

东方百合组织培养浅述

王清华

(青海省农林科学院, 青海 西宁 810016)

摘要:综述了东方百合的组织培养技术, 包括外植体来源、影响组织培养的因素和组培苗的生根和移栽。

关键词:东方百合; 组织培养; 激素; 生根

中图分类号: S682.2

文献标识码: A

文章编号: 1004-9967(2007)03-0039-02

Review on Tissue Culture of *Lilium orientale*

WANG Qing-hua

Abstract: The tissue culture techniques of *Lilium orientale* were reviewed including different explants, the factor influenced tissue culture and rooting and transplanting of tissue cultured shoots.

Key words: *Lilium orientale*; Tissue culture; Hormone; Root

东方百合是百合中最具有市场优势的切花品系, 它包括了天香百合、鹿子百合、日本百合衍生的品种以及它们与湖北百合的杂交种。开放的花朵为碗形花, 是百合中花朵最大的。东方百合花色丰富, 以红、粉红、白色为主, 花具有浓郁的芳香气味, 有很高的观赏价值, 近年来, 东方百合杂种的栽培面积越来越大, 在切花生产中占据重要地位, 传统的繁殖方式有分球、分珠芽、鳞片扦插等, 繁殖系数低, 速度慢, 特别是经过多代繁殖后, 常造成种性退化和病毒积累, 影响产量和质量, 目前, 国内主要通过进口种球进行繁殖, 为降低成本, 实现种球国产化, 进行组织培养十分必要。利用组织培养技术, 能够加快繁殖速度, 为工厂化生产提供了理论依据和技术保证。

1 外植体来源

东方百合的许多器官和组织都可组织培养诱导成苗, 可用于组织培养的外植体主要有鳞茎、茎尖、鳞片、花和叶片等, 其中以鳞片最常用。

赵庆芳等^[1]用元帅 (Acapulco) 盘茎剥分为鳞片, 将鳞片切分为上、中、下三部分, 7d 后红色鳞片开始变绿, 15d 后切口处出现球状突起, 45d 后形成小芽, 有的芽基部长出根系。鳞片产生芽的能力从强到弱顺序为下部—中部—上部, 下部诱导率为 85.15%, 中部为 63.15% 左右, 上部鳞片诱导几乎为 0。这是因为外部鳞片机械损伤程度高, 含菌量大, 接种后污染率高, 内部鳞片易形成

愈伤组织, 且获得的芽长势较弱, 中部 3~4 层完好的鳞片适宜进行初代培养, 唐东芹^[2]等也对不同部位鳞片分化能力进行进一步的研究。将东方百合的鳞片按外部、中部、内部分开, 分别切成上、中、下 3 段, 接种于同一培养基上进行比较, 4 周后定期检查鳞片分化情况结果显示, 外部鳞片和中部鳞片的分化能力明显大于内部鳞片, 同一个鳞片中上段的分化能力最差, 中段较好, 下段最强, 每块鳞片分化不定芽数也是上段最少, 下段最高, 说明与鳞茎盘相连的基部组织芽的分化能力最强, 是初代培养的最适外植体部位, 这与丁兰等^[3]的结果基本吻合, 据此, 研究者认为用东方百合的鳞片组培时以外部、中部的中下段为外植体较好。钱剑林^[4]用东方百合-Sorbonn 种球的外层鳞片作外植体, 30d 后初代培养出不定芽。

东方百合外植体的筛选中, 以鳞片作外植体的研究比较常见, 报道也较多, 而刘金郎等^[5]根据生殖器官中带病毒较少的原理, 用东方百合的生殖器官, 直接诱导产生鳞茎, 再从鳞茎诱导鳞片, 生根后的鳞茎经低温休眠后, 进行移栽和种球的培育, 选取东方百合的花枝, 以七成大的花蕾为材料, 将花蕾消毒后, 切取花蕾的子房、花柱、花丝和花托等分别接种在诱导培养基中进行初代培养。东方百合不同花器诱导鳞茎的效果差异很大, 花托的效果最佳, 接种 20d 后, 花托的体积开始增大, 并在上端产生少量绿色的愈伤组织, 50d 左右

上切面上开始分化出小鳞茎,鳞茎诱导率为88.6%,每个花托产生4.1个鳞茎,每个鳞茎产生4.6个鳞片,生根率为58.1%;其次是花丝,鳞茎诱导率为51.4%,每个花丝产生1.9个鳞茎;花柱和子房的诱导率比较低。不同生殖器官的诱导率经显著性分析差异极显著,诱导鳞茎能力的试验结果是花托>花丝>花柱>子房,与刘雅莉等以索邦的试验结果一致。

张延龙等^[6]用栽培的东方百合西西(Sissi)的幼叶为外植体,将叶片剪成0.5cm²方块,远轴面朝上平放于培养基上,叶柄剪成长约1cm的小段,同样置于培养基表面。对上述材料进行离体培养,先在20℃下暗培养2周,诱导愈伤组织的形成。然后将其置于散射光(500~1000lx)下培养,每天光照10h,培养温度为25℃左右。30d后,叶片、叶柄愈伤处分化出小鳞芽,在不同激素浓度配比下,诱导率最高的为22.2%,研究发现,西西(Sissi)叶片、叶柄不同部位的分化能力是不同的。叶片一般以中下部为宜,而形成的小鳞芽均在叶脉处,叶柄以基部为宜,且叶柄基部的分化能力较强,形成的小鳞芽较大。叶片和叶柄愈幼嫩,分化能力愈强。在西西叶片离体培养中,叶片诱导的小鳞芽数目少、鳞茎小、成苗速度快,而叶柄基部诱导的小鳞芽数目多、鳞茎较大,但成苗速度较慢。

2 影响组织培养的因素

表1

东方百合初诱导培养基配方

品种	培养基配方	外植体	发生形式
Sibera Tahita Acapulco	6-BA1.0 + NAA0.5 + 2,4-D 1.0	鳞片	愈伤组织
Sorbonne Siberia	NAA0.02 + KT0.05	鳞片	鳞茎
	NAA0.02 + 6-BA0.5	鳞片	鳞茎
Sissi	6-BA2.0 + NAA0.2	叶片	小鳞芽
Acapulco	BA0.3 + NAA0.5	鳞片	芽
	NAA0.05 + KT0.2	鳞片	芽
Sorbonne	2,4-D0.5-1.0 + BA1.5	花托	愈伤组织

2.2 低温处理对组培苗的影响

东方百合品种(Sorbonne),在生产上应用广泛,但繁殖系数低,种球具有休眠特性,将直径约1.2cm的试管种球放到25℃(对照)、10℃、5℃、-1℃和-5℃下进行处理,定期将一部分低温处理过的种球培养瓶打开放置1~2d,然后把种球取出并洗净培养基,测量种球直径后移栽到基质中,3个月后观察组培种球移栽后的生长情况,记录生长高度和生长势,结果表明,处理的温度逐渐降低,鳞茎大小增长也逐渐降低,尤其在温度<0℃,鳞茎就停止生长,因此该品种单从温度考虑

2.1 激素对百合组织培养的影响

在刘金郎以花为外植体诱导鳞茎的研究中,随着KT浓度的增加,鳞片的诱导率由100%下降到92%,每个鳞片分化的鳞茎数由4.5个下降到3.6个,每个新生鳞茎的鳞片数也由5.4下降到了3.6个,生根率由87.5%下降到80.5%,生根数由3.3条降到2.5条,而新生的真叶数由2.5增加到3.6枚。真叶的生长消耗许多营养,对鳞茎的分化和生长有不利的影响,所以高浓度的KT对东方百合鳞茎的分化有抑制作用。随着6-BA浓度的增加,鳞片的诱导率、每个鳞片分化的鳞茎数、每个新生鳞茎的鳞片数、生根率、生根数等指标都有所下降,结果表明6-BA对东方百合鳞茎的分化有不利的影响,而NAA在0.02-1.0mg·l⁻¹的浓度范围内,鳞片的诱导率为100%。

唐东芹等以6-BA和NAA为主设计试验,结果表明,6-BA与NAA配合使用能够诱导东方百合形成愈伤组织并分化出不定芽,但以较低浓度为佳,其浓度为1.0mg·l⁻¹时效果最好,适当使用2,4-D能提高诱导率和分化率,但应避免浓度过高,否则会杀死植物组织。

由于取材部位不同,品种的基因型的差异,对外源激素种类及其质量浓度的要求不一致,在以幼嫩叶片为外植体的研究中,无论是叶片和叶柄都是在6-BA较高的浓度下,诱导率也较高。表1列举了不同外植体所采用的不同培养基配方。

最佳保存温度为-1℃,但实际操作中可以选择5℃,适当进行继代,可以一直保存下去。从栽培后鳞茎的情况看,低温处理对组培苗的生长有十分重要的影响,最适是8周5℃的处理,发芽整齐,生长势强,12周10℃次之,而其他温度都不利于组培苗的生长。

索邦试管鳞茎随着低温锻炼时间的延长,移栽的成活率提高,花茎的高度增加,叶片数增加,鳞茎的直径增加,这个结果与钱剑林等结果一致,而与刘雅莉、赵庆芳等的试验结果不一致;这可能

(下转第51页)

hm⁻², 需 N: 70kg·hm⁻²、P₂O₅: 35kg·hm⁻²、K₂O: 105kg·hm⁻²、Mn: 1.9kg·hm⁻²。按专家要求进行合理施肥, 土壤肥力中等的地块播前施有机肥 30m³·hm⁻², 施尿素 5.0kg·hm⁻², 磷酸二铵 7.0 kg·hm⁻², 一生只追一次肥, 拔节前结合浇头水追施尿素 4.0kg·hm⁻², 由于青海土壤富含钾肥, 一般不施钾肥, 可在抽穗期喷施磷酸二氢钾 2~3 次即可。燕麦相对其他作物来说是抗旱作物, 但对水分也有一定的需求, 可灌溉地区在苗期、拔节期、抽穗期、灌浆期浇水四次可满足燕麦一生生长对水分的需求并能发挥燕麦最大生产潜能。

2.4 加强田管, 适时收获

2.4.1 防止倒伏: 苗期观察如果出苗好、苗太密可采取以下措施防止倒伏(1)控制苗水: 晚浇或者不浇苗水可有效抑制燕麦分蘖, 降低密度;(2)喷施矮壮素和乙烯利, 即可使燕麦茎秆变粗壮又可使燕麦分蘖生长发育整齐一致, 增加抗倒伏性。

2.4.2 中耕除草: 出苗后第 15d、第 45d 耕除草二

次。

2.4.3 防病防虫: 燕麦灌浆期易发生黑穗病和蚜虫危害, 播前用甲基托布津浸种可有效防止黑穗病的发生, 抽穗后用蚜克霜喷施 1 至 2 次可有效防治蚜虫。

2.4.4 适时收获: 全田穗部全部变黄, 茎秆黄绿色时收获。当利用茎秆做饲料时, 捆子不易捆的太大, 直径 20cm 为宜, 因为燕麦收获季节是青海雨水较多的季节, 捆子太大, 短时间内不易干透, 不能及时脱粒引起内部子粒和草发芽发霉, 会影响子粒和饲草的品质, 收获后及时摊晒、晾干子粒。

参考文献:

- [1] 包成兰, 张世财. 两个高产燕麦品种引种试验[J]. 青海草业, 2003, 35(3): 43—51.
- [2] 薛艳庆, 等. 应用新技术捆裹青贮燕麦草的品质评定[J]. 青海草业, 2001, 33(1): 8—10.
- [3] 王显萍, 等. 青海省裸燕麦高产栽培技术[J]. 作物杂志, 2005, 225(2): 51.

(上接第 40 页)

是因为索邦需要进行低温休眠, 试管繁殖的鳞茎经低温休眠后才能转入正常生长。

接种前通过低温处理有利于提高鳞片与根的分化率, 这可能与百合在生长过程中有休眠现象有关, 通过低温预处理可打破休眠, 提高诱导率, 黄惠英^[7]以 1a 生基生根为外植体, 在 4℃ 冰箱内储藏 20d 后接种, 与对照相比, 经低温处理后的供试材料小鳞芽诱导数均有所增加, 在同种诱导培养基上低温诱导数平均达 6.35, 而室温条件下的为 5.0, 高出 27%, 因此低温对小鳞芽分化具有显著的促进作用。

3 生根培养和移栽

试管苗长到 2—3cm 时, 转入生根培养, 一般以 1/2MS 为基本培养基, 低浓度的生长素对试管苗生根有促进作用, 20d 左右即可生根。以叶片为外植体的生根培养中, 加入低浓度的 IBA, 再生植株的生根率为 100%, 平均每株生根 4—5 条, 根系粗壮, 伴随根系的生长, 再生植株的鳞茎也明显膨大, 如加入低浓度的 NAA, 根系生长缓慢, 根系数量少, 小鳞茎下部易形成愈伤组织。而在以鳞片为外植体的生根培养中, 加入 0.10mgL⁻¹ NAA 的培养基, 生根质量最好, 根粗壮, 根毛多, 侧根发达。

表 2

生根培养基配方

品种	培养基配方	外植体	生根率(%)	根数
Sibera Tahita Acapulco	MS + NAA0.2	鳞片	92.5	9.2
Sorbonne Siberia	MS + NAA0.2 + KT0.05	鳞片	100	3.4
Sissi	1/2MS + IAA0.3	叶片	100	4-5
Acapulco	1/2MS + NAA0.05-0.10	鳞片	100	11
Sorbonne	1/2MS + NAA0.2	花托	100	

待根长到 1—2cm 时, 开瓶炼苗后, 移入疏松、通透、消毒过的基质中, 保持 75% 的湿度, 50% 自然光照, 每日喷 2 次水, 20d 左右喷 1 次稀释 MS 营养液, 成活后转入常规栽植。

参考文献:

- [1] 赵庆芳, 曾小英, 丁兰, 等. 东方百合组织培养和快速繁殖研究[J]. 西北师范大学学报, 2003, 39(1): 66—68.
- [2] 唐东芹, 黄丹枫, 黄克轩, 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.
- [3] 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.
- [4] 钱剑林, 朱旭东, 田松青, 等. 东方百合“Sorbonne”试管成球和低温处理的初步探讨[J]. 植物生理学通讯, 2003, 40(2): 486.
- [5] 刘金郎, 张占军, 李登绚. 东方百合生殖器官诱导鳞茎的繁殖技术研究[J]. 中国种业, 2006, (80): 27—28.

- [6] 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, 2004, 32(1): 47—50.
- [7] 黄惠英. 东方百合的离体培养[J]. 甘肃农业大学学报, 2000, 35(4): 450—453.
- [8] 罗丽萍, 杨柏云, 蔡奇英, 等. 龙牙百合的组织培养[J]. 植物生理学通讯, 2001, 37(6): 527.
- [9] 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, 2001, 27(4): 353—358.
- [10] 刘选明, 周朴华, 屈殊存, 等. 百合鳞片离体诱导不定芽和体细胞胚[J]. 园艺学报, 1997, 24(4): 353—358.
- [11] 马惠, 郭扶兴, 周俊彦, 等. 百合叶片愈伤组织的诱导和植株再生[J]. 植物生理学通讯, 1992, 28(4): 284.
- [12] 袁芳亭, 陈龙清. 麝香百合的叶片离体培养和植株再生[J]. 湖北农业科学, 2001(3): 50—51.
- [13] 谭文澄, 戴策刚. 观赏植物的组织培养技术[M]. 北京: 中国林业出版社, 1991. 290—297.