

东方百合组培快繁试验

樊兰瑛¹, 高宏樟², 郭常莲¹

(1. 山西省农业科学院农业资源综合考察研究所, 山西 太原 030006;

2. 山西省农业科学院现代农业研究中心, 山西 太原 030031)

摘要: 采用东方百合 Tiber 品种的多种外植体分别进行了组培试验, 结果表明, Tiber 百合各外植体形成愈伤组织的能力有差异, 其能力大小依次为: 小鳞茎 > 花托 > 鳞片 > 叶柄 > 叶片; Tiber 百合最佳诱导分化培养基为 MS + 2, 4-D 1.0 mg/L + 6-BA 0.5 mg/L, 继代最佳培养基为 MS + 6-BA 0.1 mg/L + NAA 0.1 mg/L, 生根培养基为 1/2 MS + NAA 0.5 mg/L。

关键词: 东方百合; 组培; 快繁

中图分类号: S644.103.8

文献标识码: A

文章编号: 1002-2481(2008)09-0029-04

Study on Cultivation Technique in Fast Propagation of Tissue Culture in Oriental Lily

FAN Lan-ying¹, GAO Hong-zhang², GUO Chang-lian¹

(1. Institute of Agricultural Resources Comprehensive Research, Shanxi Academy of Agricultural Sciences, Taiyuan 030031, China; 2. Research Center of Modern Agriculture, Shanxi Academy of Agricultural Sciences, Taiyuan 030031, China)

Abstract: Oriental lily of the test using a variety of species Tiber explant respectively conducted experiment group, the results showed that the Tiber Lily explant callus formation of the difference between the ability. Its ability to size followed by small bulb, the receptacle, scales, petiole, and leaf was minimum in differentiation explants. The best medium for induction and bud differentiation of oriental lily was MS with 2, 4-D 1.0 mg/L and 6-BA 0.5 mg/L. The best medium for proliferation was MS with 6-BA 0.1 mg/L and NAA 0.1 mg/L. 1/2 MS supplemented with NAA 0.5 mg/L was suitable for rooting.

Key words: Lilium oriental hybrid; Tissue culture; Rapid propagation

近几年, 我国百合切花市场消费量不断攀升, 生产面积逐年增长。据不完全统计, 目前全国的百合切花生产面积已达 2 000 多 hm^2 , 年生产百合切花 2 亿多支。百合切花的规模化生产, 拉动了百合种球的需求, 目前我国商品化生产用的东方百合种球主要依靠进口, 这已成为阻碍我国百合切花产业发展的最大瓶颈。为了降低成本, 实现种球国产化, 组培快繁是解决这一问题较好的方法。国内外有关百合组织培养的研究很多, 但同时用一个品种的多种外植体作组织培养还比较少见。本研究以 Tiber 品种的新鲜鳞

茎、花器官、花后鳞茎等为外植体, 探讨不同取材部位、不同生长调节剂对其芽诱导、芽增殖、生根情况的影响。

1 材料和方法

选取东方百合 Tiber 品种的鳞茎、叶片、花器官、花后鳞茎等为外植体, 将外植体剥离后用清水冲洗, 再用加入洗涤剂的水清洗 3 遍, 之后用流水冲洗 20 min, 过纯净水一遍, 用 75% 乙醇灭菌 30 s, 用无菌水冲洗两次, 再用 1% 的升汞灭菌 8 min, 之后用无菌水冲洗 5 ~ 6 次。灭菌期间要

• 收稿日期: 2008-06-14

项目来源: 山西省科技攻关项目(2006031034)

作者简介: 樊兰瑛(1954-), 女, 山西洪洞人, 副研究员, 主要从事农业技术研究工作。

不时震荡以保证灭菌彻底,且不伤害外植体。鳞茎切成 0.5 cm × 0.5 cm 的小块,在无菌台进行接种,每瓶 4 块,然后放进培养室进行培养,培养光照时间为 12 h/d,温度为 20 ~ 28℃。

以 MS 培养基为基本培养基,不同质量浓度的 6-BA(0.2, 0.5, 1.0 mg/L) 与 NAA(0.1 mg/L) 组合成 3 种培养基(表 1)用于鳞茎的诱导培养。不同质量浓度的 2,4-D(0.5, 1.0 mg/L) 与 6-BA(0, 0.5 mg/L) 组成 3 种培养基(表 2)用

于花器官的诱导培养。不同培养基对花后鳞茎的诱导比较见表 3。继代培养基为两种(表 4),生根培养基为 3 种(表 5)。培养基加入蔗糖 30 g/L,琼脂 6.5 g/L, pH 为 5.8;生根培养基加入蔗糖 20 g/L,琼脂 6.5 g/L, pH 为 5.8。

2 结果与分析

2.1 不同培养基对 Tiber 鳞茎、叶片及叶柄的诱导培养

表 1 不同培养基对鳞茎、叶片及叶柄的诱导结果

培养基	外植体类	接种数	产生愈伤组织数	愈伤组织诱导率(%)
①MS + (6-BA) _{0.2} + NAA _{0.1}	鳞茎	100	53	53
	叶片	50	6	12
	叶柄	50	12	24
②MS + (6-BA) _{0.5} + NAA _{0.1}	鳞茎	100	62	62
	叶片	50	11	22
	叶柄	50	14	28
③MS + (6-BA) _{1.0} + NAA _{0.1}	鳞茎	100	52	52
	叶片	50	12	24
	叶柄	50	18	36

由表 1 可知,以鳞茎为外植体的愈伤组织诱导率平均为 55.7%,以叶片为外植体的诱导率为 19.3%,以叶柄为外植体的诱导率为 29.3%。鳞片接种后约 20 d 便长出嫩绿色愈伤组织,大约 30 d 可看出丛生芽的雏形。以叶片和叶柄为外植体的长势较为缓慢,诱导时间比鳞片诱导时间多出约 50%,且愈伤组织较小。试验结果表明,以鳞茎为外植体,愈伤组织从数量和质量上均优于叶片和叶柄的诱导效果。对鳞茎而言,②号培养基效果最佳,诱导率达到 62%;对于叶片和叶柄,③号培养基均优于①和②号培养基,诱导率分别为 36% 和 24%。

2.2 不同培养基对花器官的诱导培养

表 2 不同培养基对花器官的诱导结果

培养基	外植体类	接种数	产生愈伤组织数	愈伤组织诱导率(%)
a. MS + (2,4-D) _{1.0}	1-花瓣	60	0	0
	2-花丝	60	0	0
	3-花托	60	32	53.3
b. MS + (2,4-D) _{1.0} + (6-BA) _{0.5}	1-花瓣	60	2	3.3
	2-花丝	60	0	0
	3-花托	60	57	95
c. MS + (2,4-D) _{0.5} + (6-BA) _{0.5}	1-花瓣	60	0	0
	2-花丝	60	0	0
	3-花托	60	52	86.7

开花时选用花器官的不同部位进行愈伤组织的诱导试验,取未开放的花蕾进行灭菌之后,分别用花瓣、花丝、花托进行培养。接种 40 d 后调查结果(表 2)如下:a-1, a-2 全部变白、发干、坏死,诱导率为 0。a-3 褐化 9 个,褐化率为 15%;诱导 32 个,诱导率为 53.3%,丛生芽颜色翠绿,生长正常且粗壮。b-1 诱导 2 个,其余均坏死,诱导率为 3.3%。b-2 诱导率为 0。b-3 诱导 57 个,诱导率为 95%,丛生芽颜色较浅,叶片卷曲,不直立,有玻璃化倾向。c-1, c-2 全部呈溃水状,发白干死,诱导率为 0。c-3 愈伤诱导 52 个,诱导率为 86.7%,丛生芽颜色绿色,长势较健壮。

有的植物愈伤组织生长极为旺盛,使外植体失去原有轮廓,之后芽就从新形成的愈伤组织分化出来。而百合与此有些不同,它的愈伤组织仅仅生长一点或几乎不生长,不定芽直接从外植体

表面受伤的或没有受伤的部位分化出来,因此我们一般观察到的即为丛生芽的生长状况。根据结果显示,a 培养基的最佳诱导率为 53.3%,说明对于初步诱导仅有生长素的效果不是最好,只

有生长素和细胞分裂素比例恰当才可以得到最佳效果。较高的2,4-D浓度促使b培养基诱导率较高,但容易造成丛生苗生长异常(卷曲、玻璃化)。因此,较好的组合是适当降低生长素2,4-D的浓度,c培养基的效果要好于a和b。对花瓣、花丝、花托三者的诱导比较表明,该试验中花瓣、花丝的诱导是不成功的,而花托的诱导率最高,这与文献中报道的其他百合品种上的研究结果一致^[1]。

2.3 花后鳞茎、鳞茎盘及长出的小鳞茎的诱导试验结果

从表3可以看出,新鳞茎明显好于成熟的老鳞茎,说明新生的鳞茎其生命力比较高,易于诱导分化。鳞茎盘由于结构致密,脱分化诱导方式较为困难,诱导率均较低。对于新鳞茎诱导培养,②号培养基诱导率明显优于①和③号,对新鳞茎来说,一个合适的生长调节素的浓度是至关重要的。对于鳞茎盘,③号培养基的诱导率最高,接近25%,较老的外植体选用高的生长调节素的浓度有助于细胞的脱分化。从3种外植体的整体诱导水平来看,新鳞茎均好于其余二者;培养基的选择上,②号培养基好于其余两种。

表3 不同培养基对花后鳞茎的诱导结果

培养基	外植体种类	接种数	产生愈伤组织数	愈伤组织诱导率(%)
①MS+(6-BA) _{0.5} +NAA _{0.1}	小鳞茎	50	40	80
	老鳞茎	50	25	50
	鳞茎盘	50	6	12
②MS+(6-BA) _{0.5} +NAA _{0.5}	小鳞茎	50	50	100
	老鳞茎	50	21	42
	鳞茎盘	50	9	18
③MS+(6-BA) _{0.5} +NAA _{1.0}	小鳞茎	50	45	90
	老鳞茎	50	20	40
	鳞茎盘	50	12	24

2.4 继代培养基的选择

从增殖系数和平均株高两点来看(表4),①号培养基好于②号。①号培养基中较低浓度的6-BA可以促进不定芽分化增多,长势旺盛,继

代培养中的较好选择为后者。此外,由于培养基中加入了生长素的缘故,有部分丛生芽长出少量根系。

表4 不同继代培养基的试验结果

培养基	接种数	增殖系数	平均株高(cm)
①MS+(6-BA) _{0.1} +NAA _{0.1}	50	1.85	4.25
②MS+(6-BA) _{0.5} +NAA _{0.1}	50	1.44	4.00

2.5 不同生根培养基的选择

对生长健壮的组培苗进行生根培养,培养基采用3种配方同时进行,以选取最优的生根培养

基。接种后10 d就可以看到组培苗下部出现白色突起,新生根系粗壮。至45 d根系长势良好,适于移栽。对不同配方的生根调查列于表5。

表5 不同培养基下的生根情况

生根培养基配方	平均生根率(%)	平均根数(条)	平均根长(cm)	根系生长状况
①1/2 MS+NAA ₀	85.0	4.59	1.45	一般
②1/2 MS+NAA _{0.1}	94.3	4.63	1.86	较好
③1/2 MS+NAA _{0.5}	97.3	4.86	1.91	良好

在生根培养基中,①号培养基的根系生长状况一般,根毛多,中等粗细,白中带点绿,有少量根系露在培养基表面,小鳞茎呈细长状态。②号培养基的根系生长较好,根系多,较粗,颜色为绿色,小鳞茎较为粗壮,露在培养基表面的根系较多。③号培养基根系生长良好,根系细长,颜色绿,小鳞茎大,鳞片略带紫色,根系基部绿色,根尖处白色,表明根系活力强。从平均生根率、生根数量、根系长度三方面来讲,③号培养基均优于①和②号培养基,说明组培苗在生根过程中,

加入一定量的生长素有利于根系的生长。

2.6 生根苗的驯化及温室培养

东方百合组培苗根系生长到2~3 cm时就可以转入基质培养。首先要进行炼苗,先打开培养瓶盖注入少量蒸馏水,放置3 d后就可以移栽。在移栽时要把根系冲洗干净,以防霉菌污染,影响根系生长。为了保持空气湿度,我们制作了小型的透光保湿箱以保证驯化苗的顺利过渡。在保湿箱中全封闭3 d即可打开一部分进行通风适应。在实验室共计培养7 d后移入遮

阴 70% 的温室, 30 d 后转为 50% 遮阴, 冬季 30 d 后可不用遮阴。

3 讨论

根据文献报道, 百合的许多器官和组织都可进行组织培养诱导成苗, 常用作外植体的主要有鳞片、叶片、茎尖、珠芽、花丝、花瓣等, 其中以鳞片最常见^[2-5]。Arzate 等以麝香百合 (*L. longiflorum*) 的花丝为外植体, 通过诱导愈伤组织再分化再生植株, 未发现遗传变异^[6]。Nhut 等用百合的花梗、花托、花瓣、花柱等外植体进行离体培养, 结果花托最易成活, 芽诱导率最高^[7]。

本试验采用百合的鳞片、叶片、叶柄、花器官、开花后的老鳞茎和新产生的小鳞茎为外植体分别作了多种诱导试验, 结果表明, 花托较易诱导出愈伤组织, 且诱导率较高。其中以 MS + 2, 4 - D 1.0 mg/L + 6 - BA 0.5 mg/L 形成的愈伤组织生长最好, 可形成淡黄绿色愈伤组织, 质地疏松。Tiber 东方百合各外植体形成愈伤组织的能力有差异, 其分化能力大小依次为: 小鳞茎 > 花托 > 鳞片 > 叶柄 > 叶片。在添加了 2, 4 - D 的培养基中, 花托部分外植体均可形成愈伤组织, 愈

伤组织诱导率达到 90%, 诱导效果明显。Tiber 百合生根较为容易, 采用 1/2 MS + NAA 0.5 mg/L 诱导生根, 生根率可达到 97.3%, 而且根粗壮, 根毛多, 侧根发达, 活力强。

参考文献:

- [1] 王 俐, 李权林. 百合的组织培养和快繁技术[J]. 云南农业大学学报, 1997, 19(4): 374 - 375.
- [2] 张延龙, 徐 炎, 王洁纯, 等. 东方百合叶片组织培养研究[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2004, 32(1): 47 - 50.
- [3] 赵祥云, 程 廉, 邢允美, 等. 百合珠芽组培及脱毒研究[J]. 园艺学报, 1993, 20(3): 284 - 288.
- [4] 徐品三, 栾雨时, 刘纪文, 等. 百合不定芽培养脱毒种球生产的研究[J]. 植物学通报, 2003, 20(3): 313 - 318.
- [5] 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, 39(5): 450 - 452.
- [6] ARZATE F A M, NAKAZAKI T, OKUMOTO Y, et al. Efficient callus induction and plant regeneration from filaments with anther in lily (*Lilium longiflorum* Thunb.) [J]. Plant Cell Rep, 1997, 16(12): 836 - 840.
- [7] NHUT D T. Shoot induction and plant regeneration from receptacle tissues of *Lilium longiflorum* [J]. Sci Hort, 2001, 87: 131 - 138.

欢迎订阅 2009 年《河南农业科学》

《河南农业科学》是河南省农业科学院主办的综合性农业科技期刊, 主要报道粮食作物、经济作物、土壤肥料、水资源高效利用、植物保护、果树蔬菜、畜牧兽医、特种种植及养殖等方面的研究成果和先进技术。多年来, 深受省内外农业科技人员、农业院校师生、基层干部和农民的喜悦, 曾多次得到有关部门的奖励, 连续被评为“全国中文核心期刊”、“全国优秀农业期刊”, 连续获“河南省优秀科技期刊一等奖”。2006 年被评为“中国科技核心期刊”、“中国农业核心期刊”。为了进一步扩大信息量, 满足多层次读者的需求, 本刊将进一步突出创新性、学术性、指导性; 进一步加大对重大、重点项目以及基金项目、创新性成果的报道力度。同时, 继续加强对科技新动态、生产新动向、市场新需求的报道。

本刊为月刊, 国际标准 16 开本, 120 页, 彩色封面, 每期定价 5.00 元, 全年 60.00 元。各地邮局均可订阅, 邮发代号: 36 - 32。如错过订期, 可直接与本刊编辑部联系订阅。

地址: 郑州市农业路 1 号 邮编: 450002

E - mail: hnnykx@163.com hnny@chinajournal.net.cn

电话: 0371 - 65739041 传真: 0371 - 65712747