

# 东方百合鳞片结合叶片切段培养快繁技术

李宏宇<sup>1,2</sup>, 马鸿翔<sup>2</sup>, 雷家军<sup>1</sup>, 余桂红<sup>2</sup>, 周建涛<sup>2</sup>

(1. 沈阳农业大学园艺学院, 辽宁沈阳 110161; 2. 江苏省农业科学院, 江苏南京 210014)

**摘要:**以东方百合西伯利亚品种为材料,在试验基础上形成了鳞片切块—不定芽分化—叶片切段—分化丛芽—壮苗—生根培养—移栽小植株的东方百合快繁技术。适宜的鳞片分化培养基为 MS + 1 mg/L BA + 0.5 mg/L NAA + 0.05 mg/L GA<sub>3</sub>,适宜的叶片切段分化培养基为 MS + 1 mg/L BA + 1 mg/L NAA,适宜的壮苗培养基为 MS + 1 mg/L BA + 0.5 mg/L NAA + 0.1 mg/L GA<sub>3</sub>,适宜的生根培养基为 MS + 0.75 mg/L NAA。鳞片培养时以外部或中部鳞片的中下部切块较好,叶片切段培养以叶片中下部切取 1.5 ~ 3 cm 长度的叶段为宜,鳞片或叶片接种时近轴面向上放置优于远轴面向上放置。

**关键词:**东方百合; 组织培养; 快速繁殖

**中图分类号:** S682.2<sup>+</sup>90.4<sup>+</sup>3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1002-1302(2006)03-0091-03

百合(*Lilium* sp)是世界上栽培广泛且在花卉市场上十分畅销的重要花卉之一,用于切花、盆花或庭院栽培的百合生产通常都采用鳞茎进行无性繁殖以保持品种的遗传稳定性<sup>[1]</sup>。由于鳞茎繁殖系数较低,而且长期的鳞茎繁殖会使百合病毒由母球通过微管束传入子球而导致病毒病在后代植株中积累,严重影响植株的生长发育,从而降低了百合的产量和观赏价值。

根据 RHS 的分类标准,世界百合杂交种分为 8 个品系,我国栽培的主要有亚洲百合杂种系(Asiatic Hybrids)、东方百合杂种系(Oriental Hybrids)和麝香百合杂种系(Longiflorum Hybrids)的一些品种<sup>[2]</sup>。东方百合花色艳丽,色彩丰富,而且具有独特清香,因而备受消费者青睐,在近年来的切花百合生产中占有越来越大的比重,但目前多通过进口种球来繁殖。为了降低种苗生产成本,提高种苗质量,以组织培养技术建立东方百合快速繁殖体系很有必要。因此,我们以东方百合的西伯利亚品种为材料研究了鳞片培养和无菌苗切段培养成苗的各环节,探讨了影响其再生成苗的多种因素,试图建立较可靠稳定的东方百合组织培养快速繁殖体系。

## 1 材料与方法

试材来源于沈阳花卉公司从国外进口的百合种球,供试品种为东方百合杂交种西伯利亚。

选用秋季采收的百合种球,于 4 ℃ 下处理一个月打破休眠。剥离种球鳞片,流水冲洗 4 h,再用 0.1% 升汞消毒 10 min,无菌蒸馏水冲洗后,接种于 MS 培养基。培养 4 d 后,将鳞片切成 1 cm<sup>2</sup> 的正方形小块,接种于芽诱导培养基上。

基本培养基为 MS 培养基,附加不同浓度的激素。琼脂 6.25 g/L,蔗糖 30 g/L,pH 值 5.8,高压蒸汽灭菌。培养条件为室温(25 ± 2) ℃,光照 16 h/d,光照强度 1 200 lx。

## 2 结果与分析

### 2.1 鳞片接种污染的问题

由于百合鳞片生长在土中,容易受到病原菌的侵染,特别是外部鳞片接种于培养基后污染率很高,因此鳞片的灭菌是以百合鳞片为外植体离体培养的难点之一。前人研究采用了不同步骤的鳞片消毒方式,尽管所用浓度有一定差异,但所用消毒剂仍以酒精、次氯酸钠和升汞为主<sup>[1,3-4]</sup>。我们在试验中设计了不同浓度的酒精、次氯酸钠和升汞组合,试图获得最佳的鳞片消毒效果。结果表明,如果提高处理浓度和时间,鳞片分化率会明显降低,在保证鳞片未明显褐变的情况下不同处理消毒的效果相近,污染率在 60% ~ 80% 之间,仅通过药剂消毒处理难以降

收稿日期:2005-10-24

基金项目:江苏省科技攻关项目(编号:BE2003341)。

作者简介:李宏宇(1981—),女,在读硕士研究生,从事观赏植物组织培养和转基因研究。Tel:(025)84390293;E-mail:cilia54007@yahoo.com.cn。通讯作者:马鸿翔,E-mail:mahx@jaas.ac.cn。

低鳞片接种后的污染,这可能与我们的鳞片污染程度高于他人研究所用的鳞片有关。因此在试验中尝试采用二步培养法,先将剥离鳞片以流水冲洗4 h,再用0.1%升汞消毒10 min,无菌蒸馏水冲洗后,接种于MS培养基上。视鳞片接种后的污染情况,4 d后挑取没有污染的鳞片切成小块,放入不定芽诱导培养基,这样可保证再次接种的鳞片无污染。

## 2.2 鳞片诱导分化的影响因素

百合组织培养繁殖体系的建立主要包括两个途径,一是通过鳞片分化芽,经壮苗生根直接成苗;二是以鳞片分化芽为基础,经不定芽增殖进行扩大繁殖再生成苗<sup>[5]</sup>。无论是利用鳞片分化直接成苗还是经不定芽增殖再生成苗,鳞片诱导分化都是百合组织培养的第一步。试验中着重研究了外植体的取材部位、放置方式和培养基中激素配比及浓度对鳞片诱导分化的影响。

### 2.2.1 接种的取材部位和放置方式对不定芽分化的影响

首先将西伯利亚百合按外、中、内层鳞片分别切块,接种于含有1 mg/L BA + 0.5 mg/L NAA的MS培养基上,结果表明外层鳞片、中层鳞片的芽再生率分别为内层鳞片的4.2倍和3.8倍。然后以中层和内层鳞片(外部鳞片由于较易污染,故未取)按鳞片的上、中、下部分别切块,接种于同一成分培养基上,发现下段鳞片切块和中段鳞片切块的芽分化率分别为上段切块的14.5倍和5倍(表1),张君等<sup>[6]</sup>在麝香百合的组织培养中也得出了类似结论。因此,在东方百合鳞片切块培养时,应以外部、中部鳞片的中下段为外植体较好。

表1 鳞片切块取材部位及放置方式对不定芽分化的影响

项目	处理 部位或方式	接种数目 (个)	分化不定芽 块数(个)	分化率 (%)
接种切块部位	内层鳞片	54	10	18.5
	中层鳞片	48	34	70.8
	外层鳞片	48	37	77.1
	上部鳞片	42	2	4.76
	中部鳞片	42	10	23.8
	下部鳞片	42	29	69.1
切块放置方式	近轴面向上	54	42	77.8
	远轴面向上	54	34	63.0

受植物器官极性的影响,鳞片切块在培养基上的放置方式对分化也有一定影响。以外部、中部鳞片下中下段切块接近轴面向上和远轴面向上方式分别接种,结果近轴面向上放置不仅分化率较高,每片鳞

片分化的不定芽也较多,萌动较快,幼苗健壮;而远轴面向上放置的,再生的不定芽较少且细弱(表1)。

### 2.2.2 培养基中激素成分对鳞片再生不定芽的影响

培养基中激素成分是植物组织培养的关键,表2为不同激素浓度对比对鳞片切块再生不定芽的影响。一般认为BA和NAA的组合最适于百合鳞片再生芽<sup>[7]</sup>。本试验表明,IAA对百合鳞片离体再生也具同样效果,而以2,4-D代替NAA则效果不佳。在试验中西伯利亚百合鳞片诱导不定芽的最佳培养基为1 mg/L BA + 0.5 mg/L NAA + 0.05 mg/L GA<sub>3</sub>。此培养基不仅提高了不定芽的再生率,而且较仅使用BA + NAA时更能促进幼苗生长。

表2 不同激素浓度组合对东方百合鳞片再生的影响

激素组合	接种数目 (个)	分化不定芽 的块数(个)	分化率 (%)
1 mg/L BA + 0.5 mg/L NAA	54	33	61
2 mg/L BA + 0.5 mg/L NAA	54	29	54
1 mg/L BA + 0.5 mg/L IAA	48	29	60
1 mg/L BA + 0.5 mg/L 2,4-D	54	18	33
1 mg/L BA + 0.5 mg/L NAA + 0.05 mg/L GA <sub>3</sub>	54	38	70

## 2.3 鳞片诱导不定芽后的增殖快繁

鳞片诱导不定芽分化后的增殖快繁,通常的程序是自诱导出的芽丛上切取部分丛生苗接种进行扩大繁殖。所用外植体实质为带有2~3张叶片的无根小植株<sup>[3,8-9]</sup>,这样的外植体接种于适合的培养基后可在其基部形成丛生小芽,再将小芽切下接种于生根培养基上培养成苗。因为用于扩大繁殖的每个外植体包含2~3张小叶片,为了充分利用接种材料,我们尝试用叶片切段作为扩大繁殖的外植体,以增加可利用的增殖快繁外植体数量,从而进一步提高繁殖系数。

### 2.3.1 无菌苗切段部位、大小和放置方式对再生不定芽的影响

与鳞片切块培养一样,东方百合叶片切段培养时切段大小、部位和放置方式对不定芽的分化有明显影响(表3)。百合鳞片分化出不定芽再生的叶片宽度在扩大繁殖时仅0.3~0.5 cm,切取叶段只能在叶片上横切,叶两侧未造成创伤。取40 d苗龄的百合无菌苗叶片为外植体,将不同长度叶片切段接种于含1 mg/L BA + 1 mg/L NAA的MS培养基上,结果以1.5~3 cm长的叶段不定芽再生率最高,叶段大于3 cm或小于1.5 cm的不定芽再生率都有所降低。将叶片按上中下3个部位分别切取

1.5~3 cm 长度的叶片切段接种于同样的培养基上,结果表明,叶片基部切段不定芽再生率最高,由下向上叶片切段的不定芽再生率逐渐降低。叶片切段培养还与叶段在培养基上的放置方式有关,以1.5~3 cm 叶片中部和基部切段接近轴面和远轴面向上2种方式接种于相同的培养基上,结果近轴面向上放置的不定芽再生率为远轴面向上的1.7倍。

表3 叶段的大小、部位和放置方式对东方百合再生不定芽的影响

处 理	接种数目 (个)	分化不定 芽块数 (个)	分化率 (%)
叶片切段大小	>3 cm	59	64.4
	1.5~3 cm	46	71.7
	<1.5 cm	55	32.7
切段在叶片上部位	上部切段	32	34.4
	中部切段	36	66.7
	基部切段	32	93.8
叶片切段放置方式	近轴面向上	36	83.3
	远轴面向上	42	50.0

2.3.2 培养基中激素成分对叶片切段再生不定芽的影响 以叶段为外植体,不定芽分化率及分化不定芽数目与培养基中激素浓度及配比有关,表4列

出了激素浓度及对比对西伯利亚百合叶片切段离体再生的影响。从叶片切段不定芽分化率看,2 mg/L BA + 1 mg/L ZT 可获得 100% 分化率,所接种叶段均可分化出不定芽,但其分化不定芽的数目并不高,这对于以提高繁殖系数为目的的扩大繁殖并不可取。以可分化出不定芽的叶段计算分化芽数目,则以 2 mg/L BA + 0.5 mg/L NAA 最高,每一分化叶段可分化出 8.58 个芽,但其分化出芽的叶段仅占接种叶段的 23.08%,75% 以上的叶段未分化出不定芽。从接种叶段平均分化芽数目看,以 1 mg/L BA + 1 mg/L NAA 最高。单一叶段的不定芽分化数目与芽再生成苗的质量成反相关,单一叶段分化芽数目过多,会在叶段的基部形成一个球形的芽丛,上面密密麻麻地布满小芽,但是这样的芽难以育成健壮小植株。从获得较高的繁殖系数及较好的苗质量考虑,叶片切段为外植体的不定芽分化再生培养基中激素浓度配比以 1 mg/L BA + 1 mg/L NAA 为宜,此时分化出芽的叶段比例最高,近 53%,单一叶段平均产生不定芽数目为 5~6 个,且可获得质量较好的再生小苗。

表4 不同激素浓度组合对西伯利亚小叶再生的影响

激素组合	接种叶段 (个)	分化叶段 (个)	分化率 (%)	出芽数目 (个)	平均每分化叶段 再生芽数(个)	平均每接种叶段 再生芽数(个)
0.5 mg/L BA + 0.2 mg/L NAA	65	12	18.46	52	4.33	0.8
0.5 mg/L BA + 0.5 mg/L NAA	65	19	29.23	61	3.21	0.94
0.5 mg/L BA + 1.0 mg/L NAA	67	22	32.84	57	2.59	0.85
0.5 mg/L BA + 2.0 mg/L NAA	52	21	40.38	82	3.90	1.58
1.0 mg/L BA + 0.2 mg/L NAA	68	22	32.35	97	4.41	1.43
1.0 mg/L BA + 0.5 mg/L NAA	18	3	16.67	13	4.33	0.72
1.0 mg/L BA + 1.0 mg/L NAA	68	36	52.94	214	5.94	3.14
1.0 mg/L BA + 2.0 mg/L NAA	65	17	26.15	81	4.76	1.24
2.0 mg/L BA + 0.2 mg/L NAA	39	5	12.82	29	5.80	0.74
2.0 mg/L BA + 0.5 mg/L NAA	52	12	23.08	103	8.58	1.98
2.0 mg/L BA + 1.0 mg/L NAA	39	10	25.64	41	4.10	1.05
2.0 mg/L BA + 2.0 mg/L NAA	57	12	21.05	47	3.92	0.82
2.0 mg/L BA + 0.5 mg/L ZT	54	52	96.30	60	1.15	1.11
2.0 mg/L BA + 1.0 mg/L ZT	53	53	100	56	1.06	1.06

#### 2.4 壮苗扩繁及生根移栽

将增殖的不定芽分割成单株,接种于含 1 mg/L BA + 0.5 mg/L NAA + 0.1 mg/L GA<sub>3</sub> 的 MS 培养基中,30 d 后,可见幼苗明显增壮,同时基部可以还再生出 2~6 个小植株。选用经壮苗培养后的无菌苗,转入含 0.75 mg/L NAA 的 MS 培养基生根。9 d 后开始出现根生长点,叶片也随之伸长、展开,25 d 后可形成主根粗壮、侧根发达且根毛较多的根系,此时可进行炼苗移栽。移栽时先在室温下开瓶炼苗 2 d,

将幼苗取出用水冲洗,移栽到经消毒的细河沙中或配有珍珠岩的腐殖土中培养。培养床用塑料覆盖,相对湿度保持在 75% 左右,1 周内日出后至日落前遮阳,每天喷水 2 次,20 d 后即可移至苗圃进行常规栽培,成活率可达 90% 以上。

#### 3 结论

试验以鳞片初代培养结合叶片切段扩大繁殖,

(下转第 94 页)

# 彩色马蹄莲试管块茎诱导研究

彭 峰<sup>1</sup>, 陈嫣嫣<sup>2</sup>, 郝日明<sup>2</sup>, 夏 冰<sup>1</sup>

(1. 江苏省中国科学院植物研究所, 江苏南京 210014; 2. 南京农业大学园艺学院, 江苏南京 210095)

**摘要:** 进行了不同培养条件及植物生长调节剂等因子对彩色马蹄莲组培苗试管块茎诱导影响的试验。结果表明, 在培养基中蔗糖浓度达到 50 g/L、光照 16 h/d 的条件下, 彩色马蹄莲试管块茎诱导效果最好; 在此基础上, 研究不同植物生长调节剂对诱导的影响, 发现 BA 能 100% 诱导块茎, 且块茎的平均直径和鲜重大于对照, 其中以添加 3 mg/L 的 BA 表现最好。同时, 试验也表明, 并非所有植物生长调节剂都能诱导彩色马蹄莲块茎的膨大, 相对于对照, SA 和 PP<sub>333</sub> 处理反而抑制了彩色马蹄莲块茎的诱导。

**关键词:** 彩色马蹄莲; 块茎; 诱导

**中图分类号:** S682.2\*64.036 **文献标识码:** A **文章编号:** 1002-1302(2006)03-0094-03

彩色马蹄莲 (*Zantedeschia hybrida*) 是天南星科马蹄莲属的球根花卉, 近年来已成为世界性新兴而富有发展潜力的球根花卉品种。彩色马蹄莲色彩艳丽, 形态高雅, 不仅是切花中的佼佼者, 盆栽栽培也广泛受到人们的喜爱, 具有很大的开发价值<sup>[1]</sup>。

彩色马蹄莲以块茎作为繁殖休眠器官。与组培

苗相比, 试管块茎在商品化生产中有易于运输、栽培管理容易等特点, 块茎诱导是完善彩色马蹄莲快繁商品化生产体系的最有效途径。本试验研究彩色马蹄莲组培苗离体块茎诱导的影响因子, 找出诱导块茎的有效方法, 提高炼苗成苗率。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

以彩色马蹄莲品种 Parfait 无菌苗为试验材料。选取在生根培养基上生长 25 d 左右, 整齐一致, 株高 5~7 cm, 具良好根系的健壮试管苗进行试验。

收稿日期: 2005-11-03

基金项目: 江苏省农业三项工程项目(编号: BE9343); 南京市科技项目(编号: 05SB210091)。

作者简介: 彭 峰(1957—), 男, 江苏无锡人, 硕士, 副研究员, 主要从事观赏植物和植物资源开发利用研究。Tel: (025) 84347055;

E-mail: pfengy@public1.ptt.js.cn.

(上接第 93 页)

经壮苗生根移栽成苗, 初步建立了有别于仅以鳞片初代培养和不定芽扩大繁殖途径的东方百合快繁技术体系, 有效地提高了东方百合的繁殖系数。试验中, 鳞片培养诱导不定芽为 40~70 d, 分化高峰在 45 d, 叶片诱导不定芽和丛生芽增殖需要 20~30 d, 壮苗和生根约需 50 d。采用这一快繁技术体系, 平均每叶段可以分化成苗 7~9 株, 这样, 从鳞片初代培养开始, 半年时间内, 可以继代 4 次, 每个鳞片切块可以分化约 500 株苗。实际上, 从叶段再生的不定芽切取无根植株壮苗时, 每个切取的单株还可得到平均 4~5 株的分化苗。

### 参考文献:

[1] 钱琼秋, 李彩琴, 朱祝军. 两个百合品种组织培养的比较研究

[J]. 浙江农业学报, 2004, 16(4): 198-201.

[2] 王 俐, 李枝林, 赵 燕. 百合的组织培养及快繁技术[J]. 南京农业大学学报, 2001, 16(4): 304-307.

[3] 王永江, 张振臣, 张丽芳, 等. 百合组培快繁技术研究[J]. 河南农业科学, 2004(5): 55-58.

[4] 张施君, 王凤兰, 周厚高, 等. 火百合的组织培养及快速繁殖[J]. 江苏农业科学, 2004(4): 72-73.

[5] 丁 兰, 赵庆芳, 谢 晖. 泰伯百合的离体快繁[J]. 西北师范大学学报, 2003, 39(3): 65-67.

[6] 张 君, 武丽敏, 王 雷, 等. 麝香百合组培快繁技术初步研究[J]. 吉林农业大学学报, 2002, 24(1): 53-54.

[7] 王家福, 陈振光. 百合快速繁殖条件的优化[J]. 福建农业大学学报, 1999, 28(2): 152.

[8] 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.

[9] 罗丽萍, 杨柏云, 蔡奇英, 等. 龙牙百合热处理及茎尖培养技术研究[J]. 江苏农业科学, 2005(1): 72-73, 104.