

文章编号: 1000-5471(2008)01-0058-04

大理百合的离体快繁研究

徐洪星, 秦 华, 眭顺照, 皮 伟, 李名扬, 李先源

西南大学 园艺园林学院花卉研究所, 重庆 400716

摘要: 以大理百合的鳞片为外植体进行离体培养, 获得再生植株, 并初步建立起快速繁殖体系。结果表明: 大理百合鳞片适宜诱导芽和愈伤组织的培养基 $MS+0.5\text{ mg/L BA}+0.1\sim0.5\text{ mg/L NAA}+3\%$ 蔗糖; 增殖培养基为 $MS+0.5\text{ mg/L BA}+0.05\sim0.1\text{ mg/L NAA}+4.5\%$ 蔗糖; 生根结鳞茎培养基为 $1/4MS+0.01\text{ mg/L NAA}+6\%$ 蔗糖+10 mg/L CCC。

关键词: 大理百合; 鳞茎; 离体快繁

中图分类号: Q949.71+8.23

文献标识码: A

大理百合(*Lilium taliense* Franch.)为百合科百合属多年生草本植物, 其花下垂, 花被反卷, 色白而具紫色斑点, 极富观赏价值。主要产于湖北、四川、重庆、贵州、云南海拔2 600~3 600 m的山坡草地和林中^[1]。有关大理百合的研究很少, 据文献资料显示, 仅作过种球含糖量的研究^[2]; 云南昆明植物研究所也仅对大理百合做过种质资源收集与保存^[3]。由于大理百合主要生长在西南地区的高山, 自然条件下繁殖较慢, 加之人为破坏和干扰, 使大理百合野生资源非常稀少。因此开展大理百合的组织培养和种球快繁的研究, 不仅有利于种质资源的保存和开发利用, 也为后期的育种工作提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 材 料

以采自重庆南川金佛山的大理百合的鳞茎为供试材料。

1.2 方 法

取大理百合健壮、无病虫害的鳞片, 用洗衣粉洗去表面泥土和污渍, 在自来水下流水冲洗2~3 h, 然后在超净工作台上用75%的酒精消毒30 s左右, 再投入0.1%的升汞溶液中浸泡10~15 min, 后无菌水冲洗4~6次, 取出切成0.5 cm²小块, 接种在不同的培养基上。

1.3 培养条件

以MS为基本培养基, 附加不同浓度和配比的激素BA和NAA组合。各培养基中分别加入蔗糖浓度为3%~6%, 用6.3~7.0 g/L的琼脂固化, 调pH值接近5.8, 培养温度(25±2)℃, 每天光照10~12 h, 光照强度1 500~2 000 lx。

收稿日期: 2007-09-07

基金项目: 重庆市自然科学基金项目(2005BB1129); 重庆市教委项目(KJ050209); “十一五”国家科技基础条件平台建设专项; 教学标本标准化整理、整合及共享试点项目(2005DKA21403)。

作者简介: 徐洪星(1981-), 女, 河南南阳人, 硕士研究生, 主要从事花卉生物技术与遗传育种。

通讯作者: 李先源, 副教授。

2 结果与分析

2.1 初代诱导分化

将经过消毒灭菌的鳞片切成上、下两段, 接种在不定芽诱导培养基上, 培养 7 d 后发现, 小鳞片由乳白色变为绿色, 约 20 d 左右有浅黄色胚状突起产生, 一个月后观察发现, 只有鳞片基部有分化, 鳞片上部全部无芽分化发生, 且由绿变褐, 慢慢死亡。

2.1.1 不同部位鳞片对芽分化的影响

将大理百合鳞茎上不同部位的鳞片分别接种在芽分化培养基上, 结果见表 1。

表 1 不同部位的鳞叶对芽分化的影响

取材部位	接种数/块	污染数/块	出芽外植体数/块	芽诱导率/%
外	40	8	15	47
中	40	6	8	24
内	40	3	1	0

从表 1 可以看出, 不同位置的鳞片作外植体, 芽的分化率有明显差异, 外层鳞片分化能力最强, 其次为中层, 内层鳞片几乎不分化。由此可见, 外层鳞片为最适培养外植体, 但是要注意污染问题。

2.1.2 不同激素浓度对芽分化的影响

各种不同激素浓度和配比的培养基, 诱导出芽情况也有明显差异: 培养基 No. 4^[4] 分化生长情况最好, 芽平均增殖 4 个, 分化出的芽数最多可达 7 个; 其次为培养基 No. 5 和 No. 6, 生长也较好, 分化芽数仅次于 No. 4, 芽苗长势粗壮, 颜色鲜绿; 培养基 No. 1, No. 2, No. 3 也有分化, 但是诱导率偏低, 芽苗长势较弱, 培养基 No. 7, No. 8, No. 9^[3-5] 在 BA 浓度增加至 2.0 mg/L 分化出的全部是玻璃化苗。可见 BA 浓度 0.5 mg/L, NAA 0.5 mg/L 和 0.1 mg/L 是大理百合芽诱导分化较好的激素组合(表 2)。

表 2 不同激素浓度对芽分化影响

培养基编号	激素浓度/ $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$		芽诱导率/%	芽数/外植体 /个芽·株 ⁻¹	芽苗状况
	BA	NAA			
1	1.0	0.1	23	1.1	较细
2	1.0	0.2	20	1.0	较细
3	1.0	0.5	26	2.0	细弱
4	0.5	0.5	60	4.2	粗壮
5	0.5	0.1	47	3.5	粗壮
6	0.5	0.2	33	1.5	粗壮
7	2.0	0.5	5	0	玻璃化
8	2.0	0.2	5	2.1	玻璃化
9	2.0	0.1	3	3.5	玻璃化

注: 基本培养基为 MS, 蔗糖 3%。

2.2 芽扩大增殖

初代分化培养 60 d 左右, 待芽长到 3~4 cm, 将丛芽切成单芽接种在增殖培养基上, 增殖培养基选用表 2 中的 No. 1~6 培养基中的激素组合, 加蔗糖 4.5%。结果发现 No. 5 加 4.5% 蔗糖效果最好, 15 d 左右芽体开始萌动, 40 d 左右由基部长出丛生苗, 且丛生苗生长旺盛粗壮, 平均每个芽可增殖 3~5 棵无根小苗。接种在 No. 1~3 培养基上的芽, 发现有部分玻璃化, 苗长势较弱, 不适宜作为继代增殖培养基。

2.3 生根结鳞茎培养

将长势粗壮的丛生苗分成单株接种在生根培养基上进行生根培养。生根培养基选择以下 8 种培养方法, 15 d 后观察, 结果见表 3。

表 3 不同培养基对生根结鳞茎的影响

培养基编号	培养基成分	叶长势	鳞茎长势	根长势
10	1/2MS	—	—	—
11	1/4MS	—	+	+
12	1/2MS+4.5%~6%蔗糖	—	*	—
13	1/4MS+4.5%~6%蔗糖	+	*	—
14	1/2MS+0.01 mg/L NAA	—	—	*
15	1/4MS+0.01 mg/L NAA	—	—	*
16	1/2MS+5~10 mg/L CCC	*	—	+
17	1/4MS+5~10 mg/L CCC	*	—	—
18	1/2MS+0.01 mg/L NAA+10 mg/L CCC+6%蔗糖	+	+	+
19	1/4MS+0.01 mg/L NAA+10 mg/L CCC+6%蔗糖	*	*	*

注：* 代表很好，+ 代表一般，— 代表差。以上不加说明的，培养基中蔗糖浓度均为 3%。



图 1 大理百合芽的增殖



图 2 大理百合生根结鳞茎培养

接在培养基 No. 10 的 1/2MS 和 No. 11 的 1/4MS 上的材料叶片均生长过旺，叶多，伸长快且瘦弱；1/4MS 有少量毛状根长出，一个月才有小鳞茎形成，长势慢，1/2MS 结果无 1/4MS 明显。由培养基 No. 12~17 的结果可见，加入矮壮素(CCC)^[7-8]有利于抑制叶徒长，并促进叶健壮，最适浓度为 10 mg/L；蔗糖有利于鳞茎增大，最适浓度为 6%；NAA 有利于生根，适宜浓度 0.01 mg/L。以上可以看出，百合的生根结鳞茎培养受激素、营养物质等综合因素影响，以 No. 19 的 1/4MS 基本培养基加 6%蔗糖，0.01 mg/L NAA，10 mg/L CCC 作生根培养基较适宜。

3 讨 论

一般来讲，对于百合的组织培养，杂种品种分化能力大于野生种；低海拔种大于高海拔种^[6]，而大理百合是一种生于高海拔的野生种，因此在进行组培试验上存在一定的困难，尤其是初代分化培养是整个试验的关键。我们在前人研究的基础上选用比较适合百合分化的 BA 和 NAA 激素组合，结果发现：大理百合初始分化培养基以 MS+0.5 mg/L BA+0.1~0.5 mg/L NAA+3%蔗糖效果较好；继代增殖以 MS+0.5 mg/L BA+0.1 mg/L NAA+4.5%蔗糖为好；生根结鳞茎培养基选用 1/4MS+0.01 mg/L NAA+6%蔗糖+10 mg/L CCC，为大理百合鳞片组织培养较有效的方法。

培养基在初代培养时加琼脂 6.3~6.8 g/L，调 pH 在 5.4 到 5.8 之间，可防止外植体失水死亡；生根培养基要稍微硬些，防止水分过多影响根呼吸，致使根向上生长，琼脂加至 7%，pH 在 5.8 左右较好。

本实验虽然得到了大理百合的快繁体系，但无论分化还是增殖时间都比普通百合(麝香)晚 10~30 d，因此它的快繁体系还需进一步优化。

参考文献:

- [1] 中国科学院昆明植物研究所. 云南植物志. 第七卷 [M]. 北京: 科学出版社, 1997: 806—807.
- [2] 周静华, 李 芬, 汪祖芳. 大理百合中多糖的提取与总糖含量的测定 [J]. 临床和实验医学杂志. 2006, 5(6): 735.
- [3] 赵祥云, 王树栋, 刘建斌, 等. 鲜切花百合生产原理及实用技术 [M]. 北京: 中国林业出版社, 2005.
- [4] 王 刚, 杜 捷, 李桂英等. 兰州百合和野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). 2002, 8(1): 71—75.
- [5] 孙惠云, 孙志栋, 严成其, 等. 野生百合小鳞茎诱导和快速繁殖研究 [J]. 安徽农学通报. 2006, 12(2): 29.
- [6] 王家福. 花卉组织培养与快繁技术 [M]. 北京: 中国林业出版社, 2006.
- [7] 王 静, 安忠民, 冯学赞, 等. CCC 在马铃薯试管苗越冬中的作用 [J]. 植物生理学通报. 2004, 40(4): 441—442.
- [8] 陈龙清, 张雨琴, 袁芳亭, 等. PP333 及矮壮素对地被菊试管苗生根的影响 [J]. 植物生理学通讯. 2000, 36(5): 425—427.

In Vitro Rapid Propagation of *Lilium taliense*

XU Hong-xing, QIN Hua, SUI Shun-zhao,
PI Wei, LI Ming-yang, LI Xian-yuan

School of Horticulture and Landscape Architecture, Institute of Ornamental Research, Southwest University, Chongqing 400716, China

Abstract: The objective of this study was to develop a simple and efficient method for plant regeneration and rapid propagation of *Lilium taliense* Franch. Using the pseudo-bulblets as explants, the culture was conducted in vitro. The results showed that the appropriate bud and callus induction medium was MS+0.5 mg/LBA+0.1~0.5 mg/LNAA, the optimum proliferation medium was MS+0.5 mg/LBA+0.01~0.1 mg/LNAA, and the proper bulblet growing and rooting induction medium was 1/4MS+6% sucrose+0.01 mg/L NAA+10 mg/L CCC.

Key words: *lilium taliense* Franch; bulblet; rapid propagation

责任编辑 欧 宾