥: 安徽科学技术出版社, 1992: 42.
- [2] 孙伟, 杜敏. 绿化新宠—紫萼玉簪[J]. 园林与花卉, 2004(6): 36.
- [3] 李玉梅, 李三明, 叶永鹏, 等. 森林野菜新资源—紫萼[J]. 长江蔬菜, 2006(2): 8.
- [4] 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.
- [5] 张红娣, 张琛, 吕卉, 等. 紫萼快速繁殖的研究[J]. 湖北农业科学, 2011, 50(1): 180-182.
- [6] 陈必胜, 莫健彬, 杜永琴, 等. 玉簪新优品种离体培养技术的研究[J]. 上海农业学报, 2007, 23(2): 77-80.
- [7] 周青, 任旭琴, 俞建飞, 等. 玉簪的组培快繁技术研究[J]. 江苏农业科学, 2005(6): 89-91.
- [8] 顾德峰, 王刚, 高晶芳, 等. 白玉簪离体快速繁殖的研究[J]. 吉林农业大学学报, 2009, 31(2): 161-163.
- [9] 谭文澄, 戴策刚. 观赏植物组织培养技术[M]. 北京: 中国林业出版社, 2001: 61-63.