

“马可”百合组培技术研究

宋建英^{1,2}, 叶建仁^{1*}

(1. 南京林业大学森林资源与环境学院, 江苏 南京 210037; 2. 福建林业职业技术学院, 福建 南平 353000)

摘要:以“马可”百合(*Lilium bulbiferum* cv. ‘Marco Polo’)鳞片为起始外植体, MS为基本培养基, 以不同激素成分及不同浓度水平来诱导“马可”百合产生小鳞茎。结果表明:“马可”百合的诱导可由外植体直接产生小鳞茎而分化成苗。诱导“马可”产生小鳞茎的最佳外植体为鳞茎内部的鳞片, 将其作为不切开处理, 并以鳞片远轴面紧贴培养基的方式进行接种, 在MS+6-BA(1.0 mg/L)+IBA(0.3 mg/L)培养基上进行诱导培养, 其平均分化系数达2.52。“马可”百合最佳扩繁增殖培养基为MS+6-BA(0.3 mg/L)+IBA(0.3 mg/L), 小鳞茎的增殖系数可达2.60。采用1/2MS+6-BA(0.3 mg/L)+IBA(0.7 mg/L)的培养基对“马可”进行生根培养, 根条数可达8.0, 生根率为100%。“马可”生根苗应用质量分数为50%多菌灵800倍液进行消毒处理, 移植于河泥和珍珠岩的体积比为7:3的基质中, 成活率可达98%。

关键词:“马可”百合; 组织培养; 鳞片; 激素处理**中图分类号:** Q948**文献标识码:** A**文章编号:** 1000-2006(2006)04-0073-04

Study on Tissue Culture of *Lilium bulbiferum* cv. ‘Marco polo’

SONG Jian-ying^{1,2}, YE Jian-ren^{1*}

(1. College of Forest Resources and Environment Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China;

2. Fujian Forestry Vocational Technology College, Nanping 353000, China)

Abstract: This paper presents an unreported overall study about using bulb scale as the initial explant and MS as the basic medium with different hormones in different concentration levels to induce *Lilium bulbiferum* cv. ‘Marco polo’ differentiating little bulbs so as to find the best technical line to realize lilly factory production. The result reveals that “Marco polo” differentiates into bulbous projections and forms shoots directly from explants. Using interior whole scale of a bulb as the explant with the scale back lying on the medium is the best material to induce “Marco polo” to differentiate little bulbs, and with that on the medium of MS+6-BA(1.0 mg/L)+IBA(0.3 mg/L), the average inducing coefficient can reach 2.52. The best reproduction medium for “Marco polo” is MS+6-BA(0.3 mg/L)+IBA(0.3 mg/L), on which reproducing coefficient can reach 2.60. 1/2MS+6-BA(0.3 mg/L)+IBA(0.7 mg/L) is the best medium for “Marco polo” to root, and its rooting rate can be 100%. The material for transplanting is the combination of river mud and pearly rock (cubic comparison is 7:3). The survival rate of *Lilium* shoots can reach 98%.

Key words: *Lilium bulbiferum* cv. ‘Marco polo’; Tissue culture; Bulb scale; Hormonic treatment

1 材料与方 法

1.1 供试百合及外植体处理

“马可”百合(*Lilium bulbiferum* cv. ‘Marco polo’)^[1-13]是福建省南平市林业局1998年从荷兰引进南平市延平区大横镇和莱舟林业试验场栽培的81个百合品种之一。经4年的种植效果表明, 该品种为

收稿日期: 2005-08-30

修回日期: 2006-05-11

基金项目: 福建省林业厅科技推广项目(林木种苗工程重点项目3(4))

作者简介: 宋建英(1954-), 女, 副教授, 博士生, 主要从事植物生物技术研究。

* 通讯作者 (Corresponding Author): 叶建仁, 男, 教授, 博士生导师。

适应性较强的优良品种。笔者2002年5月从南平市大横农业高新技术园区花卉栽培基地选取生长健壮、直立、叶绿的单株,连根拔起,选取大而饱满、无病虫害的“马可”百合鳞茎作为外植体,进行组培试验研究。

采回的鳞茎先用自来水冲洗干净,去除外部有病斑的老鳞片,将完好的鳞茎用洗衣粉溶液浸泡冲洗5 min,剥成鳞片,用自来水继续冲洗60 min,在超净工作台上用75%酒精浸摇30 s后,转入滴加5滴吐温-20的次氯酸钠溶液中,消毒20 min,再用无菌水冲洗5~6次。在接种盘上将各鳞片的基部与根相连处切除。外植体鳞片的处理方法为两种:一种为将鳞茎外围鳞片作不切开、切成2块、切成4块3种处理;另一种将鳞茎剥开分为外部鳞片、中部鳞片和内部鳞片,不做切片处理。

1.2 培养条件及试管苗移栽

以MS为基本培养基^[14-17],制成不同激素配比的培养基,附加3%的食用白糖,0.7%的琼脂条(福建省泉州市泉港化工厂出品),加热溶解后加入不同配比的激素,再进行定容。将pH调至5.8,按每升50瓶的容积倒入沙茶酱瓶内,盖紧瓶盖,置于立式高压锅内,在121℃下灭菌20 min备用。对百合的鳞茎进行诱导培养的MS基本培养基中加入不同浓度的6-BA和IBA。继代培养是在MS培养基中加入6-BA(0.1~1.0 mg/L)和IBA(0.3 mg/L)。生根培养以1/2MS培养基为基础,IBA取0.1、0.3、0.7、1.0、2.0 mg/L 5个水平,6-BA均采用0.3 mg/L,并以1/2MS、1/2MS+IBA(0.7 mg/L)为对照。

培养温度为23~25℃,恒温,日光灯照射,2500 lx,每天照明12 h。

当“马可”生根培养45 d,小苗高4.5 cm,叶色浓绿,小鳞茎直径为1.10 cm,根系发达粗壮时,进行移栽。先将生根试管苗在自然条件下炼苗5~7 d,洗净培养基,用50%多菌灵800倍液进行消毒处理,移植于装有河泥与珍珠岩(其体积比为7:3)培养料的塑料盆中。观察小苗生长并统计用该基质进行移栽培养的试管苗成活率。

2 结果与分析

2.1 外植体鳞片的不同处理对小鳞茎诱导的影响

不同处理的百合外植体鳞片在接种7 d后,由白色转成淡绿色。20 d后,鳞片继续转为深绿色,此时鳞片上不产生任何愈伤组织,而是从鳞片的近轴面内陷处或在鳞片边缘处直接诱导产生出小鳞茎。接种30 d的观察统计结果见表1。

表1 不同浓度激素处理对鳞茎诱导分化率的影响

Table 1 The effects of different hormone concentration on differentiated rate of lilly bulb

6-BA+IBA	外植体数 Number of explants/个			发生分化的外植体数 Number of differentiated explants/个			分化系数 Differentiated index			诱导分化率 Induction differentiated rate/%			
	外鳞片	中鳞片	内鳞片	外鳞片	中鳞片	内鳞片	外鳞片	中鳞片	内鳞片	外鳞片	中鳞片	内鳞片	平均数
0.0+0.0	59	53	54	29	38	32	0.66	0.70	0.76	49.1	71.7	59.2	59.8
0.0+0.3	55	50	55	39	33	43	0.95	0.98	1.13	70.9	66.0	78.1	71.7
0.3+0.0	50	55	50	41	44	47	1.08	0.55	1.24	82.0	80.0	94.0	85.3
1.0+0.3	55	50	50	53	47	49	1.80	1.74	2.52	96.4	94.0	98.0	96.1
同一部位的鳞片平均诱导分化率和分化系数							1.12	0.99	1.41	74.6	77.9	82.3	

注:激素单位均为mg/L。

由表1可见,外植体在不同培养基中,平均诱导分化率和平均分化系数各不相同。在MS基本培养基上,虽能诱导出小鳞茎来,但平均诱导分化率仅59.8%。在MS+IBA(0.3 mg/L)培养基上,平均诱导分化率为71.7%。在MS+6-BA(0.3 mg/L)培养基上,平均诱导分化率为85.3%。在MS+6-BA(1.0 mg/L)+IBA(0.3 mg/L)培养基上,平均诱导分化率为96.1%,达到最高水平。鳞茎内部鳞片的平均分化系数达1.41;外部鳞片的为1.12;中部鳞片的为0.99。将整块鳞片作不切开处理直接将其作为诱导材料接入附加6-BA(1.0 mg/L)的MS+IBA(0.3 mg/L)培养基中,分化出的小鳞茎数量最多,分化系数达2.52;分化出来的小鳞茎形态正常且粗壮,对下一步的扩大繁殖提供了最佳材料。因而,在MS+IBA(0.3 mg/L)培养基中添加6-BA(1.0 mg/L)是最理想的诱导培养基配方。

2.2 不同浓度的6-BA对百合继代增殖的影响

当外植体诱导出的小鳞茎长到高为0.5 cm、直径为0.4 cm时,用解剖刀将其与外植体分开,单个小

鳞茎接种于 IBA 为 0.3 mg/L、BA 为 0.1、0.2、0.3、0.5、0.7、1.0 mg/L 的 MS 培养基上。继代培养 45 d 后,调查其生长情况,结果表明:在 IBA 浓度为 0.3 mg/L 的 MS 培养基中附加的 6-BA 浓度为 0.2 mg/L 和 0.3 mg/L 时,小鳞茎的平均增殖系数达 2.58 和 2.60。当 6-BA 浓度达 0.3 mg/L 时,苗的生长状况较佳,苗高为 3.0 cm,叶片数为 5.0,小鳞茎的直径为 0.9 cm,有利于“马可”的快速繁殖和苗的生根培养。因此,笔者用 MS+6-BA(0.3 mg/L)+IBA(0.3 mg/L)培养基对“马可”进行继代培养 45 d 后,选用生长健壮、叶色浓绿的小鳞茎(图 1A)转入生根培养基,效果良好。



图 1 马可百合小鳞茎生长及生根情况

Fig. 1 The growth of lilly bulbs and rooting

(A. 小鳞茎在 MS+6-BA(0.3 mg/L)+IBA(0.3 mg/L)上的生长情况;
B. 百合在 MS+6-BA(0.3 mg/L)+IBA(0.7 mg/L)上的生根情况)

2.3 不同浓度激素对百合根形成的影响

选择“马可”百合继代增殖培养中苗壮、鳞茎大的植株进行生根培养。在生根培养基上进行生根培养 45 d 后,调查数据表明(表 2):在 1/2MS 基本培养基上,百合平均根条数为 4.2,生根率可达 91%;当采用 1/2MS+IBA(0.7 mg/L)培养基时,平均根条数为 5.7;在 6-BA(0.3 mg/L)的 1/2MS 培养基上,随附加 IBA 浓度增高,百合的根条数增加。在 1/2MS+6-BA(0.3 mg/L)+IBA(0.7 mg/L)培养基上培养时,根条数达到 8.0。与在 1/2MS+6-BA(0.3 mg/L)+IBA(1.0 mg/L)和 1/2MS+6-BA(0.3 mg/L)+IBA(2.0 mg/L)培养基上培养情况进行比较,在 1/2MS+6-BA(0.3 mg/L)+IBA(0.7 mg/L)培养基上长的根相对较粗壮且短,有利于移栽(图 1B);而在后 2 种培养基上长的根条数虽多,但所长的根细弱且长,不利于移栽。因此,此次实验中采用 1/2MS+IBA(0.7 mg/L)+6-BA(0.3 mg/L)培养基对“马可”进行生根培养,效果理想。

2.4 试管苗移栽对百合成活的影响

2.4 试管苗移栽对百合成活的影响

当“马可”百合生根培养 45 d,小苗高 4.5 cm,叶色浓绿,小鳞茎直径为 1.1 cm,根系发达粗壮时,进行移栽。先将生根试管苗在自然条件下炼苗 5~7 d 后,洗净培养基,用 50%多菌灵 800 倍液进行消毒处理,移植于装有河泥与珍珠岩体积比为 7:3 的培养料的塑料穴盘中。在移栽后的 7~10 d 内用塑料薄膜对小苗进行覆盖,以保证较高的湿度。用这种方法,移栽试管苗的成活率可达 98%。

3 讨论

(1)“马可”百合的诱导是由外植体(鳞片)产生小鳞茎而分化成苗的,并不经脱分化产生愈伤组织再分化形成苗。将鳞茎内部的整片鳞片,以远轴面紧贴 MS+6-BA(1.0 mg/L)+IBA(0.3 mg/L)培养基上进行培养,其诱导效果好。

(2)“马可”百合的最佳扩繁殖培养基为 MS+6-BA(0.3 mg/L)+IBA(0.3 mg/L)培养基,生

表 2 不同浓度激素对百合生根的影响

Table 2 The effect of different hormone concentration on lilly bulb root growth

IBA+ 6-BA	生根率 Rooting rate%	根条数 No. of roots	平均生根数 Number of average rooting/条
0.0+0.0	91	210	4.2
0.7+0.0	98	285	5.7
0.1+0.3	100	315	6.3
0.3+0.3	100	392	7.8
0.7+0.3	100	402	8.0
1.0+0.3	100	430	8.6
2.0+0.3	100	505	10.1

注:接种数均为 50 个,激素浓度单位为 mg/L。

根培养基为 1/2MS+6-BA (0.3 mg/L)+IBA (0.7 mg/L)培养基。

(3)“马可”的生根苗应用 50%多菌灵 800 倍液进行消毒处理,移植于河泥与珍珠岩体积比为 7:3 的培养料中培养,成活率可达 98%。

因此,在百合“马可”试管鳞茎增殖快繁工作中应采取如下综合处理措施:诱导小鳞茎时应采用完整的鳞片作为外植体接种,并以远轴面紧贴在培养基上。该法诱导系数高,虽然鳞片切块接种可以减少所需外植体的数量,但切块后,小鳞茎诱导系数低,且诱导所需时间长,在工厂化生产中不宜使用。可用普通白糖代替蔗糖、用卡拉胶代替琼脂条或代替琼脂粉。

采取上述措施,既可保证最佳试管鳞茎增殖率,又可降低生产成本,有利于提高工厂化生产的经济效益。

[参 考 文 献]

- [1] 中国科学院《中国植物志》编委会. 植物植物志:第 14 卷[M]. 北京:科学出版社,1980.
- [2] 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:自然科学版,2001,37(1):80-82.
- [3] 万 勇,毛凌华,黄水萍,等. 万载百合组织培养快速繁殖的研究[J]. 江西农业学报,2000,12(4):26-29.
- [4] 宋建英. 西洋百合“卢浮宫”的组培技术研究[J]. 林业科学研究,2004,17(3):346-351.
- [5] 罗凤霞,徐桂华,金丽丽,等. 新铁炮百合的离体快速繁殖[J]. 沈阳农业大学学报,2000,31(3):254-257.
- [6] 杨柏云,罗丽萍,蔡奇英. 切花百合的组织培养的研究[J]. 南昌大学学报:理科版,2000,24(4):323-326.
- [7] 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,2003,38(1):69-71.
- [8] 陈丽梅,李 雪,杜 捷,等. 兰州百合 β 染色体的初步观察[J]. 西北植物学报,2003,23(11):2007-2010.
- [9] Masumi Yamagishi, Hiromi Abe Michiharu. PCR-based molecular markers in asiatic hybrid lily[J]. Scientia Horticulturae, 2002, 96: 225-234.
- [10] Mitsuga Horita, Hitomi Morohashi, Fuminori Komai. Regeneration of flowering plants from difficile lily protoplasts by means of a nurse culture[J]. Planta, 2002, 215: 880-884.
- [11] Wawrosch C, Malla P R, Kopp B. Clonal propagation of *Lilium nepalense* D. Don, a threatened medicinal plant of Nepal[J]. Plant Cell Reports, 2001, 20: 285-288.
- [12] Hoshi Y, Kond M, Mori S, et al. Production of transgenic lily plants by Agrobacterium mediated transformation [J]. Plant Cell Reports, 2004, 22(6): 359-364.
- [13] Horita M, Morohashi H, Komai F. Production of fertile somatic hybrid plants between oriental hybrid lily and *Lilium* \times *Formolongi* [J]. Planta, 2003, 217(4): 597-601.
- [14] 谭文澄,戴策刚. 观赏植物组织培养技术[M]. 北京:中国林业出版社,1991.
- [15] 李浚明. 植物组织培养教程[M]. 2版. 北京:中国农业出版社,2002.
- [16] 崔德才,徐培文. 植物组织培养与工厂化育苗[M]. 北京:化学工业出版社,2003.
- [17] 梅家训,丁习武. 组培快繁技术及其应用[M]. 北京:中国农业出版社,2003.

(责任编辑 王国栋)