

## 八仙花茎段组织培养技术研究

雷亚灵, 李周岐\*

(西北农林科技大学 林学院, 陕西 杨陵 712100)

**摘 要:**以八仙花带腋芽茎段为外植体,研究了其组织培养技术。结果表明:以70%酒精处理30 s + 0.1%升汞处理10 min,成活率可达96%;以MS+6-BA 0.5 mg/L+IBA 0.5 mg/L为启动培养基,诱导率可达100%;以MS+6-BA 0.5 mg/L+IBA 0.3 mg/L为增殖培养基,培养25 d,增殖系数可达9.2;以1/2MS+IBA 0.3 mg/L进行生根培养,生根率100%,根长势良好且根毛区长达1.1 cm;移栽到以珍珠岩:腐殖土=1:2的基质中,覆盖地膜保湿7 d,成活率可达80%以上。

**关键词:**八仙花;茎段;组织培养

中图分类号:S723.132

文献标识码:A

文章编号:1001-7461(2008)04-0101-03

### Tissue Culture of Stem Segment of *Hydrangea macrophylla*

LEI Ya-ling, LI Zhou-qi\*

(College of Forestry, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

**Abstract:**Stems with axillaries bud of *Hydrangea macrophylla* were used as explants to conduce in vitro culture. The results showed that the optimum disinfectant was 70% alcohol for 30 seconds and HgCl<sub>2</sub> for 10 minutes. The induction culture medium was MS+BA 0.5 mg/L+IBA 0.5 mg/L and the ratio of induction was 100%. The optimum multiplication culture medium was MS+BA 0.5 mg/L+IBA 0.3 mg/L and after 25 days multiplication coefficient was 9.2. The rooting culture medium was 1/2MS+IBA 0.3 mg/L and the ratio of rooting was 100%, and the root's growth was better and the length of district root hairs was 1.1 cm. When transplanted in pots with the mediums of 1 perlite : 2 humus, most of the seedlings could grow well.

**Key words:***Hydrangea macrophylla*; stems with axillaries bud; tissue culture

八仙花(*Hydrangea macrophylla*)别名粉团花、紫阳花、草绣球、阴绣球等,为虎耳草科植物,落叶灌木。我国各地园林与民间常有栽培,变种很多。八仙花花期夏季,花洁白丰满,大而美丽,其花色能红能蓝,令人悦目怡神,是常见的盆栽观赏花木<sup>[1,6]</sup>,开发利用价值较高。

目前我国八仙花繁殖主要以扦插为主,这种方式繁殖系数低,扩繁速度慢,不能满足园林绿地大面积种植的需要,对新优品种进行快速繁殖和八仙花的大规模工厂化生产产生了很大的阻碍<sup>[6,7]</sup>。利用现代生物技术进行快速繁殖在国外未见报道,国内任叔辉等<sup>[8,9]</sup>对八仙花的组织培养技术进行过探

讨,但对其中的一些问题,如不同激素浓度对增殖培养的影响等未作具体研究,且其诱导培养基导致外植体愈伤化,有待进一步研究。本研究在前人研究的基础上,以八仙花茎段为外植体,对其组织培养技术进行更全面、系统的研究,以及为我国八仙花的大规模生产和新优品种的快速繁殖奠定基础。

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料

试验所用材料为蓝边八仙花,取自西北农林科技大学校园。

收稿日期:2008-01-18 修回日期:2008-05-15

基金项目:西安市科技计划项目“秦巴山区重要野生观赏树木引种驯化与快速繁殖技术研究”(FY07107)。

作者简介:雷亚灵,女,西北农林科技大学林木遗传育种专业硕士研究生。

\*通讯作者:李周岐,男,西北农林科技大学林木遗传育种学教授,博士生导师。E-mail: Lzhouqi@yahoo.com.cn

1.2 方法

将材料在自来水下冲洗干净(用毛刷刷干净叶柄下的尘土),待用。

1.2.1 消毒 用70%酒精10~30 s不同梯度和0.1%升汞4~14 min不同梯度搭配,每个处理接种50瓶,每瓶接1个外植体,5 d以后统计污染率,死亡率及成活率,研究其最佳消毒方法。

1.2.2 启动和增殖培养 以MS基本培养基,添加不同浓度的BA和IBA,组成9种培养基,每种培养基接种50瓶,每瓶接1个外植体,统计腋芽萌发的比例及萌发芽的生长状况;同样以MS为基本培养基,添加不同浓度的BA和IBA,组成11种培养基,每个组合接种50瓶,每瓶接3个带一个芽的无菌材料,25 d统计增殖系数,观察材料状态。

1.2.3 生根培养 以MS、1/2MS为基本培养基,分别添加0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 mg/L的IBA,选取壮实的无菌苗,每种培养基接50瓶,每瓶1个材料,25 d统计生根率、平均生根数及根毛区长度,研究适合生根的培养基及IBA的浓度。

1.2.4 移栽 以珍珠岩:腐殖土=1:2为基质,用多菌灵灭菌,移栽后用地膜保湿7 d以上,观察其移栽效果。

2 结果与分析

2.1 消毒

八仙花茎段表面光滑,结构精密,消毒物质不易渗入内部,故在消毒液中可以浸泡较长时间。由表1中数据可以看出,在70%酒精中浸泡时间的长短对消毒效果影响很大。根据表中数据,最好的消毒方式为70%酒精浸泡30 s+0.1%升汞消毒10 min。

表1 茎段消毒处理结果  
Table 1 The effects of stems disinfection

编号	接种数	70%酒精处理/s	0.1%升汞处理/s	污染数/污染率	死亡数/死亡率	成活数/成活率
(1)	50	10	6	50/100%	0/0	0/0
(2)	50	20	6	50/100%	0/0	0/0
(3)	50	30	6	41/82%	0/0	9/18%
(4)	50	10	8	50/100%	0/0	0/0
(5)	50	20	8	45/90%	0/0	5/10%
(6)	50	30	8	21/42%	0/0	29/58%
(7)	50	10	10	32/64%	0/0	18/36%
(8)	50	20	10	8/16%	0/0	42/84%
(9)	50	30	10	2/4%	0/0	48/96%
(10)	50	10	12	10/20%	3/6%	37/74%
(11)	50	20	12	2/4%	2/4%	46/92%
(12)	50	30	12	3/6%	2/4%	45/90%

2.2 启动及增殖培养

通过调整BA和IBA的浓度可以得到不同的诱导效果,但较高的IBA将会导致材料脱分化形成愈伤组织,较高的BA则会抑制分化芽的正常生长。试验结果表明,在MS+BA0.5 mg/L+IBA0.5 mg/L的培养基中可以得到理想的培养效果,在接种后5 d腋芽即开始萌发,10 d左右即能伸出叶片,且无愈伤及其他异常情况出现(如图1)。方差分析表明,IBA对八仙花不定芽的启动培养呈极显著影响( $p=0.01$ )。



图1 腋芽萌发  
Fig.1 Sprouting of axillary bud



图2 (6)号培养基增殖效果  
Fig.2 Proliferative effect NO.6 culture medium

表2 不同浓度BA、IBA对八仙花茎段启动培养的影响  
Table 2 Effect of different concentrations of BA, IBA on stem-segment culture of *H. macrophylla*

编号	BA/ (mg · L <sup>-1</sup> )	IBA/ (mg · L <sup>-1</sup> )	最早萌发时间	芽生长状况
(1)	0.1	0.1	8	芽生长缓慢,长势弱
(2)	0.5	0.1	5	芽生长较缓慢,侧芽超过顶芽
(3)	1.0	0.1	6	芽生长缓慢,成丛生状
(4)	0.1	0.5	5	芽生长较迅速,无愈伤
(5)	0.5	0.5	5	芽生长迅速,无愈伤
(6)	1.0	0.5	6	芽生长较迅速,无愈伤
(7)	0.1	1.0	5	芽生长迅速,叶柄基本出现愈伤
(8)	0.5	1.0	5	芽生长迅速,叶柄基本出现愈伤
(8)	1.0	1.0	5	芽生长迅速,叶柄基本出现愈伤

表 3 不同激素浓度对比对增殖的影响

Table 3 The effects of different phytohormones on proliferation

编号	BA/ (mg · l <sup>-1</sup> )	IBA/ (mg · l <sup>-1</sup> )	增殖 系数	材料 状态
(1)	0.1	0.1	2.7	生长正常,无愈伤
(2)	0.3	0.1	2.3	生长正常,无愈伤
(3)	0.5	0.1	2.1	生长正常,无愈伤
(4)	0.1	0.3	4.2	生长正常,无愈伤
(5)	0.3	0.3	8.2	生长正常,无愈伤
(6)	0.5	0.3	9.2	生长正常,无愈伤
(7)	0.1	0.5	2.7	生长正常,但根部肿大
(8)	0.3	0.5	3.2	生长正常,根部有愈伤
(9)	0.5	0.5	3.5	生长正常,但根部出现大量愈伤

同样通过调整 BA 和 IBA 的浓度和比例来协调顶芽和腋芽的生长,使其处于一个对整体较有利的水平。由表 1 可以看出,并非 BA 与 IBA 比值越高增殖系数越大。在试验中观察到,顶芽的快速生长为增殖系数的提高提供了基础,而若顶芽不能快速生长,而材料整体将长期处于较弱小的体积,很难有高的增殖系数。添加 0.5 mg/LIBA 的培养基中材料普遍愈伤化,可见高生长素的培养基不适于八仙花茎段的培养,任叔辉等<sup>[8]</sup>的研究也表明了这一点。通过表中数据比较,可以明显看出,(6)号为最佳的增殖培养基(如图 2)。方差分析表明:BA 对八仙花芽的诱导呈极显著差异( $p=0.01$ ),IBA 对愈伤组织的诱导呈显著差异( $p=0.014\ 0$ )。对诱导起主要作用的为 BA,其次为 NAA 与 IBA 存在交互作用并且对愈伤组织诱导有显著差异( $p=0.031\ 7$ )。

表 4 不同培养基及 IBA 浓度对生根的影响

Table 4 The effects of different culture media and density of IBA on rooting

编号	培养基	IBA/(mg · L <sup>-1</sup> )	诱导率/诱导根数	根毛区长/cm	根的状态
(1)	MS	0.1	39/4.0	0	只形成根原基,但没有长长
(2)		0.2	34/4.4	0	只形成根原基,无根的伸出
(3)		0.3	32/4.3	0	有根原基的出现,但无根伸出
(4)		0.4	37/3.7	0	长到 0.2~0.3cm 左右即停止生长
(5)		0.5	35/4.1	0	长到 0.2~0.3cm 左右即停止生长,有愈伤形成
(6)	1/2MS	0.1	83/5.8	1.3	生长速度快,形态正常
(7)		0.2	87/6	1.1	生长速度快,形态正常
(8)		0.3	100/8.3	1.1	生长速度快,形态正常
(9)		0.4	100/9	0.3	生长速度偏慢
(10)		0.5	100/8.2	0	生长速度慢,有愈伤形成

3 结论与讨论

消毒时先用 70%酒精浸泡 30 s,利用酒精的强渗透力,再用 0.1%升汞浸泡 10 min,可取得理想的消毒效果。八仙花的诱导和增殖均以 MS 为基本培

2.3 生根培养

由表 3 可以看出,利用 1/2MS 培养基能成功诱导八仙花生根,在一定激素浓度下虽然 MS 培养基也能诱导根原基的形成,并有部分根的出现,但达不到移栽的要求(如图 3-a),不适宜八仙花的生根培养。在 1/2MS 培养基中,随着 IBA 浓度的增大,诱导率有所升高,且诱导根数也有所增多。根毛区作为根的生理功能的一个重要指标,当 IBA 浓度达到 0.4 mg/L 时,大大的减少,增大到 0.5 mg/L 时则完全没有根毛区。综合比较各项参数,以(8)号为最佳生根培养基(如图 3-b)。方差分析表明:IBA 对于八仙花不定芽的生根有重要的影响。



图 3 MS and 1/2MS  
Fig. 3 The root of MS and 1/2MS

2.4 炼苗及移栽

待根长到 2 cm 时打开瓶口炼苗 3 d,移栽基质参考黄作喜等<sup>[10]</sup>扦插苗移栽的基质(珍珠岩:腐殖土=1:2),用多菌灵灭菌,移栽后用地膜保湿 7 d 以上,移栽到温室大棚中,成活率达 80%以上。

养基效果较佳,激素的浓度对比对八仙花的培养效果有着显著的影响;在启动培养时添加 0.5 mg/LBA 和 0.5 mg/LIBA 能取得较好效果;添加 0.5 mg/LBA 和 0.3 mg/LIBA 可达到最快的增殖速

(下转第 108 页)

- [J]. 西华师范大学学报, 2003, 12(4), 390-395.
- [8] 许桂芳, 吴铁明, 向佐湘. 干旱胁迫对两种过路黄抗性生理生化指标的影响[J]. 作物研究, 2006(2), 138-140.
- [9] 许桂芳. 2种过路黄抗旱生理特性的研究[J]. 西北林学院学报, 2007, 22(5), 12-14.
- [10] 周筱玲, 廖亮, 陈晔, 等. 两种过路黄的核型研究[J]. 广西植物, 1999, 19(3), 236-238.
- [11] 黄珂, 吴铁明, 吴哲. 过路黄组植物研究进展及园林应用展望[J]. 林业调查规划, 2007, 32(4), 47-50.
- [12] 李冰岚, 王健生, 陈宗良. 点腺过路黄的生药鉴定[J]. 时珍国药研究, 1998, 9(3), 247-248.
- [13] Liao L, Xu LL, Tian XH. Study of chromosome of four species in *Lysimachia* from China[J]. Wuhan Bot Res, 1996, 14(4), 370-372.
- [14] 郭剑. 聚花过路黄的化学成分研究[J]. 天然产物研究与开发, 1997, 10(4), 12-14.
- [15] 薄锋, 袁玲, 张永和. 金钱草总黄酮提取物的抗血栓作用研究[J]. 长春中医药大学学报, 2007, 23(2), 10-11.
- [16] Tanaka A, M Nizume. Karyomorphological studies on species differentiation in some species of *Lysimachia* [J]. La Kromsomo 1978. II-1, 1-12 301-312.
- [17] Tanaka A, M Hizume. Karyomorphological studies on species differentiation in some species of *Lysimachia* II. Chromosomal interrelationships of Japanese species[J]. La Karomosomo, 1980, II-1, 8-19, 515-525.
- [18] Kohd II, Takeda O, Tanaka S. Molluscicidal triterpenoidal saponin from *Lysimachia sikokiana* [J]. Chem Pharm Bull, 1989, 37, 3304.
- [19] Shen LD, Tao FR. Studies on the chemical of the herb *Lysimachia christinae* Hance[J]. Zhong Yao Tong Bao, 1988, 13(7), 31-34, 63.

(上接第 103 页)

度。生根时用 1/2MS+IBA0.3 mg/L 可得到最好效果。苗子的质量和移栽后的保湿是确保移栽成活的两大关键因素, 健壮的苗子移栽后用地膜保湿 7 d 以上一般都可以成活。

#### 参考文献:

- [1] 杨杰雄. 花中珍品—八仙花[J]. 农村实用技术, 2002(6), 35.
- [2] 徐振华, 王学勇. 花团锦簇八仙花[J]. 植物杂志, 1999(4), 23.
- [3] 上绿. 新优植物推荐[J]. 园林, 2007(9), 71-72.
- [4] 赫重运. 花团锦簇的八仙花. 花木盆景[J]. 花卉园艺, 2001(11), 16-16.
- [5] 曾宋君. 五彩缤纷八仙花[J]. 园林, 2003(5), 15-16.
- [6] 刘锦霞, 杨兰廷. 八仙花组培苗促成栽培[J]. 经济林研究, 2007(3), 61-64.
- [7] 刘锦霞, 杨兰廷. 多效唑对八仙花组培苗营养生长及成花的影响[J]. 北方园艺, 2007(6), 205-207.
- [8] 任叔辉. 八仙花的组织培养与快繁技术[J]. 防护林科技, 2006(1), 10-11.
- [9] 龚伟, 王米力, 石大兴. 八仙花离体培养和植株再生[J]. 植物生理学通讯, 2003(6), 624.
- [10] 黄作喜, 王育章. 基质配比及生长调节剂对八仙花扦插生根的影响[J]. 天津农业科学, 2005(4), 10-12.
- [11] 李浚明. 植物组织培养技术教程[M]. 北京: 中国农业大学出版社. 1992.

# 八仙花茎段组织培养技术研究

作者:

雷亚灵, 李周岐

作者单位:

西北农林科技大学, 林学院, 陕西, 杨陵, 712100

刊名:

西北林学院学报ISTIC PKU

英文刊名:

JOURNAL OF NORTHWEST FORESTRY UNIVERSITY

年, 卷(期):

2008, 23(4)

引用次数:

2次

## 相似文献(4条)

1. 期刊论文 任叔辉. REN Shu-hui 八仙花的组织培养与快繁技术 -防护林科技2006(1)

以八仙花带腋芽茎段作外植体进行离体培养, 通过不同灭菌剂及灭菌时间对外植体的影响, 不同激素组合对外植体芽分化和生根的影响的试验研究, 结果表明:较适宜的增殖培养基为MS+6-BA1. 0+NAA0. 2和MS+6-BA1. 0+IAA0. 1;生根培养基为1/2MS+IBA0. 2或1/2MS+IBA0. 1.
2. 期刊论文 龚伟. 王米力. 石大兴 八仙花离体培养和植株再生 -植物生理学通讯2003, 39(6)

1 植物名称八仙花(Hydrangea macrophylla). 2 材料类别带腋芽茎段、顶芽. 3 培养条件诱导培养基: (1)MS+6-BA 0. 5 mg\*L-1(单位下同)+NAA 0. 01+3%蔗糖. 增殖培养基: (2)MS+6-BA 2. 0+NAA 0. 1+3%蔗糖. 瓶内生根培养基: (3)1/2MS+NAA 0. 1+1. 5%蔗糖. 上述培养基均附加0. 7%琼脂, pH 5. 8~6. 0. 瓶外生根基质: (4)珍珠岩: 蛭石=1: 1. 培养温度23~27℃, 光照时间12 h\*d-1, 光照度1 500~2 000 lx.
3. 期刊论文 范小峰. 杨建霞. 杨颖丽. FAN Xiao-feng. YANG Jian-xia. YANG Ying-li 八仙花愈伤组织诱导与快速繁殖 -经济林研究2009, 27(1)

为给八仙花的大规模工厂化生产提供理论基础, 以八仙花当年生枝条为材料, 比较研究不同激素配比条件下不同部位外植体愈伤组织的诱导及快速繁殖. 结果表明, 八仙花茎段、叶柄、叶块均可作为离体培养的外植体, 其中叶柄的培养效果最好. 在附加6-BA、NAA不同质量浓度组合的MS培养基上, 均可高频诱导出愈伤组织, 经再分化可获得无性系芽, 继而产生丛生芽;将高度大于3 cm的增殖芽接种于1/2MS+IBA0. 5 mg/L培养基上可诱导产生不定根, 生根率高达100%. 生根苗采用“二步法”移栽, 成活率为98%.
4. 学位论文 雷亚灵 八仙花组织培养技术研究 2008

八仙花(Hydrangea macrophylla(Thunb.)Seringe)原产于我国和日本, 具有较高的观赏价值和经济价值, 被选为2008年北京奥运城市绿化的重要花灌木. 八仙花传统的育苗方法为实生繁殖、扦插繁殖等, 繁殖系数较低、周期长、远不能满足市场的需求. 因此, 如果想短期内得到可供大面积栽培的八仙花苗木, 组织培养是有效可行的方法. 为建立八仙花组培快繁的育苗技术体系, 为工厂化生产提供技术支撑, 本文以八仙花茎段和叶片为外植体, 系统的研究了八仙花离体培养中所涉及的各种影响因素, 包括外植体的消毒、腋芽的诱导、生根诱导、愈伤组织的培养等; 并探讨了光照条件、糖等因素对植株生长过程的影响. 具体结果如下: (1)八仙花茎段的最佳消毒方法是: 流水冲洗30—60min后, 用70%酒精浸泡30s, 然后用0. 1%HC12浸泡10min, 无菌水冲洗4—5次. 适合八仙花腋芽萌发的最佳的激素配比为: MS+6-BA0. 5mg/L+IBA0. 5mg/L, 芽启动率达92%; 适合腋芽增殖的最佳激素配比为: MS+6-BA3. 0mg/L+IBA0. 1mg/L, 增殖系数可达9. 2; 适合生根的最佳激素配比为: 1/2MS+IBA0. 3mg/L, 生根率可达100%. 生根质量好. 在珍珠岩: 蛭石=1: 2栽培基质中, 八仙花的组培苗生长良好, 移栽成活率可达100%. (2)在八仙花愈伤组织培养试验中, 采用的试验材料为茎段培养所得到的无菌苗的叶片. 试验证明光培养有利于愈伤组织的诱导, 以光照强度1500Lx—2000Lx自然散光最好; 暗培养不利于八仙花愈伤组织的发生. 最佳的诱导八仙花愈伤组织的激素配比为: MS+6-BA1. 0mg/L+IBA1. 0mg/L, 诱导愈伤率达79. 46%. 最佳的愈伤组织增殖培养基为: 1/4MS+6-BA0. 5mg/L+IBA0. 2mg/L, 增殖系数可达9. 2; 最佳的愈伤组织分化培养基为: MS+TDZ0. 1mg/L+IBA0. 5mg/L, 分化率为48%.

## 引证文献(1条)

1. 苏荣存. 金桂芳 国外引进优良绣球种的组培快繁技术 [期刊论文] -湖北农业科学 2009(4)

本文链接:

[http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical\\_xblxyxb200804023.aspx](http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_xblxyxb200804023.aspx)

下载时间:

2009年9月24日