维普资讯 http://www.cqvip.com

不同激素对西伯利亚百合组织培养的研究

冯亦平[1] 王健梅[2] 李 珍[2]

(1. 山西农业大学，山西 太谷 030801；2. 长治职业技术学院，山西 长治 046000)

【摘 要】本文以西伯利亚百合不同外植体为试材，接种在培养基上（以NAA、6-BA两因素设计的9组不同培养基），进行愈伤诱导、出芽及生根。探讨不同因素对西伯利亚百合组织培养的影响，成功获得再生植株。结果表明，不同的激素浓度配比对西伯利亚百合组织培养会产生较大影响；愈伤的最佳诱导培养基为：(MS+0.05mg/L6-BA+0.2 mg/LNAA+0.8%琼脂 +3%蔗糖)；出芽最佳培养基为：(MS+0.05 mg/L6-BA+0.2 mg/LNAA+0.8%琼脂 +3%蔗糖)；其生根诱导最佳培养基为：(MS+0.2 mg/L6-BA+0.1mg/LNAA+0.8%琼脂 +3%蔗糖)。

【关键词】西伯利亚百合；组织培养；激素

中图分类号：S681.9 文献标识码：C

西伯利亚百合属东方系百合，是由天香百合(L.Auratum Lindl.)、药百合（L.Seciosum Thunb.）等百合品种杂交获得的著名百合品系。其茎杆硬度大，花杆挺直，花白色，大而美丽，开放时香气宜人，是近年来非常受消费者欢迎的鲜切花之一[1]

目前国内主要通过从荷兰进口种球进行繁殖，由于分株繁殖系数低，不能满足市场需求，为了降低成本，实现种球国产化，进行西伯利亚百合的组织培养研究已十分必要。应用植物组织培养生产观赏植物，具有不受地区、季节与气候限制，便于工厂化生产等优点，并且组织培养中的细胞生长速度要比植物正常生长速度快[2~3]，生产周期短。

本实验以西伯利亚百合的叶片 幼芽为外植体，挑选了两种激素的不同水平，合理的设计了试验。通过观察记录不同培养基中西伯利亚百合叶片及幼芽的生长情况，探讨了不同激素种类、不同激素浓度及相互配合对其愈伤诱导、出芽生根及成苗的影响，最终筛选出适合西伯利亚百合组织培养的一种培养基。

1 实验部分

1.1 实验材料

实验材料是西伯利亚百合无菌苗，由生命科学学院组培实验室提供。

1.2 实验方法

1.2.1 诱导愈伤组织的形成及不定芽的发生

选取健康浓绿的叶片，将四周叶边切去，取叶片中间的部分（边长5mm的正方小块），接种于表1培养基（以NAA、6-BA为二因素，采用正交设计，得到的9种培养基），每处重复8次。

表1 培养基配方

组数	MS	6-BA (mg/l)	NAA (mg/l)	蔗糖 (%)	琼脂 (%)
1	MS	0.05	0.05	3	0.8
2	MS	0.05	0.1	3	0.8
3	MS	0.05	0.2	3	0.8
4	MS	0.2	0.05	3	0.8

* 基金项目：山西农业大学科技创新基金项目（2004085）

维普资讯 http://www.cqvip.com

续 表

组数	MS	6－BA（mg/l）	NAA（mg/l）	蔗糖（%）	琼脂（%）
5	MS	0.2	0.1	3	0.8
6	MS	0.2	0.2	3	0.8
7	MS	2.0	0.05	3	0.8
8	MS	2.0	0.1	3	0.8
9	MS	2.0	0.2	3	0.8

1.2.2 诱导不定芽形成不定根

带不定芽长至3cm左右时，将其从愈伤组织切取下来，接种到生根培养基上（见表1）。接种45d后统计实验结果（如表4）。

1.2.3 培养条件

接种后的将培养瓶放入光照培养箱，在每天光照12h，光照强度2500lx，温度（25±2）℃的条件下进行培养，并每隔3天记录一次。

3 结果与分析

3.1 激素对外植体形成愈伤组织的影响

40d后统计实验结果（见表2）。由表2可以看出：添加了不同激素配比的培养基对愈伤组织的诱导率、愈伤组织的生长势、质量均有不同的影响。在7、8、9组处理中，激素6－BA的浓度为2.0 mg/l时，愈伤诱导率普遍较低，外植体易发生褐变，甚至褐变后死亡，不易形成愈伤组织，总体生长缓慢。在3、6、9组处理中，激素NAA的浓度为0.2 mg/1时，三组愈伤诱导率普遍较高，但生长缓慢。在第5组处理中，6－BA/NAA（mg/L）的浓度为0.2/0.1，愈伤诱导率较高(56.25%)，但总体生长较慢；在第3组中，6－BA/NAA（mg/L）的浓度为0.05/0.2，愈伤诱导率也较高（50.00%）仅差第5组处理的诱导率6.25%，且生长较快，愈伤组织生长较好。所以较理想诱导愈伤组织的培养基是（MS＋0.05 mg/L6－BA＋0.2 mg/LNAA＋0.8%琼脂 ＋3%蔗糖）。

表2 6－BA、NAA的使用与叶片愈伤组织诱导的影响

组数	总株数	愈伤数	愈伤诱导率（%）	颜色 生长状况	长势
1	32	6	18.7	绿色 生长微弱	＋
2	32	5	15.62	绿色粗壮 生长较快	＋＋＋
3	32	16	50.00	绿色 生长较快	＋＋＋
4	32	2	6.25	绿色 生长较快	＋＋＋
5	32	18	56.25	绿色矮小 生长缓慢	＋
6	32	12	37.5	绿色 生长缓慢	＋
7	32	3	10.00	褐色 生长缓慢	＋＋
8	32	2	6.25	褐色 生长微弱	＋
9	32	1	3.13	褐色 生长缓慢	＋

注：＋表生长势不明显；＋＋ 一般；＋＋＋ 较好；＋＋＋＋ 好

3.2 激素对外植体不定芽发生的影响

有些愈伤组织长到一定时期，开始发生不定芽。是否形成不定芽，以及不定芽的多少，与培养基中的激素种类和浓度有关（见表3）。

维普资讯 http://www.cqvip.com

表3 6－BA、NAA的使用对外植体的出芽的影响

组数	外植体株数	污染株数	出芽株数	出芽率（%）	长势
1	32	0	15	46.88	＋＋
2	32	0	17	53.13	＋＋＋
3	32	0	10	31.25	＋＋
4	32	0	11	34.38	＋＋＋
5	32	0	9	28.13	＋＋
6	32	0	12	37.50	＋＋＋＋
7	32	0	3	9.38	＋
8	32	0	2	6.25	＋＋
9	32	1	0	0	＋＋＋

注：＋表生长势不明显；＋＋ 一般；＋＋＋ 较好；＋＋＋＋ 好。

由表可知：当NAA的浓度为0.1mg/L时的出芽率和0.05mg/L时的出芽率相近，但前者比后者生长较快。相比较选择NAA浓度为0.01 mg/l更合适。在第7、8、9组中，使用激素6－BA的浓度过高时2.0mg/L，不适合芽的发生。总体比较第1组的出芽率46.88%，但长势一般。而第2组的出芽率为53.13%，且长势较好。故6－BA和NAA配合使用时，适合诱导不定芽形成的培养基是（MS＋0.05 mg/L6－BA＋0.2 mg/LNAA＋0.8%琼脂 ＋3%蔗糖）。

3.3 激素对不定芽生根的影响

表4 6－BA与NAA配合使用对外植体叶生根的影响

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
IBA/NAA（MG/L）	0.05/0.05	0.05/0.1	0.05/0.2	0.2/0.05	0.2/0.1	0.2/0.2	2.0/0.05	2.0/0.1	2.0/0.2
污染数	0	0	0	0	0	0	0	0	0
总根数	多	较多	多	多	较多	多	极少	极少	极少
生根数/总植株	4/32	1/32	15/32	2/32	15/32	10/32	0/32	0/32	0/32
生根率（%）	12	3	46	6	47	31	0	0	0

注：总根数描述标准是非常多，较多，多，少，较少，极少。

由表4可以看出：在7、8、9组处理中，当6－BA的浓度为2.0mg/L时，变更NAA的用量，生根率为0，生根效果都不好。6－BA/NAA浓度为0.2/0.1的组合较6－BA/NAA浓度为0.05/0.2生根率相同情况下生根数多。所以较理想的诱导西伯利亚百合不定芽生根的培养基是（MS＋0.2 mg/L6－BA＋0.1mg/LNAA＋0.8%琼脂 ＋3%蔗糖）。

4 讨论

4.1 褐化问题

在试验过程中，所采用的叶片外植体发生了大量褐变的现象。褐化现象在植物组织培养中普

维普资讯 http://www.cqvip.com

遍存在，它与菌类污染一样是植物组织培养的一大难题。目前认为，植物组织培养中褐变是由于多酚氧化酶（PPO）催化分类化合物形成醌，会对外植体材料产生毒害作用，影响其生长分化严重会导致死亡[5]。实验中叶片的褐变可能有三个原因：1、外植体材料本身的取材问题：一般植物的不同部分易褐变的程度不同[6]，本实验中百合叶褐变程度较高；2、激素的影响：激素使用不当也会影响发生褐变。添加6－BA水平值大（7、8、9组）的培养基褐化数较其它组严重，这点与前人的研究结论——6－BA能促进酚类化合物的合成还能提高多酚氧化酶的活性一致。3、操作伤害：一般外植体越小切面与体积的比例越大，就越容易褐变[7]，应尽可能的减少其伤口面积伤口切面尽可能平整，同时酒精消毒对外植体也会有一定的伤害。

4.2 愈伤组织变红

当某些诱导供应不足时，培养的植物会出现一些症状，N不足时，培养基组织有表现出花色苷的颜色（红、紫红）。据此分析，本实验部分处理中微红或变紫现象应是由于培养基成分缺乏而造成的。但是，并非每一个处理下所有培养皿中都存在此现象，所以并不是母液配置缺失元素。考虑可能是外植体本身的原因。

4.3 植株黄化

在组培过程中由于培养基成分、环境、激素、碳水化合物等各种因素引起的幼苗整株失绿，全部或部分叶片黄化、斑驳。这一现象在植物组织培养中比较常见，特别在部分木本花卉中较为常见[8]。本实验引起黄化的主要原因，可能是长时间不换培养基糖已耗尽。

4.4 结论

实验最终得出，实验设计的两种因素（6－BA；NAA）对西伯利亚百合组织培养繁殖技术体系的研究表明：

①外植体叶片愈伤组织的形成过程中，采用愈伤组织培养基是（MS＋0.05 mg/L6－BA＋0.2 mg/LNAA＋0.8%琼脂 ＋3%蔗糖），生长效果较好。其中使用激素6－BA的浓度过高，易使外植体发生褐变，甚至褐变后死亡。

②适合不定芽发生的培养基是（MS＋0.05 mg/L6－BA＋0.2 mg/LNAA＋0.8%琼脂 ＋3%蔗糖）。

③较好的生根培养基是（MS＋0.2 mg/L6－BA＋0.1mg/LNAA＋0.8%琼脂 ＋3%蔗糖）。

参考文献

[1]赵庆芳等.西伯利亚百合的组织培养和离体快繁.甘肃科学学报.2003,(4)

[2]Mante S, Scoria R, Cordts J M. Plant regeneration from cotyledons of Prunus persica, Prunus clanestica and Prunus cerasus. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 1989, 19(1): 1－11

[3]Pedrotti E L, Comu D. Bud formation from roots of micropropagated Prunus avium L. plantlets. ActaHort, 1991, 28(9): 141－142

[4]陈小兰.金百合的离体快速繁殖[J].离体快速繁殖, 2000, 36(4): 334.

[5]韩磊,汪旭东,吴先军等.植物组织培养技术及其应用研究进展.种子(Seed).2005,24(1):38

[6]黄敏玲.百合离体快速繁殖[J].植物生理学通讯, 1993, 29(6): 437.

[7]巩振辉.花卉的脱毒与快繁新技术.西安:西北农林科技大学:36

[8]王红霞.通江百合的组织培养[J].植物生理, 1996, 24(5): 207

Effect of the different hormones to Siberia's tissue culture

Feng Yiping[1] Li Zhen[2] Wang Jianmei[2]

(1. Shanxi Agricultural University Shanxi Taigu 030801, China; 2. Changzhi Occupational and Technical College Shanxi Changzhi 046000, China)

Abstract: Study was conducted with explants of Siberia which were planted on different media to induce calla and buds, and then take roots. These media were made up with different ratio of two hormones, which were added to MS medium. Then we studied the effect of different hormones concentration on explants and then get many regenerating plants. The results showed that there were significant differences among different hormones concentration. MS＋0.05mg/l 6－BA＋0.2mg/l NAA ＋ 0.8% agar＋3% sucrose was the best medium to induce calla. MS＋0.05 mg/L6－BA＋0.2 mg/L NAA＋0.8% agar＋3% sucrose was the best sprout medium. MS＋0.2 mg/L6－BA＋0.1mg/L ＋0.8% agar ＋3% sucrose was the best medium, which takes roots.

Keywords: Siberia; tissue culture; hormones

作者简介：冯亦平（1968－），主管医药师，学士学位，从事中药材研究。