

# 荷兰鸢尾(*Iris xiphium* L. var. *hybridum*) 的组织培养

黄苏珍 谢明云 佟海英 韩玉林 顾 姻

(江苏省植物研究所, 南京 210014)  
(中国科学院)

居 丽

(南京市玄武湖公园, 南京 210009)

**摘要** 取荷兰鸢尾(*Iris xiphium* L. var. *hybridum*)鳞茎片不同部位外植体块, 接种于附加不同激素配比的基本培养基上, 其中取自鳞茎片基部外植体块 2mm×2mm×2mm, 培养基为 MS+BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L 的不定芽诱导率为最高(70%); 最理想的增殖培养基为 MS+BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L。不定芽直径 4~5 mm, 培养基为 MS+BA 0.2 mg/L+NAA 0.5 mg/L 有利于不定根的发生, 诱导生根率达 83.3%。试管苗不经练苗可直接出瓶, 移栽于泥炭: 田土: 河沙 = 1:1:1(V/V)的基质中。

**关键词** 荷兰鸢尾; 组织培养; 鳞片

**The tissue culture of *Iris xiphium* L. var. *hybridum*** Huang Suzhen, Xie Mingyun, Tong Haiyin, Han Yulin, Gu Yin (Jiangsu Provincial Key Laboratory for Plant *Ex Situ* Conservation, Institute of Botany, Jiangsu Province and Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210014), Ju Li (Xuanwu Lake Garden, Nanjing 210009), *J. Plant Resour. & Environ.* 1999, 8(3): 48~52

The bulb segments of *Iris xiphium* L. var. *hybridum* were cultured on MS medium supplemented with variable ratio of hormones. The results showed that the adventitious buds were easily proliferated from the segments taken from the lower part of the bulb, the highest induction frequency (70%) was obtained on MS medium supplemented with BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L, and MS+BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L is most ideal proliferated medium; while MS medium supplemented with BA 0.2 mg/L+NAA 0.5 mg/L is most effective (83.3%) for rooting. Rooting plantlets were easily to be planted on a mixed medium of 1/3 peat + 1/3 soil + 1/3 sand (V/V) without any training.

**Key words** *Iris xiphium* L. var. *hybridum*; tissue culture; scale

鸢尾是著名的观赏花卉, 以其花大、色艳、花型奇特、适应性广而广泛应用于鲜切花和园林。特别是荷兰鸢尾(*Iris xiphium* L. var. *hybridum*)单朵花期长, 在北美和西欧用于鲜切花十分广泛, 并多是通过快速繁殖供应市场<sup>[1]</sup>。在我国, 由于荷兰鸢尾种球数量少, 价格高, 尚

黄苏珍: 女, 1959年8月生, 硕士, 副研究员, 主要从事鸢尾育种研究。

收稿日期: 1999-04-20

不能满足鲜切花市场的需要。因此,通过组织培养快速繁殖是目前提供商品性种球的唯一有效途径。本实验的结果,可为荷兰鸢尾种球的工厂化生产提供依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

供试材料荷兰鸢尾为球根鸢尾类,引自荷兰,栽植于南京中山植物园苗圃。

### 1.2 方 法

选取露地栽培生长旺盛,直径约2~3 cm的鳞茎,以自来水洗净泥土,用手术刀以基盘为准切去叶片和须根,注意在切除基盘下须根时尽量保留约2 mm宽的过渡区,以保证鳞片基部分化能力最强的部分不受损伤。选用10%的洗衣粉水浸泡并搅拌消毒10 min,再用自来水冲洗干净,置超净台上,接种前用75%的酒精浸泡5 min后,用无菌水冲洗两次再用0.1%的氯化汞溶液消毒5 min,最后用无菌水浸泡10~15 min,在浸泡时间内需经常搅动并换水3~4次。材料取出后放置于培养皿的无菌纱布上,吸去多余水分,然后将鳞片均分为基部、中部、上部三部分,切成不同大小的外植体块,接种在准备好的培养基上。以MS为基本培养基,琼脂0.61%,pH 5.6,培养温度 $22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ ,光照12 h。分化和增殖培养基为I-1: BA 2.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L; I-2: BA 1.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L; I-3: BA 2.0 mg/L + NAA 0.5 mg/L; I-4: BA 1.5 mg/L + NAA 0.5 mg/L; I-5: BA 1.0 mg/L + NAA 0.5 mg/L; I-6: BA 1.0 mg/L + NAA 1.0 mg/L。生根培养基为S-1: NAA 0.5 mg/L; S-2: 1/2 MS + NAA 0.5 mg/L; S-3: BA 0.2 mg/L + NAA 0.5 mg/L; S-4: BA 0.2 mg/L + IBA 0.5 mg/L; S-5: BA 0.5 mg/L + NAA 0.5 mg/L; S-6: BA 0.5 mg/L + IBA 0.5 mg/L。生根后不经炼苗直接移植到泥炭:田土:河沙=1:1:1(V/V)的基质中。

## 2 结果与分析

### 2.1 取材部位对诱导分化的影响

取材部位对诱导分化有很大的影响(表1),可以看出,鳞片上部的外植体块无论接种在哪种激素配比的培养基中均无不定芽形成;鳞片中部的外植体块虽有不定芽形成,但频率较低,最高只有30%;而取自鳞片基部的的外植体块在6组培养基上均形成了不定芽,其中I-2培养基形成的不定芽数量最多,诱导率达70%。由此可见,荷兰鸢尾鳞茎鳞片的分生能力由基部向上逐渐减弱。

### 2.2 外植体块大小对诱导分化的影响

试验结果(表2)表明,外植体块小于 $1\text{mm} \times 1\text{mm} \times 1\text{mm}$ 者诱导分化的频率很低;外植体块大于 $3\text{mm} \times 3\text{mm} \times 3\text{mm}$ 者因细胞的脱分化效果不良,分化频率也较低。外植体块大小以 $1\text{mm} \times 2\text{mm} \times 2\text{mm}$ 效果最佳,诱导频率最高达300%。

### 2.3 不定芽大小对增殖速度的影响

试验结果(表3)表明,不定芽大小对芽的增殖速度有一定影响, $<2\text{mm}$ (直径)的不定芽移入增殖培养基后,需经一段时间生长才开始增殖,影响了增殖速度,即使能很快增殖,也因芽

表1 培养基和鳞片部位对诱导分化频率的影响<sup>1)</sup>  
 Tab 1 Effect of the different medium and parts of scales to differentiation frequency<sup>1)</sup>

培养基 <sup>2)</sup> Medium	接种数 No. of explants	鳞片上部 1/3 Upper 1/3		鳞片中部 1/3 Middle 1/3		鳞片基部 1/3 Lower 1/3	
		不定芽(个) No. of adventitious buds	诱导频率(%) Inductivity	不定芽(个) No. of adventitious buds	诱导频率(%) Inductivity	不定芽(个) No. of adventitious buds	诱导频率(%) Inductivity
I-1	10	0	0	0	0	2	20
I-2	10	0	0	3	30	7	70
I-3	10	0	0	2	20	5	50
I-4	10	0	0	1	10	4	40
I-5	10	0	0	0	0	4	40
I-6	10	0	0	0	0	2	20

<sup>1)</sup>接种 5 周后的观察结果 The result after 5 weeks culture; <sup>2)</sup> I-1: BA 2.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L; I-2: BA 1.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L; I-3: BA 2.0 mg/L + NAA 0.5 mg/L; I-4: BA 1.5 mg/L + NAA 0.5 mg/L; I-5: BA 1.0 mg/L + NAA 0.5 mg/L; I-6: BA 1.0 mg/L + NAA 1.0 mg/L.

表2 培养基和外植体块大小<sup>1)</sup>对诱导分化的影响<sup>2)</sup>  
 Tab 2 Effect of the different medium and size of explants to differentiation frequency

培养基 <sup>3)</sup> Medium	接种数 (个) No. of explants	1mm × 1mm × 1mm		2mm × 2mm × 2mm		>3mm × 3mm × 3mm	
		增加不定芽(个) No. of adventitious buds	诱导频率(%) Inductivity	增加不定芽(个) No. of adventitious buds	诱导频率(%) Inductivity	增加不定芽(个) No. of adventitious buds	诱导频率(%) Inductivity
I-1	20	12	60	33	165	20	100
I-2	20	24	120	60	300	33	165
I-3	20	2	10	40	200	12	60
I-4	20	16	80	40	200	33	165
I-5	20	0	0	26	130	20	100
I-6	20	0	0	42	210	0	0

<sup>1)</sup>所有材料均取自鳞片基部 All material from the base of scales; <sup>2)</sup>接种 4 周后的观察结果 The result after 4 weeks culture; <sup>3)</sup> I-1: BA 2.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L; I-2: BA 1.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L; I-3: BA 2.0 mg/L + NAA 0.5 mg/L; I-4: BA 1.5 mg/L + NAA 0.5 mg/L; I-5: BA 1.0 mg/L + NAA 0.5 mg/L; I-6: BA 1.0 mg/L + NAA 1.0 mg/L.

表3 培养基和不定芽大小(直径)对增殖速度的影响<sup>1)</sup>  
 Tab 3 Effect of the different medium and diameter of adventitious buds to proliferated rate

培养基 <sup>2)</sup> Medium	接种数 No. of explants	<2 mm		2.5~3.5 mm		>4 mm	
		增殖量(个) No. of proliferated buds	增殖系数 Proliferation coefficient	增殖量(个) No. of proliferated buds	增殖系数 Proliferation coefficient	增殖量(个) No. of proliferated buds	增殖系数 Proliferation coefficient
I-1	9	23	2.6	56	6.2	40	4.4
I-2	9	18	2.0	32	3.6	30	3.3
I-3	9	14	1.6	20	2.2	16	1.8
I-4	9	11	1.2	15	1.7	12	1.3
I-5	9	12	1.3	12	1.3	10	1.1
I-6	9	10	1.1	9	1		1

<sup>1)</sup>接种 6 周后的观察结果 The result after 6 weeks culture; <sup>2)</sup> I-1: BA 2.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L; I-2: BA 1.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L; I-3: BA 2.0 mg/L + NAA 0.5 mg/L; I-4: BA 1.5 mg/L + NAA 0.5 mg/L; I-5: BA 1.0 mg/L + NAA 0.5 mg/L; I-6: BA 1.0 mg/L + NAA 1.0 mg/L.

小,各芽之间的鳞片密生交错,给下一次的切割带来不便,造成芽的损伤浪费; $>4$  mm(直径)的不定芽转移至增殖培养基后,鳞片易伸长长成绿叶而抑制新芽的分化。因此用以增殖的不定芽不宜太小或太大,直径在 2.5~3.5 mm 时增殖速度较快。

#### 2.4 不定芽大小对生根的影响

将单独的不定芽接入含不同比例生长激素的培养基,6 周后便可生出不定根,但不定芽的大小对不定根的发生有一定的影响,试验结果(表 4)表明,直径 4~5 mm 的不定芽较易生根;小于 3 mm 的不定芽不易生根,生根芽数较少,生根率较低;大于 6 mm 的不定芽也不易生根,鳞片伸长长成叶后则更不易生根。

表 4 培养基和不定芽大小(直径)对生根的影响

Tab 4 Effect of the different medium and diameter of adventitious buds to rooting rate

培养基 <sup>1)</sup> Medium	接种数 (个) No. of explants	< 3 mm		4~5 mm		> 6 mm	
		生根芽数(个) Rooting buds	生根率(%) Rooting rate	生根芽数(个) Rooting buds	生根率(%) Rooting rate	生根芽数(个) Rooting buds	生根率(%) Rooting rate
S-1	30	0	0	0	0	0	0
S-2	30	0	0	2	6.7	0	0
S-3	30	7	23.3	26	83.3	8	26.7
S-4	30	5	17.6	14	46.7	7	23
S-5	30	2	6.7	8	26.7	6	20
S-6	30	3	10	5	16.7	6	20

<sup>1)</sup> S-1: NAA 0.5 mg/L; S-2: 1/2 MS+NAA 0.5 mg/L; S-3: BA 0.2 mg/L+NAA 0.5 mg/L; S-4: BA 0.2 mg/L+IBA 0.5 mg/L; S-5: BA 0.5 mg/L+NAA 0.5 mg/L; S-6: BA 0.5 mg/L+IBA 0.5 mg/L.

#### 2.5 培养基的筛选

2.5.1 分化培养基 从表 1 和表 2 可以看出,BA 与 NAA 浓度的比例过大(I-1)或过小(I-6)均不利于荷兰鸢尾小鳞茎不定芽的形成。最适宜的培养基为 MS+BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L。

2.5.2 增殖培养基 荷兰鸢尾小鳞茎的增殖培养需要较高的 BA 与 NAA 浓度之比,BA 与 NAA 的浓度之比较小时,鳞片很快伸长长成叶片,而抑制小鳞茎的增殖。从表 3 可清楚看出,随着 BA 与 NAA 浓度之比的增大(从 I-6 到 I-1),增殖量与增殖系数逐步明显增大。最理想的增殖培养基为 MS+BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L。

2.5.3 生根培养基 从表 4 可以看出,BA 对不定芽的生根有促进作用,在不含 BA(S-1, S-2)的培养基中,不定芽不生根或极少生根,但过高浓度的 BA 对根的形成又有抑制作用(S-5, S-6),培养基为 MS+BA 0.2 mg/L+NAA 0.5 mg/L 时,对生根最为有利,诱导生根率最高达 83.3%。

#### 2.6 生根苗移栽

试管苗出瓶最好选择在该种的生长季节,尽可能避开休眠期。不定根长度达到 0.5~1 cm 时不经炼苗便可直接出瓶。生根苗从培养基中取出后,将根部的培养基质冲洗干净,移栽到泥炭:田土:河沙=1:1:1(V/V)的基质中,稍加遮荫,成活率可达 95% 以上。

### 3 讨 论

(1) 在植物组织培养中,再生植株形态发生的过程(这里指器官发生型)一般划分为愈伤组织形成和器官发生两个阶段<sup>[2]</sup>,这两个阶段因植物种类、取材部位、培养时间的不同而有差异。荷兰鸢尾鳞片基部具有旺盛的分生能力,这和李招文等<sup>[3]</sup>对球茎水仙组织培养的结果是相同的;在培养时,不需形成较大的愈伤组织块,在较小的愈伤组织块上就可形成不定芽,而后增生的不定芽均可从不定芽的基部不断发生,形成不定芽丛。

(2) 激素对细胞的分化起着重要的调节作用,生长素和细胞分裂素的比例控制着细胞的分化和器官的形成,高浓度细胞分裂素与低浓度的生长素有利于芽的形成;反之则促进生根<sup>[4]</sup>。桂耀林等<sup>[5]</sup>对罗汉果的研究发现,吲哚乙酸与 6-BA 配合时有较好的诱导器官分化的效果,而 NAA 或 2,4-D 与 6-BA 配合则只能形成愈伤组织,无器官的发生。本试验得出不同的结果:高浓度的细胞分裂素和低浓度生长素的最适比例为 BA 1.0 mg/L 和 NAA 0.2 mg/L,高于或低于这个比例均不利于芽的诱导分化(表 1)。在 6-BA 和 NAA 等浓度的培养基上虽然也能形成一定的不定芽,但诱导频率很低(表 1,表 2)这和杨增海<sup>[4]</sup>对百合鳞片培养的结果是相同的。林学诗<sup>[5]</sup>认为高浓度的 BA 有利于不定芽的形成,但在本试验中,BA 浓度达到 2.0 mg/L 时,促分化作用不如 1.0 mg/L 的(表 1,2)。低浓度的 BA 有利于根的形成,在不含 BA 的培养基上的荷兰鸢尾鳞茎球不生根或很少生根,也证明了 Miller<sup>[1]</sup>和 Skoog<sup>[6]</sup>的论点。IBA 与 NAA 对小鳞茎不定芽的发生均有良好的效果。

(3) 江明<sup>[7]</sup>等的研究表明,香根鸢尾的试管苗生根后不需炼苗可直接出瓶。本试验荷兰鸢尾试管苗生根后直接出瓶栽植得到了同样的结果。这也许和本种叶表皮的腊质层厚,植株水分不易蒸发有关。

### 参 考 文 献

- 1 Miller P N, Anderson W C. *In vitro* bulblet formation in Dutch *Iris*. HortScience, 1989, 24(6): 1028~1031.
- 2 桂耀林,顾淑荣,徐廷玉. 罗汉果叶组织培养中的器官发生. 植物学报, 1984, 26(2): 120~125.
- 3 李招文,唐道一. 水仙组织培养的研究. 园艺学报, 1982, 9(4): 65~68.
- 4 杨增海. 植物生根培养基对百合组织培养繁殖的效应. 西北农业大学学报, 1987, 15(3): 72~77.
- 5 林学诗. 金针菜之组织培养繁殖. 中国园艺. 1989, 35(1): 45~54.
- 6 Skoog F, Miller C O. Chemical regulation of organ formation in plant tissues culture *in vitro*. Symp Soc Exp Biol, 1957, 11: 118~131.
- 7 江 明,谢文申. 香根鸢尾的组织培养和快速繁殖. 园艺学报, 1995, 22(3): 301~302.

(责任编辑:宗世贤)