

不同外植体对兰州百合组织培养的影响

潘佑找 柯尊涛 赵宇瑛

(长江大学园艺园林学院, 湖北荆州 434025)

摘要:以兰州百合的鳞片、叶片、根的不同部位为外植体成功获得再生植株,并建立了快速无性繁殖体系。在组织培养中不同外植体不同部位在培养时诱导分化能力是不同的。本试验以 MS 为基本培养基加不同的植物生长调节剂配比进行培养,发现不同外植体不同部位分化能力存在差异,其差异由强到弱为:鳞片、根、叶片。同时鳞片不同部位的分化能力由强到弱为:下>中>上,叶片不同部位的分化能力由强到弱为:叶片基部>中部>叶尖,根的不同部位分化能力由强到弱为:根基部>根尖>根中部。

关键词:外植体;组织培养;兰州百合;不定芽

中图分类号 S644

文献标识码 A

文章编号 1007-7731(2007)19-243-04

The Effects of *Lilium davidii* var. *Unicolor* of Tissue Culture Due to Different Explants

Pan Youzhao Ke Zuntao Zhao YuYing (Gardening and Horticulture College of Yangtze University, jingzhou hubei, 434025)

Abstract: The clonal propagations of *Lilium davidii* var. *Unicolor* were developed through culture of different parts of scale, leaves and roots respectively in vitro. The different explants and parts on the culture media have influence to the inducement of the bulb of lily. This experiment develops the liquid with the MS culture medium + the different hormone of certain ratio to carry on the development, to find out the ability of differentiation on the different explants and parts, in proper order, from the strong to feeble: The scale > root > leaf. At the same time, to find out the ability of differentiation on the different parts. The scale were as follows: lower part > median part > upper part. The leaf were as follows: the base of leaf > median part > leaf apex. The root were as follows: the base of root > root apex > median part.

Key words: Explant; Tissue culture; *Lilium davidii* var. *Unicolor*; Adventitious buds

兰州百合(*Lilium davidii* var. *Unicolor*)是百合科百合属植物川百合的变种,为多年生宿根草本植物,原产我国。是滋补佳品和名食,具有健身、补中益气、理脾健胃、宁心安神、润肺止咳、清热利尿、解无名肿毒及止血之功效。兰州百合的市场需求大,发展其种植业,效益巨大。但由于各种因素的影响,使这种分布地区窄、生态适应性较弱的川百合变种的生存受到严重威胁。传统的兰州百合繁殖方法主要采用常规分球、分珠芽鳞片扦插、鳞片包埋等,但采用这些方法繁殖,繁殖系数低,繁殖速度慢、栽培面积难以扩大,特别是经多代繁殖以后,常造成种性退化、病毒积累,影响兰州百合的产量和品质。利用组织培养技术进行兰州百合的组织培养,既能去除病毒,又能加快兰州百合繁殖速度;缩短其生育周期,具有很好的应用价值、经济价值和开发潜力。

百合属花丝、叶片、鳞片、茎段、根是目前百合属组织培养中普遍采用的外植体。另外,用鳞茎盘、种子、花瓣作外植体的也都有相关研究。近年来关于百合组织培养的报道较多,而兰州百合组织培养中愈伤组织及不定芽分化诱导和再生植株的形成,未有人进行系统的研究。本试验以兰州百合的鳞片、叶片、根为外植体进行组织培养,旨在探讨兰州百合组织培养中外植体对愈伤组织及不定芽分

化诱导和再生植株的影响。

1 材料和方法

1.1 材料及取材部位 兰州百合(*Lilium davidii* var. *Unicolor*)于2005年4月采自湖北省长阳县乐园乡野外,定植于长江大学植物园。试验时以兰州百合的鳞片、叶片、根为外植体进行组织培养。外植体鳞片分上、中、下三段,叶片分叶基、叶中、叶尖三段,分别切成5mm×5mm的小块;根分根尖、根中部、根基部三段,切成4mm的小段。

1.2 培养条件 以MS(根诱导培养基为1/2MS)为基本培养基,添加不同浓度组合的植物生长调节剂诱导,培养基中均加入0.75%的琼脂、蔗糖3.0g/L,调节pH为6.2。培养温度为20-25℃,光照强度为1000-1500 lux,每天光照12 h。

1.2.1 诱导分化(初代)培养基 鳞片:MS + 0.5mg/L 6-BA + 0.5mg/L NAA;叶片:MS + 1.0mg/L 6-BA + 0.5mg/L NAA;根:MS + 2mg/L 6-BA + 0.4mg/L NAA

1.2.2 继代培养基 鳞片:MS + 2mg/L 6-BA + 0.2mg/L NAA;叶片:MS + 2mg/L 6-BA + 0.4mg/L NAA;根:MS + 1.3mg/L 6-BA + 0.5mg/L NAA

1.2.3 生根培养基 鳞片:1/2 MS + 0.15mg/L NAA;叶片:1/2 MS + 0.3mg/L NAA;根:1/2 MS + 0.3mg/L

基金项目:长江大学科研基金项目。

作者简介:潘佑找(1964-),男,湖北浠水人,副教授,从事药用植物及园艺植物教学与科研工作。

收稿日期:2007-09-19

NAA

1.3 方法

1.3.1 材料处理 取兰州百合无病斑色泽均匀的中层鳞片、叶片、根为外植体,分别用流水冲洗4 min,在超净工作台用75%酒精消毒30 s,再在0.1%升汞溶液中消毒10 min,最后用无菌水冲洗6次,用无菌纸吸干鳞片、叶片、根上的水分,放入经过消毒的培养皿中。

1.3.2 不定芽的诱导 取消毒的外植体接种于诱导培养基中,培养40 d后,观察不同外植体及其不同部位对不定芽产生的影响。

1.3.3 芽增殖诱导 将诱导出的不定芽接种到各自的增殖培养基上,培养50 d后,统计不定芽的增殖倍数。

1.3.4 根的诱导 将增殖诱导出的小鳞茎转入不同的生根培养基上,30 d后,统计不同外植体及其不同部位诱导生根的影响。

1.3.5 组培苗的炼苗、假植与移栽 在试管苗的根长到1~2 cm或苗已长出小叶片时进行炼苗。逐步打开瓶口的塑料薄膜,逐渐降低湿度、增强光照,进行驯化,炼苗4 d。由于炼苗后大田气温较低,故对组培苗在培养室里进行假植,假植时先将附于组培苗根上的琼脂块用温水清洗干净,然后将根在50 mg/L的吡啶乙酸里浸1 s后,移入装有高温高压消毒过的培养土的塑料杯中,将塑料杯放在盆中,盆中放少量水,保持75%的相对湿度(每日喷1次水)、23℃的室温、50%的光照。假植30 d后,大田气温回暖,进行大田移栽。移栽时,剪去过长的叶片,保持苗高度在5 cm左右,栽入长江大学植物园里较松软的细沙土(沙坑)上,沙土上添加任何其它营养基质,喷淋透水,初期每天早上7:30、下午5:00各浇1次水,并在每日10:00至16:30盖遮阳网,以保持较高的空气湿度,防止幼苗因光照太强、温度太高脱水而死。观察幼苗在大田细沙土上的生长状况。

2 结果与分析

表1 不同外植体对兰州百合诱导分化的影响

外植体及部位	培养基	接种数	分化数	分化芽数	感染数	感染率(%)	分化率(%)	分化率差异显著性
鳞片上	BA0.5 + NAA0.5	30	26	50	4	13.33	86.67	c
鳞片下		30	28	56	2	6.67	93.33	ab
叶片叶尖		30	29	62	1	3.33	96.67	a
叶片中部	BA1.0 + NAA0.5	30	20	42	10	33.33	66.67	e
叶片基部		30	23	50	7	23.33	76.67	d
根尖部	BA2 + NAA0.4	30	27	59	3	10.00	90.00	bc
根中部		30	24	48	6	20.00	80.00	d
根基部		30	21	38	9	30.00	70.00	e
根中部	BA2 + NAA0.4	30	21	38	9	30.00	70.00	e
根基部		30	27	55	3	10.00	90.00	bc

注:本试验表中的数值具有相同的字母表示差异不显著。字母不相同表示差异达到显著水平。不同大小字母分别代表 $P \leq 0.01$ 和 $P \leq 0.05$,采用Duncan's新复极差法统计分析方法,以下同。

2.1 不同外植体对兰州百合诱导分化的影响 以初代培养基分别诱导兰州百合鳞片、叶片、根的分化,接种后10 d左右外植体开始出现膨大现象,切口部位明显增厚,20 d后,切口基部边缘出现黄绿色愈伤组织,并不断增殖,逐渐

形成圆形颗粒状愈伤组织,呈圆形突起,30 d后,圆形突起形成绿色小芽。表1统计了不同外植体的诱导情况。

由表1可以看出,鳞片下部、鳞片中部、根基部和叶片基部之间无显著差异,但与其它部位有显著差异。说明鳞片下部鳞片中部、根基部和叶片基部的诱导能力较其他外植体的诱导能力强。同时外植体不同部位的诱导能力不同,鳞片下部、中部的诱导能力显著高于鳞片上部,根基部的诱导能力极显著高于根尖和中部,叶片基部的诱导能力极显著高于叶中部和叶尖。

2.2 不同外植体对兰州百合不定芽增殖的影响 初代培养40 d后,外植体上产生的不定芽开始变粗,这时开始继代培养,继代培养在初代培养外植体分化出的不定芽中切下一个单芽后进行转接。转接后观察其生长情况,30 d后,新增芽数目变多,芽和苗的基部不断出现米黄色新生小芽,并逐渐变为浅绿色,再过20 d长成了大量的不定芽。

表2表明,鳞片在继代培养中,来自鳞片下部的芽增殖倍数高达2.97,极显著高于其他部位的芽,说明鳞片下部不定芽的增殖能力最强。由表2也可看出不定芽的产生部位不同其增殖能力也不同,来自鳞片下部的芽极显著地高于上、中部;来自根基部的芽极显著地高于根中部和根尖;叶片基部的芽极显著地高于叶片中部和叶尖。这又说明在增殖培养当中,来自鳞片、根和叶片的不定芽增殖能力均高于其他部位。

表2 不同外植体对兰州百合不定芽增殖的影响

不定芽产生的部位	培养基	接种芽数	增殖芽数	增殖倍数	显著差异性	
鳞片上	6-BA 2.0 + NAA 0.2	26	56	2.15	c	C
鳞片下		28	67	2.39	b	B
叶片叶尖		29	86	2.97	a	A
叶片中部	6-BA 2.0 + NAA 0.4	22	36	1.64	f	F
叶片基部		25	46	1.84	e	EF
根尖部	6-BA 1.3 + AA 0.5	27	68	2.52	b	B
根中部		24	50	2.08	cd	CD
根基部		21	41	1.95	de	DE
根中部	6-BA 1.3 + AA 0.5	21	41	1.95	de	DE
根基部		27	69	2.55	b	B

2.3 不同外植体对兰州百合诱导生根的影响 待继代培养所得的丛生芽长至2 cm高左右时,把丛生芽切成单株,转接到生根培养基中诱导根的生成,6 d后大多数培养瓶中都有白色的根生出,伴随根系的生长,再生植株的鳞茎也明显膨大,芽也随着增壮。30 d后,观察并记录根的生长状况。

从表3可看出,无论从生根时间、生根数量、还有根的长势上,来自鳞片下部的单株均与来自其他部位的单株差异极显著。说明在生根培养的过程中,来自鳞片下部的单株根的生长状况最好。同时由表3也可看出,来自鳞片中部的单株根的生根数与来自鳞片上部的单株根的生根数差异极显著;来自根基部的单株与来自根中部和根尖的单株差异显著;来自叶片基部的单株与来自叶片中部的单株差异显著。

表3 不同外植体对兰州百合诱导生根的影响

单株产生的部位	培养基	接种株数	最早生根时间(d)	诱导率(%)	总生根数(条)	平均每瓶生根数(条)	差异显著性		生长性状
							0.05	0.01	
鳞片上		23	第6d	100	80	3.48	e	DE	细长
鳞片中部	NAA 0.15	24	第5d	100	103	4.29	b	B	较粗、较长
鳞片下部		27	第4d	100	123	4.56	a	A	较粗、较长
叶片叶尖		20	第8d	100	54	2.70	g	G	细长
叶片中部	NAA 0.3	21	第7d	100	62	2.95	fg	FG	较细、较短
叶片基部		23	第5d	100	70	3.04	ef	EF	较粗、较长
根尖部		21	第6d	100	80	3.81	cd	BC	较粗、较短
根中部	NAA 0.3	20	第7d	100	75	3.75	d	CD	细长
根基部		24	第5d	100	97	4.04	bc	BC	较粗、较长

2.4 组培苗的炼苗、假植与移栽 在炼苗期间未发生感染,直接将组培苗移入塑料杯中。从表4可以看出把组培苗移到塑料杯中,鳞片中部、鳞片下部的再生植株移栽的成活率明显高于鳞片上部,且生长速度最快,生长情况最好,主要在于它们在生根培养中,根系的生长较好,根系比较健壮,对水分和营养液的吸收好,因此生长比较旺盛。而叶片的根系较短且纤细,也容易腐烂,对水分和营养物质的吸收差,移栽的成活率最低,生长缓慢。天气回暖后把所有的苗子移栽到大田,保持较高的湿度,早晨和傍晚让苗子充足光照,中午时间用遮阳网盖住,7d后,根系在沙土里扎实,苗子成活,成活率高达100%,组培苗生长旺盛,生长的速度比放在实验室时的要快。观察30d并记录兰州百合组培苗叶片的生长情况(见表5),发现外植体鳞片中部、鳞片下部、叶片的基部、根的基部所培养出的小植株的长势良好,叶片越来越长、越来越宽,小鳞茎上不时出现新生的叶片。而鳞片的上部、叶的上部、根的中部所培养出的小植株的生长情况一般,只有少数的苗出现新生叶片,且都比较纤细,原来的叶片大都开始萎蔫,有的只剩下小鳞茎。

表4 组培苗移栽到塑料杯炼苗假植后的生长状况

试管苗产生的部位	移栽苗数(株)	成活苗数(株)	成活率(%)	生长情况	生长速度	叶片性状
鳞片上	23	21	91.30	好	一般	一般,较长较细
鳞片中部	24	23	95.83	好	快	多,较长较宽
鳞片下部	27	27	100.00	优	快	多,较长较宽
叶片叶尖	20	17	85.00	一般	慢	少,较长较细
叶片中部	21	18	85.71	一般	一般	一般,较长较细
叶片基部	23	21	91.30	好	一般	多,较长较宽
根尖部	21	19	90.48	好	快	一般,较长较细
根中部	20	17	85.00	一般	一般	少,较长较细
根基部	24	23	95.83	好	快	多,较长较宽

表5 组培苗移栽大田后叶片生长状况

组培苗产生的部位	移栽苗数(株)	叶片长势	叶片数目	叶片长度(cm)	叶片宽度(cm)	平均每株叶片数	差异显著性	
							0.05	0.01
鳞片上	21	一般	53	5.0	0.6	2.53	c	BC
鳞片中部	23	较好	65	5.7	0.8	2.83	a	A
鳞片下部	27	很好	80	6.3	0.8	2.96	a	A
叶片叶尖	17	一般	28	4.1	0.5	1.65	g	G
叶片中部	18	一般	33	5.1	0.6	1.83	f	F
叶片基部	21	好	45	5.8	0.7	2.14	e	E
根尖部	19	良好	47	5.2	0.7	2.47	c	CD
根中部	17	一般	41	4.3	0.5	2.41	d	D
根基部	23	好	63	6.0	0.8	2.74	b	B

3 结论

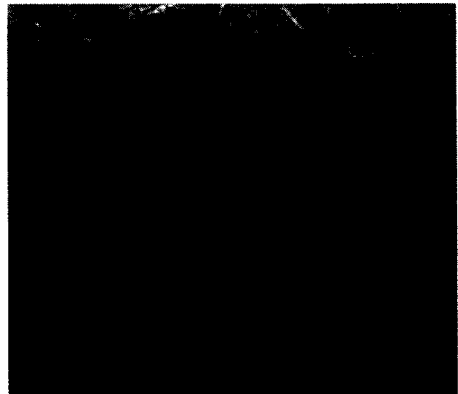


图1 鳞片下部生根培养30d后的试管苗



图2 鳞片下部生根培养30d后试管苗根的长势

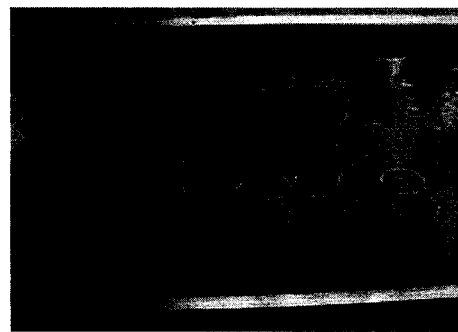


图3 试管苗炼苗移栽到塑料杯10d后的情况



图4 外植体鳞片下部诱导苗的假植移栽

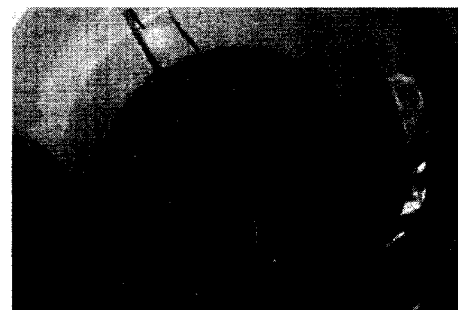


图5 外植体鳞片基部诱导苗的假植移栽

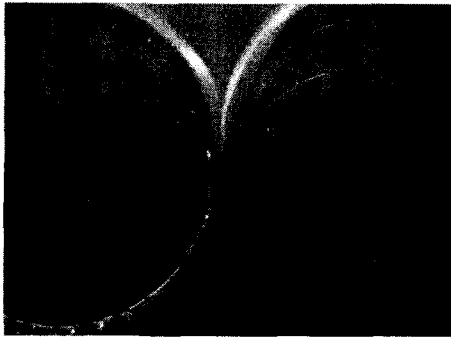


图6 外植体鳞片基部诱导苗的假植移栽

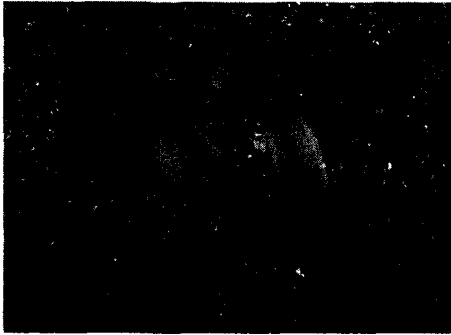


图7 鳞片基部组培苗在大田的生长状况



图8 鳞片基部组培苗在大田的生长状况

试验结果表明:用不同的外植体接种时均可诱导分化,但其诱导能力存在内在差异,由强到弱依次为:鳞片>

根>叶片。而且不同部位之间也存在差异,鳞片的不同部位之间强弱依次为:下部>中部>上部;根的不同部位之间由强到弱为:基部>根尖>中部;叶片的不同部位由强到弱为:叶基部>中部>叶尖。即兰州百合不同的外植体进行培养时得到的结果不同,以鳞片下部形成小鳞茎的能力最强,中部次之,上部分化小鳞茎的能力差。根段和叶片在培养中也存在不同部位之间的培养差异,根和叶的基部分化能力最强,根尖和叶的中部次之,根中部和叶尖最差。

参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志(第十四卷) [M]. 北京:科学出版社,1980, 148-149
- [2] 中国科学院武汉植物研究所. 湖北植物志(百合科) [M]. 武汉:湖北科学技术出版社,2001, 120-121
- [3] 刘芬,王发林. 兰州百合花丝组培诱导完整植株的研究[J]. 甘肃农业科技,2001,(6):29-30
- [4] Merel Langens - Ger., Marion Albers, G - J De Klerk. Hot - water treatment before tissue culture reduces initial contamination in Lilium and Acer. [J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 1998, (52): 75-77
- [5] Arzatefem, Nakazakit, Okumoto Y. Efficient callus induction and plant regeneration from filaments with anther in lily (L. longiflorum) [J]. Plant Cell Reports, 1997, (16): 836-849
- [6] Rybcynskij, Gomolinsk A H. 6 - benzyladenine control of the initial bulblets formation of wild Lily Lilium maaartagon L [J]. Acta Horticulturae. 1989, 251: 183-189
- [7] 李黛,谈锋. 诱导百合鳞片芽的影响因子研究[J]. 西南师范大学生命科学学报, 2004, 23(11): 158-160
- [8] 蒋细旺,司怀军. 百合的组织培养技术综述[J]. 湖北农业科学, 2004, (1): 78-82
- [9] 张伟华,刘清波,何欢. 兰州百合的组织培养和快速繁殖[J]. 长春理工大学学报, 2007, 1(3): 153-157 (责编:于惠惠)

省农委各单位坚持以巡视促工作

连日来,委属各单位党组织认真学习贯彻我委巡视动员大会精神,进一步提高对巡视工作重要性的认识,积极配合、大力支持巡视组的工作,努力做到巡视工作与本职工作“两结合、两促进”。

10月8日巡视动员大会结束后,委属单位79个党支部(总支、党委)和农机局分党组纷纷召开会议,传达、学习动员大会精神,组织开展讨论。正在济南参加第五届国际农交会的产业化处和农展馆党支部,在安徽农业网上收看了委巡视大会视频。大家在讨论中表示,通过听取或学习钱家荣组长和毕美家主任的讲话,进一步提高了对建立党的巡视制度重大意义的认识,进一步理解了省委决定派出巡视组对我委开展巡视的决定,进一步明确了这次巡视工作监督的对象、重点、主要内容、基本程序和具体要求。退休老干部、原巡视员郑之宽同志表示,开展巡视工作是,是十六大以来党建工作的创新,是增强党的生命活力的有效途径。省委对农委开展

工作巡视,是对农委党组的一次全面细致的“政治体检”,体现了对“三农”工作的高度重视,也说明对农委党组的工作寄予了厚望。省政协常委、原农委副主任陈业夫同志表示,巡视是党的多种监督形式之一。作为一名老党员,一定要本着实事求是原则,以“对组织负责、对同志负责、对自己负责”的态度,行使好监督的权利,支持巡视组的工作。

各单位党组织在学习讨论钱组长和毕主任讲话的同时,对张华建同志代表党组所作的工作报告进行了认真的讨论,认为这个报告全面、深刻,讲成绩实实在在,讲问题毫不回避,客观反映了近两年党组的工作,是一个实事求是的报告,充满了昂扬向上的精神。大家表示,要结合学习贯彻党的十七大精神,落实省委巡视组的要求,以更高的层次、更高的标准,帮助党组认真总结经验,分析不足,完善机制,定高标杆,谋划好明年和今后五年的“三农”工作,推进机关党风廉政建设和效能建设,奋力开创农业农村经济发展的新局面。