

文章编号: 1008-3464 (2008) 02-0134-04

东方百合“马可波罗”花器官的组织培养

杨美纯¹, 卢赛清¹, 陈燕霞¹, 刘丽敏², 李斌³(1 广西大学农学院, 广西 南宁 530005; 2 广西农业科学院甘蔗研究所, 广西 南宁 530007;
3 广西中医学院, 广西 南宁 530001)

摘要: 以东方百合“马可波罗”的花被片、花丝、花托、子房为外植体, 建立快速无性繁殖系。在本实验条件下, 诱导花托、花被片、花丝、子房产生丛芽的最佳培养基分别为: MS + 6-BA 0.5~3.0 mg/L + NAA 0.1~0.2 mg/L, MS + 6-BA 2.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L, MS + 6-BA 2.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L 和 MS + 6-BA 1.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L; 丛芽增殖的最佳培养基为 MS + 6-BA 1.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L; 生根结鳞茎的最佳培养基为 1/2 MS + 糖 50~80 g/L + NAA 0.4~0.8 mg/L。

关键词: 东方百合; 组织培养; 花器官**中图分类号:** S682.29 **文献标识码:** A

Floral organ tissue culture of oriental lily “Marco polo”

YANG Mei-chun¹, LU Sai-qing¹, CHEN Yan-xia¹, LIU Li-min², LI Bin³(1 College of Agriculture, Guangxi University, Nanning 530005, China;
2 Sugarcane Research Institute, Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning 530007, China;
3 Guangxi Traditional Chinese Medical University, Nanning 530001, China)

Abstract: The clone propagation of oriental lily “Marco polo” was developed through culture of petal, filament, receptacle, ovary *in vitro*. The results showed that the best inducement mediums for shoots of receptacle, shoots of petal, shoots of filament and shoots of ovary were MS + 6-BA 0.5~3.0 mg/L + NAA 0.1~0.2 mg/L, and MS + 6-BA 2.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L, MS + 6-BA 2.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L and MS + 6-BA 1.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L, respectively. Proliferation medium was MS + 6-BA 1.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L. Inducement of rooting and bulbing was better in medium of 1/2 MS + sugar 50~80 g/L + NAA 0.4~0.8 mg/L.

Key words: oriental lily “Marco polo”; tissue culture; floral organ

百合 (*Lilium* spp.) 是百合科 (Liliaceae) 百合属 (*Lilium*) 多年生具地下鳞茎的草本植物, 是国内外著名的观赏花卉。现在市场上的百合观赏花卉分为四大类: 亚洲系、东方系、铁炮系、L/A 杂交系, 其中东方系在花卉栽培中所占的比例最大^[1]。东方百合杂种系 (oriental hybrid) 为百合中的名贵品种群, 由于其花色艳丽、花形奇特、芳香宜人而深受人们的喜爱, 已成为国内外市场长期热销的花卉种类之一。本研究选用的“马可波罗”百合属东方百合系, 是由天香百合 (*L. auratum* Lindl.) 与药用百合 (*L. speciosum* Thunb.) 杂交获得的著名百合品系, 其花朵大, 白色, 花香幽雅^[2]。目前我国尚未能自育东方百合种球, 生产上用的种球主要从荷兰等国进口, 其价格昂贵, 因

收稿日期: 2007-01-30; 修回日期: 2007-11-02。

基金项目: 广西科学研究与技术开发计划项目 (桂科攻 0322008-2A)。

作者简介: 杨美纯 (1951-), 女, 广西河池人, 广西大学教授; E-mail: meichunyang@163.com。

此, 要降低东方百合生产成本, 必须研究其种球的繁育, 实现东方百合种球国产化。百合的许多器官和组织都可进行组织培养诱导成苗, 常用于百合快速繁殖的外植体有鳞片、叶片、茎尖、珠芽、花梗等, 其中以鳞片最为常用^[1,3-7]。近年来, 花丝、花托、子房等花器官的离体培养也应用于百合的快速繁殖^[8-10], 但关于东方百合“马可波罗”花器官的组织培养尚未见报道。作者以东方百合“马可波罗”的花被片、花丝、花托、子房为外植体, 探讨不同的激素组合对花器官各部位不定芽的诱导率、芽增殖率以及生根率的影响, 以期为东方百合种球的国产化和规模化生产提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

“马可波罗”百合(商品名: Marco polo)的花器官。

1.2 方法

在超净台上用75%乙醇擦拭花蕾表面2~3次, 然后用解剖刀将花蕾剖开, 取出内层花被片及花丝、子房。内层花被片分为上部、中部、基部三部分, 各部分分别切成约0.8 cm × 0.8 cm的小块; 花丝切成长约1 cm的小段; 子房横切成两段。花托及外层花被片用0.1%升汞溶液灭菌6~10 min(其间更换灭菌液1次), 无菌水冲洗5~6次, 将灭菌好的外层花被片分为上部、中部、基部三部分, 各部分分别切成约0.8 cm × 0.8 cm的小块。各种灭菌好的材料均接种于附加有不同激素种类和浓度梯度的MS培养基中, 进行初代培养。

1.3 培养基

以MS为基本培养基, 附加不同种类及浓度梯度的激素, pH 5.6, 培养基均用0.45%琼脂固化。

1.4 培养条件

培养的光照强度为2 000 lx, 光照时间12 h/d, 温度为(26±2)℃。

2 结果与分析

2.1 不定芽的诱导

2.1.1 花器官不同部位不定芽的诱导 将已灭菌并切块的花器官各部分分别接种于各培养基中。花丝段培养15 d后开始伸长, 其两端膨大, 35 d后长出小突起, 开始分化形成小芽; 子房切段培养12 d后开始膨大弯曲, 39 d后形成小芽; 花托培养15 d后开始膨大, 32 d后开始分化形成小芽; 花被片小块培养16 d后开始伸长, 变褐色, 45 d后切口处开始分化形成小芽。结果表明, 花器官诱导不定芽产生的能力从强到弱顺序为: 花托(100%) > 子房(67.4%) > 花被片(50%) > 花丝(37.9%)(表1)。

表1 不同培养基对东方百合“马可波罗”花器官不定芽诱导的影响
Tab. 1 Effects of various medium on inducement of adventitious buds from floral organs of oriental lily “Marco polo”

培养基编号 Media No.	6-BA /mg · L ⁻¹	NAA /mg · L ⁻¹	诱导率 Rate of differentiation/%			
			花被片 Petal	花托 Receptacle	子房 Ovary	花丝 Filament
1	0.5	0.1	37.9	100	59.6	35.1
2	0.5	0.2	39.7	100	61.2	32.9
3	1.0	0.1	42.4	100	67.0	36.1
4	1.0	0.2	51.6	100	71.9	37.4
5	2.0	0.1	64.1	100	70.9	41.5
6	2.0	0.2	76.5	100	70.2	45.7
7	3.0	0.1	45.8	100	69.8	36.3
8	3.0	0.2	42.0	100	68.7	38.2
平均 Average			50.0	100	67.4	37.9

2.1.2 激素对花器官不同部位不定芽形成的影响 花器官接种 60 d 后统计不定芽的诱导率, 结果表明, 6-BA 浓度 1~2 mg/L、NAA 浓度 0.1~0.2 mg/L 对花器官各部位不定芽的诱导效果较好, 每个外植体可诱导出小芽 3 个以上。

6-BA 浓度低于 0.5 mg/L 时, 芽的诱导率不高, 且每个外植体上新生芽数较少; 6-BA 浓度在 3 mg/L 时, 尽管诱导率较高, 但产生的丛芽过于密集, 很难形成高质量的单芽, 因此, 3~6 号培养基是较好的初代诱导培养基, 其中 6 号培养基最理想, 不但诱导率高, 平均每个外植体的新增芽数达到 10.5 个, 而且形成的小芽粗壮, 质量较好。

2.2 激素对芽增殖的影响

将初代培养诱导产生的小芽分别接种于各增殖培养基中, 15 d 后在芽的基部出现新生小芽, 逐渐形成芽丛。45 d 后统计结果表明, MS + 6-BA 1.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L 处理组的继代增殖率最高, 约 20 d 就形成无根健壮丛生苗; MS + 6-BA 0.5 mg/L + NAA 0.1 mg/L 处理组的效果次之; 6-BA 浓度在 3 mg/L 以上时, 芽丛过密, 单芽的质量不好 (表 2)。

表 2 不同培养基对东方百合“马可波罗”不定芽增殖的影响
Tab. 2 Effect of various medium on the propagation of cluster shoots of oriental lily “Marco polo”

培养基编号 Media No.	6-BA /mg · L ⁻¹	NAA /mg · L ⁻¹	接种芽数 No. of inoculated bud	增殖芽数 No. of reproducible bud	增殖系数 Reproducible coefficient
1	0.5	0.1	20	198	9.90
2	0.5	0.2	20	165	8.25
3	1.0	0.1	20	231	11.55
4	1.0	0.2	20	175	8.75
5	2.0	0.1	20	189	9.45
6	2.0	0.2	20	132	6.60
7	3.0	0.1	20	芽丛过密, 很难分辨出单芽	
8	3.0	0.2	20	芽丛过密, 很难分辨出单芽	

2.3 激素对生根结鳞茎的影响

将不定芽切割成单株, 分别接种于表 3 的 12 种不同的生根结鳞茎培养基中, 观察发现, 培养 7~12 d 后不定芽开始长根, 30 d 后开始形成鳞茎。60 d 后统计结果表明, 5 号培养基、8 号培养基、11 号培养基生根结鳞茎的效果都较佳 (表 3), 其诱导的小芽生根率达到 100%, 而且根粗壮, 根毛多, 侧根发达, 活力强, 地上部生长旺盛, 小鳞茎增大快, 鳞片肥厚。但考虑到成本问题, 作者认为, 东方百合“马可波罗”组培苗的生根结鳞茎培养基以 5 号培养基 (1/2 MS + 糖 60 g/L + NAA 0.5 mg/L) 为最佳。

表 3 不同培养基对东方百合“马可波罗”不定芽生根结鳞茎的影响
Tab. 3 Effects of various medium on rooting and bulbing of seedlings of oriental lily “Marco polo”

培养基编号 Media No.	NAA /mg · L ⁻¹	糖浓度/% Concentration of sugar	接种芽数 No. of inoculated bud	鳞茎诱导率/% Induced rate of bulb	平均鳞茎直径/cm Mean diameter of bulb	平均根数/条 · 株 ⁻¹ No. of root per plant
1	0.3	50	32	93.2	0.87	11
2	0.5	50	32	100	0.88	13
3	0.8	50	32	95.6	0.82	16
4	0.3	60	32	100	0.92	13
5	0.5	60	32	100	1.36	16
6	0.8	60	32	100	1.01	17
7	0.3	70	32	100	1.02	14
8	0.5	70	32	100	1.36	16
9	0.8	70	32	100	1.23	20
10	0.3	80	32	100	1.21	18
11	0.5	80	32	100	1.34	25
12	0.8	80	32	100	1.24	31

2.4 移栽

9~10月份将已生根结鳞茎的试管苗置于室外炼苗7d, 然后洗去根部的琼脂, 栽入经高锰酸钾液灭菌的沙床中。移栽后浇透水, 盖上遮阳网, 每隔十天浇一次营养液。观察发现, 移栽后百合组培苗的叶片逐渐枯萎, 11月份天气转凉时鳞茎逐渐长出新根和新叶。60d后统计结果表明, 具有根和鳞茎的组培苗的成活率达到100%。

3 讨论

研究结果显示, 东方百合花托、花被片、子房和花丝的不定芽分化能力不同。花托的分化能力最强, 其次是花被片, 再次是子房和花丝, 这与 Nhut^[11]在其他百合品种的花器官培养中所得的花托的芽诱导率最高的研究结果相一致。

尽管百合试管苗基部形成的小鳞茎贮藏有一定的营养物质, 但试管苗从异养到自养有一个逐渐适应的过程, 所以移栽后的前期给它提供一个相对少菌的环境至关重要。本试验采用了经过高锰酸钾灭菌的沙床进行假植, 保证了试管苗从异养到自养的安全过渡。

参考文献:

- [1] 郑春明, 温立治, 罗丽蓉. 巴巴拉百合的组织培养和快速繁殖 [J]. 植物生理学通讯, 2004, 40 (2): 205.
- [2] 丁兰, 赵庆芳, 刘瑞梅. 马可波罗百合的组织培养和离体快繁 [J]. 广西植物, 2004, 24 (1): 37-39.
- [3] 刘选明, 周朴华, 屈姝存. 百合鳞片离体诱导形成不定芽和体细胞胚 [J]. 园艺学报, 1997, 24 (4): 353-358.
- [4] 赵庆芳, 曾小英, 丁兰. 东方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, 2003, 39 (1): 66-68.
- [5] 陈小兰, 胡琼华, 王红霞. 金百合的离体快速繁殖 [J]. 植物生理学通讯, 2000, 36 (4): 334.
- [6] 杨成德, 种康, 敬兰花. 百合鳞片不同部位的小盘茎分化与调节因子调节研究 [J]. 兰州大学学报: 自然科学版, 1988, 24 (3): 95-99.
- [7] 王刚, 杜捷, 李桂英, 等. 兰州百合和野生百合组织培养及快速繁殖研究 [J]. 西北师范大学学报: 自然科学版, 2002, 38 (1): 69-71.
- [8] 刘雅莉, 张剑侠, 潘学军. 东方百合“索邦”的花器官培养与快速繁殖 [J]. 西北植物学报, 2004, 24 (12): 2350-2354.
- [9] 张延龙, 徐炎. 东方百合叶片组织培养研究 [J]. 西北农林科技大学学报, 2004, 32 (1): 47-50.
- [10] 陈善娜, 高建莉. 百合子房的组织培养 [J]. 云南大学学报: 自然科学版, 1997, 19 (4): 374-375.
- [11] NHUT D T. Shoot induction and plant regeneration from receptacle tissues of *Lilium logiflorum* [J]. Sci Hort, 2001, 87: 131-138.

(责任编辑 裴润梅)