

湖北百合的组织培养技术研究

孟杨¹, 潘佑找^{2*}, 贾姗姗², 刘丹洲¹

(1. 长江大学信息与数学学院, 湖北荆州 434023; 2. 长江大学园艺园林学院, 湖北荆州 434025)

摘要 湖北百合鳞片不同部位均可诱导出芽, 其分化能力从强到弱依次为外层、中层、内层。0.8 cm × 0.8 cm 外植体的诱导率和污染率均高于 0.5 cm × 0.5 cm 外植体。最佳芽诱导培养基是 MS + 6-BA 1.0 mg/L + NAA 0.5 mg/L, 其诱导率可达 100%; 最佳芽增殖培养基是 MS + 6-BA 0.2 mg/L + NAA 0.5 mg/L, 相同浓度的 NAA 较 2,4-D 更有利于芽的增殖; 最佳生根诱导培养基为 1/2 MS + NAA 0.2 mg/L, 含 NAA 的培养基诱导出的根短而粗壮, 含 IAA 的培养基诱导出的根长且细, 说明 NAA 诱导生根的效果要好于 IAA。

关键词 湖北百合; 鳞片; 组织培养

中图分类号 Q943.1 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2006)17-4247-02

Study on the Technique of Tissue Culture of *Henryi* L.

MENG Yang et al (College of Informatics & Mathematics, Yangtze University, Jingzhou, Hubei 434023)

Abstract The bulblet of lilies can be induced from the different parts of *Henryi* L., of which the ability from strong to weak is from the outer scales, the middle scales to the inner scales. The inducing rate and polluting rate of the 0.8 cm × 0.8 cm in its size were higher than the 0.5 cm × 0.5 cm. The best induction medium for scale culture was MS + 6-BA 1.0 mg/L + NAA 0.5 mg/L, of which the inducing rate was 100%. The best proliferation medium of shoots was MS + 6-BA 0.2 mg/L + NAA 0.5 mg/L and compared with 2,4-D, the same concentration of NAA was more advantageous to the proliferation of bud. The best induction medium for roots was 1/2 MS + NAA 0.2 mg/L and the roots which were induced from the medium with NAA were short and robust; the roots which were induced from the medium with IAA were long, thin and weak. We can see that NAA was better than IAA for rooting.

Key words *Henryi* L.; Bud scale; Tissue culture

湖北百合 (*Lilium henryi* Baker) 为多年生草本, 以其吉祥美满寓意, 加上花姿雅致、色泽鲜艳、气味芳香, 深受人民喜爱, 成为近年迅速发展的高档花卉。但由于近年来人们的过度利用及环境污染, 湖北百合数量急剧下降, 品质也有所降低。利用组织培养技术对百合其他种类^[1-4]进行繁殖, 可人为控制培养条件, 生长快, 生长周期短, 用材少, 培养效果好。但有关湖北百合组织培养技术的研究尚未见报道。

1 材料与方法

1.1 材料 湖北百合于 2005 年 4 月采自湖北省长阳县乐园乡野外, 保湿带回长江大学后, 立即定植于长江大学植物园。

1.2 方法 取湖北百合鳞茎, 选无病斑的鳞片, 在洗涤剂溶液中用刷将材料上的泥土刷净。流水冲洗 10 h 后, 在超净工

作台上用 75% 乙醇消毒 35 s, 0.1% 升汞溶液消毒 10 min, 最后用无菌水冲洗 6 次。将消毒好的鳞片按外层、中层、内层分别横切成 0.5 cm × 0.5 cm 和 0.8 cm × 0.8 cm 的方块。

1.3 培养基及培养条件 以 MS 为基本培养基, 均加入 2.5% 蔗糖, pH 值为 5.8, 培养基均用 0.9% 的琼脂固化。在 1.2 kg/cm² 压力下灭菌 20 min。培养温度 (25 ± 2) °C, 光照 2 000 ~ 10 000 lx, 日照时间 12 ~ 16 h/d。

2 结果与分析

2.1 不同部位及大小的外植体对芽诱导的影响 将鳞片按外层、中层、内层分别切成 0.5 cm × 0.5 cm 和 0.8 cm × 0.8 cm 的方块, 接入诱导培养基 MS + 1.0 mg/L 6-BA + 0.5 mg/L NAA 中, 结果见表 1。

表 1 不同部位及大小的外植体对芽诱导的影响

外植体大小 cm × cm	部位	外植体块 数//个	分化出芽的 鳞片块数//个	诱导率 %	分化芽 数//个	总分化 率//%	污染数 个	污染率 %
0.5 × 0.5	外	20	20	100	75	80.0	2	5
	中	20	16	80	45		0	
	内	20	12	60	21		0	
0.8 × 0.8	外	20	20	100	83	81.7	4	8.3
	中	20	17	90	57		1	
	内	20	12	65	25		0	

由表 1 可以看出, 在相同芽诱导培养条件下, 不同部位鳞片的芽诱导率不同, 鳞片分化能力从强到弱依次为外层、中层、内层; 体积较大的外植体的芽诱导分化率和污染率均高于体积较小的外植体。从保证诱导率和减少污染率的角度来看, 应选择 0.5 cm × 0.5 cm 的外层鳞片作为外植体。

2.2 不同芽诱导分化培养基对鳞片产生芽的影响 在诱导分化培养基上接种 0.5 cm × 0.5 cm 的外层鳞片, 培养 6 d 后鳞片后开始增厚变绿; 10 d 鳞片基部边缘出现黄绿色愈伤组

织, 并不断增大, 逐渐形成颗粒状突起; 23 d 后, 圆形突起形成小鳞茎或芽苗。由表 2 可知, 6 种培养基均可诱导出芽, 以初Ⅲ和初Ⅵ培养基诱导率最高。从诱导率看, 培养基初Ⅲ和初Ⅵ所诱导的芽苗数目远远多于初Ⅰ和初Ⅱ, 故认为最适诱导分化培养基为初Ⅲ。

2.3 不同芽增殖培养基对芽增殖的影响 待初代培养的芽长到 2.0 ~ 4.0 cm 时, 将其分为单株, 移入表 3 所列培养基中, 13 d 后芽基部开始出现新生小芽, 逐渐形成芽丛, 30 d 后统计试验结果如表 3 所示。由表 3 可见, 不同的培养基中, 芽的增殖情况不一样。在 6-BA 浓度为 0.2 mg/L 不变的情况下, NAA 和 2,4-D 的浓度在 0.05 ~ 0.5 mg/L 时, 芽增殖率随 NAA 和 2,4-D 浓度的升高而升高, 当 NAA 和 2,4-D 的浓度超

基金项目 长江大学科技发展基金资助项目。

作者简介 孟杨(1983-), 男, 湖北德州人, 本科生, 专业: 信息与数学。

* 通讯作者, 硕士, 副教授, E-mail: panyouzhao@163.com。

收稿日期 2006-07-22

过 0.8 mg/L 时,芽的增殖率明显降低。可见,高浓度的 NAA 或 2,4-D 都不利于芽的增殖。从表 3 还可看出,在 6-BA 浓度不变

的情况下,相同浓度的 NAA 较 2,4-D 更有利于芽的增殖,且增殖芽苗的质量也好。故认为最适芽增殖培养基为继Ⅲ。

表 2 不同芽诱导培养基对鳞片诱导分化的影响

培养 基号	激素组合 // mg/L		接种鳞片 数 // 块	分化鳞片 数 // 块	分化率 %	每块分化鳞片 平均芽数 // 个	生长状况
	6-BA	NAA					
初 I	1.0	0.1	20	17	85	2.5	较好,有根
初 II	1.0	0.3	20	18	90	3.2	好,无根
初 III	1.0	0.5	20	20	100	5.1	好,无根
初 IV	0.1	1.0	20	11	55	2.3	差,无根
初 V	0.3	1.0	20	13	65	2.8	较好,无根
初 VI	0.5	1.0	20	20	100	4.5	好,无根

表 3 不同芽增殖培养基对芽增殖的影响

培养 基号	激素组合 // mg/L			新生芽平 均数 // 个	生长 状况
	BA	NAA	2,4-D		
继 I	0.2	0.05	-	3.36	壮
继 II	0.2	0.20	-	3.12	壮
继 III	0.2	0.50	-	3.45	壮
继 IV	0.2	0.80	-	1.93	弱
继 V	0.2	1.00	-	1.72	细弱
继 VI	0.2	-	0.05	2.15	弱
继 VII	0.2	-	0.20	3.09	壮
继 VIII	0.2	-	0.50	3.37	壮
继 IX	0.2	-	0.80	1.61	细弱
继 X	0.2	-	1.00	1.54	细弱

2.4 不同生根培养基对芽生根的影响 待增殖培养所得的芽长至 4.0 cm 左右时,分成单株,接入生根培养基中,观察调节因子对生根的影响。表 4 表明,4 种培养基均对根有 100%

表 4 不同生根培养基对芽生根的影响

培养 基号	激素组合 mg/L	生根		平均生根 数 // 个	根的状况
		时间 // d	生根率 %		
生 I	1/2 MS + IAA 0.2	25	100	4.2	无根毛,细弱
生 II	1/2 MS + IAA 0.5	25	100	1.8	无根毛,细弱
生 III	1/2 MS + NAA 0.2	17	100	6.3	粗壮,有根毛
生 IV	1/2 MS + NAA 0.5	18	100	2.7	壮,根毛少

诱导率。生 III 培养基生根效果最好,其平均生根数达 6.3 条,且根粗壮有根毛,适于移栽;生 I、生 II 培养基生根效果次之,其根细弱无根毛,移栽后不易成活。较高浓度的生长素不利

于根诱导, NAA 诱导生根的时间较 IAA 短 7.5 d 左右,相同浓度的 NAA 较 IAA 更有利于根诱导。

3 小结

(1) 0.5 cm × 0.5 cm 的外层鳞片是湖北百合初代培养的最适外植体。

(2) 最适初代培养基为 MS + 1.0 mg/L 6-BA + 0.5 mg/L NAA。初代培养过程中发现,在高 6-BA、低 NAA 的培养基上,可诱导出带根小鳞茎,达到一次性成苗,而在高 NAA、低 6-BA 的培养基上,鳞片基部形成大量圆形突起,分化出大量无根芽苗。这与周寒松^[5]在麝香百合的组织培养快速繁殖中的结论不一致。

(3) 最适芽增殖培养基为 MS + 6-BA 0.2 mg/L + NAA 0.5 mg/L。含 NAA 的培养基诱导出的根短且粗壮,有根毛,移栽后易成活;含 IAA 的培养基诱导出的根长且细弱,无根毛,说明 NAA 诱导生根的效果要好于 IAA。

参考文献

- [1] 王刚,杜捷,李桂英,等.兰州百合和野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):67-71.
- [2] 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.
- [3] 王红霞,胡琼华,陈小兰.通江百合的组织培养[J].植物生理学通讯,2000,36(2):132.
- [4] 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:自然科学版,2003,39(1):66-68.
- [5] 周寒松.麝香百合的组织培养快速繁殖[J].宁德师专学报:自然科学版,2003,15(2):190-191.
- [6] 505-515.
- [7] 邹琦.植物生理生化实验指导[M].北京:中国农业出版社,1995:35-38.
- [8] 汤章城.现代植物生理学实验指南[M].北京:科学出版社,1999:308-309.
- [9] 高俊凤.植物生理学实验技术[M].西安:世界图书出版社,2000:196-197,194-196,192-193,198-199.
- [10] MCCORD J M. Free radicals and inflammation: protection of synovial fluid by superoxide dismutase[J]. Science, 1974, 185:529-531.
- [11] 赵可夫,邹琦,李德全.盐分和水分胁迫对盐生和非盐生植物细胞膜脂过氧化作用的效应[J].植物学报,1993,35(7):519-525.
- [12] 吴建慧,杨玲,孙国荣.低温胁迫下玉米幼苗叶片活性氧的产生及保护酶活性的变化[J].植物研究,2004,24(4):456-459.
- [13] 齐曼·尤努斯.盐胁迫对大果沙枣膜脂过氧化和保护酶活性的影响[J].干旱区研究,2005,22(4):503-507.
- [14] 蒋明义.水分胁迫下植物体内的 OH 产生与细胞的氧化损害[J].植物学报,1999,41(3):229-234.
- [15] 胡丁猛,孙明高,王大明,等. SO₂ 对三种园林绿化苗木叶片膜脂过氧化和保护酶的影响[J].山东农业大学学报:自然科学版,2005,36(2):175-180.
- [16] 张兰杰.天竺葵在大气污染中的监测作用[J].鞍钢技术,1997(1):63-65.

(上接第 4236 页)

则低于对照。而在这一时段内,2 种植物体内活性氧含量急剧上升,说明保护酶 SOD、CAT、POD 虽然在一定程度上有效清除了体内的活性氧,但随处理时间延长,2 种植物体内活性氧的产生和清除的动态平衡不能始终维持在良好水平。

参考文献

- [1] 杨淑慎,高俊凤.活性氧、自由基与植物的衰老[J].西北植物学报,2001,21(2):215-220.
- [2] 王建华,刘鸿先,徐同.超氧化物歧化酶(SOD)在植物逆境和衰老生理作用[J].植物生理学通讯,1989,25(1):1-7.
- [3] GOSSET D R, MILLHOLLON E P, LUCAR M C. Antioxidant response to NaCl in salt-tolerant and salt-sensitive cultivars of cotton[J]. Crop Science, 1994, 34:706-714.
- [4] 许丽明,孙晓燕,文江祁.水杨酸和阿斯匹林对盐胁迫下小麦幼苗叶片膜损伤的保护作用[J].植物生理学通讯,2000,36(1):29-32.
- [5] 廖祥儒,朱新产.活性氧代谢和植物抗盐性[J].生命的化学,1996,16(6):19-23.
- [6] LIN Z-F, LI S S, LIN G-Z, et al. Superoxide dismutase activity and lipid peroxidation in relation to senescence of rice leaves [J]. Acta Bot Sin, 1984, 26: