

东方百合“索邦”离体培养再生体系的建立

乔永旭¹, 陈超¹, 张永平², 田立民¹, 高艳彬¹

(1. 唐山师范学院生命科学系, 河北唐山 063000; 2. 浙江大学农业与生物技术学院, 浙江杭州 310029)

摘要 以东方百合“索邦”的鳞片为外植体, 进行组织培养技术研究。结果表明, 诱导不定芽的最适宜培养基为 MS + 6-BA 2.0 mg/L + NAA 0.5 mg/L, 每块鳞片平均诱导 4.3 个不定芽, 诱导率达 69.23%; 不定芽增殖的最适宜培养基为 MS + 2,4-D 4.0 mg/L, 每段叶片平均分化 3~4 个不定芽, 平均增殖率达 72.5%; 生根适宜培养基为 1/2MS + IBA 0.3 mg/L 和 1/2MS + NAA 0.1 mg/L, 每株平均长出 8~12 条根, 根粗壮适宜移栽。不同部位的鳞片对不定芽诱导影响较大, 外层分化能力最强, 中层次之, 内层最差; 同一鳞片基部分化能力最强, 中部次之, 尖部最差; 基部叶片增殖能力最强, 中部次之, 尖部最差。

关键词 百合; 鳞片; 组织培养

中图分类号 Q943.1 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2007)01-0067-03

Regeneration of *Lilium oriental hybrid* of Sorbonne

QIAO Yong-xu et al (Department of Life Science, Tangshan Teacher's College, Tangshan, Hebei 063000)

Abstract The oriental lily squamas of Sorbonne were used as explants for tissue culture. The results showed that MS + 6-BA 2.0 mg/L + NAA 0.5 mg/L was optimal medium to induce buds. 4.3 buds were induced per squamas and the buds rate was 69.23%. The optimal buds multiplication medium was MS + 2,4-D 4.0 mg/L. 3~4 buds were differentiated per segment buds and proliferous buds rate was 72.5%. The optimal mediums for rooting were 1/2 MS + IBA 0.3 mg/L and 1/2 MS + NAA 0.1 mg/L. Every seedling differentiated 8~12 haleness roots. The differentiation ability of outward bulb scales was better than inward ones and the ability of bottom squamas was better than that of top squamas. The proliferated ability of each bottom leaf was better than that of the top part.

Key words *Lilium*; Squama; Tissue culture

东方百合 (*Lilium oriental hybrid*) 为百合科百合属多年生球根花卉, 植株刚直挺秀, 花大美丽, 清雅脱俗, 为世界著名的观赏花卉之一^[1]。近年来, 东方百合作为切花在我国花卉市场占有重要地位^[2]。目前传统繁殖方法的弊端日益明显。组织培养作为良好的繁殖方法正逐步受到人们重视, 因此建立东方百合的再生体系是非常有必要的。为此, 以东方百合“索邦”鳞片为材料, 系统研究了影响百合鳞片不定芽的分化、增殖、生根等因素, 建立一套完整的东方百合“索邦”体外快速繁殖体系, 为东方百合的规模化生产奠定基础。

1 材料与方法

1.1 供试材料 供试荷兰进口东方百合种球索邦“Sorbonne”购自北京克劳沃公司。

1.2 试验方法

1.2.1 外植体选择与消毒。 选择生长良好的种球, 剥取鳞片, 分成外、中、内 3 层。用洗衣粉水浸泡 20 min, 在流水下冲洗 30 min, 用 70% 酒精处理 60 s, 用 0.1% 升汞消毒 15 min, 用无菌水冲洗 5~6 次, 最后用无菌滤纸吸干水分, 备用。

1.2.2 不定芽的诱导。 取经消毒处理的鳞片, 横向切成尖部、中部、基部 3 部分, 每块大小约 1 cm², 接种于以下 4 种培养基上进行不定芽的诱导: S1 为 MS + 6-BA 2.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L; S2 为 MS + 6-BA 2.0 mg/L + NAA 0.5 mg/L; S3 为 MS + 6-BA 1.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L; S4 为 MS + 6-BA 1.0 mg/L + NAA 0.5 mg/L。附加蔗糖 3%, 琼脂 0.6%, pH 5.8。培养条件为温度 (25 ± 1) °C, 光照周期 12 h/d, 光照强度 2 000 lx。

1.2.3 不定芽的增殖。 取长至 3~5 cm 的不定芽, 将叶片横向切成尖部、中部、基部 3 段, 每段 1.5 cm 左右, 接种于以下 4 种培养基上进行增殖培养: S5 为 MS + 2,4-D 0.5 mg/L; S6 为

MS + 2,4-D 1.0 mg/L; S7 为 MS + 2,4-D 2.0 mg/L; S8 为 MS + 2,4-D 4.0 mg/L。附加蔗糖 3%, 琼脂 0.6%, pH 5.8, 培养条件同“1.2.2”。

1.2.4 不定芽的生根。 取长至 3~5 cm 的不定芽, 从基部切下, 分成单株移植于以下 4 种培养基上进行生根培养: S9 为 1/2MS + IBA 0.1 mg/L; S10 为 1/2MS + IBA 0.3 mg/L; S11 为 1/2MS + NAA 0.1 mg/L; S12 为 1/2MS + NAA 0.3 mg/L。附加蔗糖 3%, 琼脂 0.6%, pH 5.8, 培养条件同“1.2.2”。

1.2.5 生根苗的移栽。 根长至 2~5 cm 后, 洗去生根苗根部培养基, 移栽到经消毒处理的草炭基质上, 基质浇透水, 罩上薄膜保湿, 避免阳光直射。每日喷水 1 次, 隔 1~2 d 施 1 次 1/2MS 大量营养液, 第 4 天浇 1.0 g/L 多菌灵, 第 7 天打开薄膜, 15 d 后去除薄膜, 温室栽培。

2 结果与分析

2.1 不定芽的诱导

2.1.1 激素对不定芽诱导的影响。 将鳞片接种于诱导不定芽的培养基上, 7 d 后鳞片基部略有膨大, 膨大部位为乳白色; 15 d 后转为黄绿色; 20 d 后膨大部位萌动形成绿色芽体; 40 d 后形成 3~5 cm 的不定芽 (图 1, 2)。表 1 表明, 鳞片在不同比例激素培养基上的生长状况不同。当 6-BA 浓度一定时, 随着 NAA 浓度的增加, 不定芽诱导率明显上升, 平均每块鳞片形成的不定芽数也 0.05 水平显著增加; 当 NAA 浓度一定时, 随着 6-BA 浓度的增加, 平均每块鳞片形成的不定芽数有所增加, 但 S1 与 S3 培养基处理间差异 0.01 水平显著, S2 与 S4 培养基处理间无明显差异。6-BA 与 NAA 适当配比对不定芽的诱导有促进作用, 两者比例为 4:1 时诱导率比 10:1 时高 40.66%, 增加两者比例至 2:1 时诱导率下降。4 种培养基诱导的不定芽均可用于继代培养, S2 培养基中的不定芽生长健壮, 有根出现, 可以进行生根移栽。

2.1.2 不同部位鳞片对不定芽诱导的影响。 表 2, 3 表明, 不同层次的鳞片对不定芽诱导影响较大。外层和中层鳞片

基金项目 河北省唐山市生物与化学新技术重点实验室项目 (0436001B-9); 河北省科技厅项目 (052201131)。

作者简介 乔永旭 (1978-), 男, 山西晋城人, 硕士, 讲师, 从事植物细胞工程方面的研究。

收稿日期 2006-09-25

诱导能力明显高于内层,外层和中部平均诱导率分别比内层高出 37.68% 和 30.36%,外层和中部平均每块鳞片上诱导不定芽的数目也均高于内层。同一鳞片不同部位间平均诱导率差异也 0.01 水平显著,基部最高为 68.75%,中部为 45.90%,尖部最低仅 23.70%;平均每块鳞片上诱导不定芽数目,基部最多,中部次之,尖部最少。不定芽多集中在鳞片基部内侧及切面等伤口部位,说明这些部位诱导分化不定芽能力最强。



图1 鳞片产生的不定芽



图2 生长健壮的不定芽

表1 不同激素对鳞片不定芽诱导的影响

培养基	激素含量//mg/L		接种数	污染数	诱导数	诱导率	每块鳞片平均芽数
	6-BA	NAA	块	块	块	%	
S1	2.0	0.2	60	18	12	28.57 A	2.5 aA
S2	2.0	0.5	60	8	36	69.23 B	4.3 bB
S3	1.0	0.2	60	15	19	42.22 C	3.8 cB
S4	1.0	0.5	60	13	28	59.57 D	4.5 bB

注:诱导率=诱导数/(接种数-污染数);大写字母表示 0.01 水平显著差异,小写字母表示 0.05 水平显著差异。下表同。

表2 不同部位鳞片对不定芽诱导的影响

鳞片部位	接种数	诱导数		污染数	诱导率	每鳞片平均诱导芽数
		块	块			
内层	尖部	60	4	8	7.69	1.3
	中部	60	11	9	21.57	2.5
	基部	60	25	6	46.30	3.3
中层	尖部	60	12	11	24.49	2.8
	中部	60	32	7	60.38	3.9
	基部	60	42	8	80.77	5.3
外层	尖部	60	16	26	47.06	3.5
	中部	60	24	18	57.14	4.1
	基部	60	32	22	84.21	5.8

2.2 不定芽的增殖 图 3、4 表明,激素的水平 and 不定芽的部位对不定芽增殖都有很大的影响。表 4 表明,S8 培养基

中不定芽平均增殖率比 S5 培养基高 50.45%,基部平均增殖率比中部高 24.07%,比尖部高 44.01%,差异达 0.01 水平显著。同一种培养基中,不同部位叶片增殖率差异 0.01 水平显著,基部最高,中部次之,尖部最差。当 2,4-D 浓度很低时,叶片尖部几乎不产生不定芽,也不形成愈伤组织,一段时间后叶片干枯,中部与基部增殖率很低,分别为 20% 和 46.15%;随着 2,4-D 浓度的增加,叶片形成愈伤组织与分化能力提高;2,4-D 浓度在 2.0 和 4.0 mg/L 时,基部增殖率均达到 100%,特别是在 2,4-D 浓度达 4.0 mg/L,叶片尖部与中部增殖率大幅度提高,分别为 32.50% 和 85.00%,平均增殖率达到 72.5%,平均每段叶片形成 3~4 个不定芽。

表3 不同部位鳞片对不定芽诱导的显著性比较

鳞片部位	平均诱导率		鳞片部位	平均诱导率	
	%	平均芽数		%	平均芽数
内层	25.48 A	2.9 aA	尖部	23.70 A	3.0 A
中层	55.84 B	4.4 bB	中部	45.90 B	3.5 B
外层	63.16 C	4.5 bB	基部	68.75 C	5.0 C

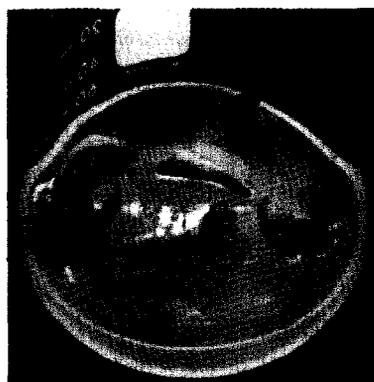


图3 叶片产生的愈伤组织



图4 愈伤组织产生的不定芽

2.3 不定芽的生根 将产生的不定芽分成单株,进行生根诱导。7 d 后有淡黄色根出现。表 5 表明,4 种培养基生根率都高达 90% 以上。添加 IBA 0.3 mg/L 和 NAA 0.1 mg/L 的培养基生根率均达到 100%,但两者在根的长度和数量上存在较大差异。S10 培养基中根较长,健壮,有根毛;S11 培养基中生根较多,粗壮,带有根毛。这两种培养基诱导产生的幼苗均适宜移栽。在添加 IBA 0.1 mg/L 时根最长,纤细,仅少量根毛,不适宜移栽;在添加 NAA 0.3 mg/L 时生根多,但根很短,仅少量根毛,茎部生长不明显甚至干枯,移栽后不易成活。结果表明,较低水平的 IBA 和较高水平的 NAA 单

独使用均能很好诱导不定芽生根(图 5)。

表 4 不同培养基对不定芽增殖的影响

培养基	接种部位	接种数	污染数	产生不定芽	增殖率	生长状况
		块	块	数//块	%	
S5	尖部	40	0	0	0.00 A	-
	中部	40	0	8	20.00 B	仅有愈伤
	基部	40	1	18	46.15 C	细弱
S6	尖部	40	20	0	0.00 A	-
	中部	40	0	20	50.00 D	纤细
	基部	40	0	36	90.00 E	芽多细弱
S7	尖部	40	1	15	38.46 F	细弱
	中部	40	3	22	59.46 G	芽多细弱
	基部	40	0	40	100.00 H	芽多旺盛
S8	尖部	40	0	13	32.50 I	细弱
	中部	40	0	34	85.00 J	芽多旺盛
	基部	40	0	40	100.00 H	芽多旺盛

注:增殖率=产生不定芽数/(接种数-污染数)。

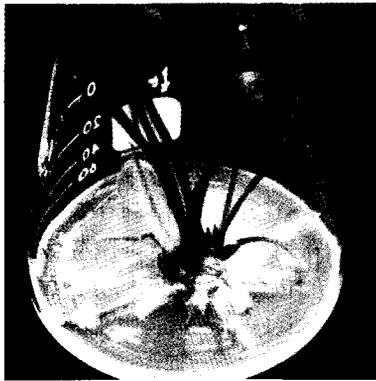


图 5 不定芽生根

表 5 不同培养基对试管苗生根诱导的影响

培养基	接种数	污染数	生根数	生根率 %	每芽平均根数	平均根长 cm	根生长状况
S9	60	4	52	92.86	7	5.2	纤细少量根毛
S10	60	1	59	100.00	8	4.2	较壮有根毛
S11	60	0	60	100.00	12	2.8	粗壮有根毛
S12	60	2	53	91.38	10	1.2	粗壮少量根毛

注:生根率=生根数/(接种数-污染数)。

2.4 生根苗的移栽 根长至 2~5 cm 后,将生根苗移栽到经消毒处理的湿润草炭基质上,观察其生长状况。试验表明,根的长度和数量会影响幼苗的移栽成活率。较长根的

幼苗适应力差,根系容易损伤;根少不利于营养物质吸收,影响幼苗生长。所以,选择根长度在 2~5 cm、有根毛、生根多的幼苗进行移栽,30 d 后幼苗成活率可达 92%(图 6)。

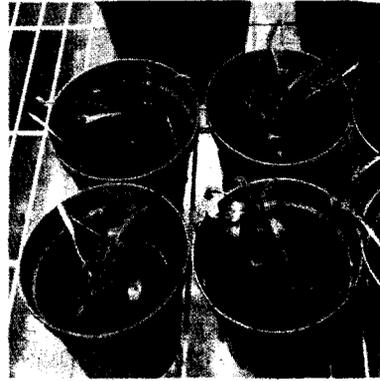


图 6 生根苗的移栽

3 小结与讨论

(1) 试验表明,诱导不定芽的最适宜培养基为 MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L;不定芽增殖的最适宜培养基为 MS+2,4-D 4.0 mg/L;百合幼苗生根的适宜培养基为 1/2MS+IBA 0.3 mg/L 和 1/2MS+NAA 0.1 mg/L。鳞片部位和不定芽的诱导关系密切,外层鳞片诱导率最高,中层次之,内层最低;同一鳞片基部诱导不定芽的能力最高,中部次之,尖部最低。对于叶片来说,基部的增殖能力最强,中部次之,尖部最差。

(2) 东方百合传统的繁殖方法易导致百合种球感染病毒,造成种性降低。组织培养则有效解决了这个问题^[3-5],对于百合种球脱毒、恢复种性起到极为重要的作用。东方百合“索邦”离体再生体系流程的建立对于减少我国对进口百合种球的依赖,扩大国产百合的生产有重大意义。

参考文献

- [1] 王俐,李枝林,赵燕.百合的组织培养及快繁技术[J].云南农业大学学报,2001,16(4):304-307.
- [2] 辛广,侯冬岩,刘琳琳,等.5种东方百合过氧化物酶同工酶的分析[J].鞍山师范学院学报,2003,5(6):59-61.
- [3] 唐东芹,黄丹枫,唐克轩,等.东方百合鳞片的组织培养[J].植物生理学通讯,2003,23(5):450-452.
- [4] 王刚,杜捷,李桂英,等.兰州百合和野百合组织培养及快速繁殖研究[J].西北师范大学报:自然科学版,2002,38(1):69-71.
- [5] 丁兰,刘国安,田卫东,等.新铁炮百合组织培养和快速繁殖研究[J].西北师范大学学报:自然科学版,2001,37(1):80-82.

(上接第 66 页)

构成)和数据线(由压花不锈钢板和石材构成)。折线形的水线(图 14)充满力量感,象征着软件园的智慧线;笔直的由玻璃光带铺装构建的线路形成晶莹的晶体线(图 15),体现出现代的高科技;数据线(图 16)以压花不锈钢板铺装,诠释出计算机程序的数据。

3 结语

从古典园林到现代园林,无论从形式、功能还是铺装材料上园路设计都得到了极大的发展。这些新型材料被大量

运用在园路设计中,大大丰富了园林景观。

参考文献

- [1] 周维权.中国古典园林史[M].北京:清华大学出版社,2003.
- [2] 毛培琳.园林铺地[M].北京:中国林业出版社,1992.
- [3] 计成,陈植注.园冶注释[M].北京:中国建筑工业出版社,1988.
- [4] 陈战是.材料与园林设计初探[D].北京:北京林业大学,2002.
- [5] 章怡维.园林设计师手记之十——园路[J].园林,2000,12:16-19.
- [6] PADUA M G,刘君.工业的力量——中山歧江公园:一个打破常规的公园设计[J].中国园林,2003,9:6-12.
- [7] 王向荣,林箐.中关村软件园 D-G1、D-G4 地块景观设计[J].中国园林,2003,6:41-42.