

东方百合(*Lilium oritential*)组织培养研究侯娜¹, 郭军战^{1*}, 王港¹, 张声凯²

(1. 西北农林科技大学 林学院, 陕西 杨陵 712100; 2. 山东省蓬莱市潮水镇林业站, 山东 蓬莱 265617)

摘要:以东方百合“索邦”为研究对象,对东方百合组织培养技术进行研究。结果表明:起始培养所用材料的基部诱导率明显高于上部,鳞茎分化芽的数量明显多于鳞片;MS+0.1 mg·L⁻¹ BA+0.1 mg·L⁻¹ NAA 为最佳鳞茎诱导培养基;MS+0.1 mg·L⁻¹ BA+0.3 mg·L⁻¹ NAA 为最佳鳞茎增殖培养基;用 1/2MS+0.1 mg·L⁻¹ IBA 培养基进行生根培养,取得良好的效果。

关键词:东方百合;组织培养;增殖系数

中图分类号:S682.290.3

文献标识码:A

文章编号:1001-7461(2008)03-0120-03

Tissue Culture of *Lilium oritential*HOU Na¹, GUO Jun-zhan¹, WANG Gang¹, ZHANG Sheng-kai²

(1. College of Forest, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China; 2. Chaoshui Township Forestry Station, Penglai, Shandong 265617, China)

Abstract: The oriental lily (*Lilium oritential*) squamas of “Sorbonne” were used as explants for tissue culture. The results showed that the induced rate of bottom squamas was better than that of top squamas, more buds were induced per squamas than leaf; The best medium for bud initiation was MS + 0.1 mg·L⁻¹ BA + 0.1 mg·L⁻¹ NAA. The best medium for the propagation of cluster shoots was MS + 0.1 mg·L⁻¹ BA + 0.3 mg·L⁻¹ NAA. The good medium for rooting of seedlings was 1/2MS + 0.1 mg·L⁻¹ IBA.

Key words: *Lilium oritential*; tissue culture; progenitive coefficient

东方百合(*Lilium oritential*)为百合科百合属多年生球根花卉,除供观赏外还兼有药用、滋补等价值^[1-3]。目前,观赏百合主要以东方百合、亚洲百合和麝香百合为主,尤其是东方百合中的一些品种,如“西伯利亚”、“索邦”、“马可波罗”等花大美丽且清雅脱俗,芳香宜人,受到人们的广泛青睐,栽培规模不断扩大,在市场上占有很大的比重^[4],是目前国际上十分畅销的花卉之一。

东方百合种子高度败育^[5],常采用传统的鳞茎球繁殖,繁殖速度缓慢,在短期内难以满足市场需求。国内主要通过进口种球进行生产,为了降低生产成本,实现种球的自主繁育,组织培养无疑是一种最佳的途径^[1-6]。目前,已经有学者对东方百合的组织培养技术进行研究,杨薇红等^[4]对亚洲百合花器官进行了组培,Joong 等^[7]对 Casa Blanca 等几个百合品种组织培养技术进行了研究,但诱导率、增殖率

等较低。笔者以东方百合中的重要品种“索邦”为研究对象,进行组培研究,进一步完善东方百合组织培养技术和方法。

1 材料与方法

1.1 材料

试验材料为由陕西荣基园艺有限责任公司提供的由荷兰引进的东方百合“索邦”种球。

1.2 方法

1.2.1 消毒 取健康无病虫害的鳞片和鳞茎,用自来水冲洗干净,70%酒精浸泡 30 s,再用 0.1%的升汞消毒 12 min,无菌水冲洗 5~6 遍,备用。

1.2.2 小鳞茎的诱导培养 将鳞片和鳞茎分基部、中部、尖部 3 个部分,鳞片切成 0.5 cm×0.5 cm 大小,外侧向下;鳞茎切成 2~3 mm 厚的薄段,基部向下,接入诱导培养基中培养。

收稿日期:2008-03-07 修回日期:2008-03-28

作者简介:侯娜(1983-),女,陕西户县人,硕士研究生,主要从事林业生物技术研究。

* 通讯作者:郭军战。

以 $0.1, 0.3, 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ BA、NAA 进行正交组合,研究 BA 与 NAA 浓度对比对东方百合芽的诱导,15 d 后观察结果。

以 1/4MS、1/2MS、MS 分别代表低盐、中盐、高盐浓度的培养基,添加 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ BA + $0.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA。接入外植体,15 d 后观察诱导结果。

培养条件:温度 $25 \pm 2 \text{ }^{\circ}\text{C}$,光照强度 2000 lx ,光照时间 $12 \text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$ 。25 d 后观察诱导情况。

1.2.3 小鳞茎的增殖培养 将培养成熟而未进行生根培养的小苗剪去叶片,只留下小鳞片和叶柄,将鳞片和叶柄剥下,接入分化培养基 MS + $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ BA + $0.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA 中,进行增殖培养,30 d 后统计增殖率。

将长度为 $0.2 \sim 1.0 \text{ cm}$ 的小芽接入 MS + $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ BA + $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA 和 MS + $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ BA + $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IBA 的培养基中培养,比较不同生长素对增殖培养的影响。

在培养基 MS + $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ BA + $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IBA 和 MS + $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ BA + $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IBA 中分别加入 $3 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的活性炭,同时以不加活性炭为对照。接入长度为 $0.2 \sim 1.0 \text{ cm}$ 的小芽进行培养,比较活性炭对增殖培养的影响。

1.2.4 生根培养 将健壮的芽子接在 $0.1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ IBA + $3 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 活性炭 + 1/2 MS 培养基上进行生根培养。

2 结果与分析

2.1 小鳞茎的诱导

2.1.1 鳞片、鳞茎不同部位诱导的效果 由表 1 知,不同部位百合鳞片分化小鳞茎的能力不同。鳞茎由下而上诱导出的芽数逐渐减少,且靠顶部的材料在切口形成了一薄层愈伤。鳞片也表现出下部诱

导芽子多,向上逐渐减少,但无愈伤组织形成。这与在西伯利亚百合、东方百合、兰州百合等的研究结果一致^[8-14]。鳞茎诱导的芽子数量明显多于鳞片,且质量较好(图 1-a、图 1-b)。

2.1.2 IBA 与 NAA 组合对芽诱导的影响 研究表明,IBA 和 NAA 对芽诱导差异较大。在 MS + $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ BA + $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA 和 MS + $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ BA + $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IBA 的培养中,前者诱导的芽生长健壮,几乎没有根的形成,且易与原外植体分离,而后者诱导出的芽生长细弱,且同时诱导出了较多的根。表明 NAA 较 IBA 更适合于东方百合芽的诱导(图 1-a、图 1-c)。

表 1 不同部位诱导效果

Table 1 Inducing results with different parts

材料	诱导率/%	平均诱导芽数	芽子质量
上	100	2.1	芽壮实,长到 1.5 cm 左右时开始有根出现
鳞茎中	100	6.3	芽壮实,长到 1.5 cm 左右时开始有根出现
下	100	10.5	芽壮实,长到 1.5 cm 左右时开始有根出现
上	100	1.2	芽相对较弱,在 0.5 cm 时即有根出现
鳞片	100	2.5	芽相对较弱,在 0.5 cm 时即有根出现
下	100	3.9	芽相对较弱,在 0.5 cm 时即有根出现

2.1.3 不同浓度 BA 与 NAA 对比对东方百合芽的诱导 由表 2 知,随着 BA 浓度的增加,诱导芽的数量增多,同时芽相对弱小。随着 NAA 浓度的升高,诱导出大量的根,在 NAA 浓度高时,根粗壮(3 号、6 号),相反则根较细弱(8 号)。可以看出,以②号效果最为理想(图 1-a、图 1-b)。④~⑦、⑨号诱导的芽数虽多,但芽生长缓慢,延长了培养时间。

表 2 不同激素浓度对比对芽诱导的影响

Table 2 The effect of different concentration of incertion for buds inducing

培养基编号	培养基配方	诱导率/%	平均诱导数/个	芽子质量
①	MS+BA0.1+NAA0.1	100	6	芽小,根多,细长,多根毛
②	MS+BA0.1+NAA0.3	100	6	芽健壮、生长快。1/3 左右材料出现粗而短的根
③	MS+BA0.1+NAA0.5	100	6	芽生长缓慢,根粗壮
④	MS+BA0.3+NAA0.1	100	7	芽仅分化不生长,根较少,愈伤组织多,玻璃化严重
⑤	MS+BA0.3+NAA0.3	100	7	芽瘦小,有根
⑥	MS+BA0.3+NAA0.5	100	8	芽生长慢,根较多,根粗壮
⑦	MS+BA0.5+NAA0.1	100	9	芽生长缓慢,根短,细小,无愈伤组织
⑧	MS+BA0.5+NAA0.3	100	6	芽生长缓慢,根多,细小,且多根毛
⑨	MS+BA0.5+NAA0.5	100	7	芽生长缓慢,弱小,根粗短

2.1.4 不同盐浓度对芽诱导的影响 1/4MS 培养基诱导芽数平均为 $0 \sim 2$ 个,芽细小,且生成大量细

弱的根。1/2MS 培养基诱导芽数平均为 $2 \sim 5$ 个,芽长势良好,有稍粗壮的根形成。而 MS 培养基中

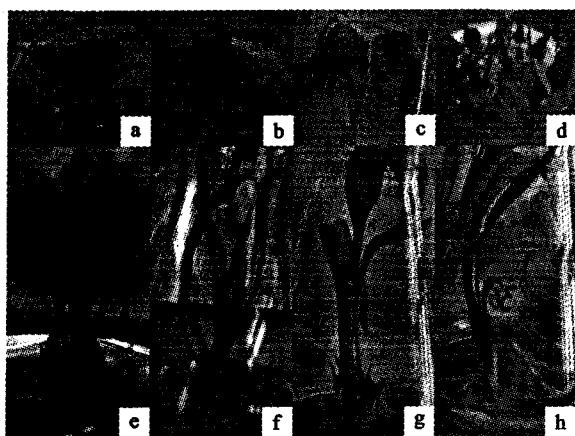
诱导芽数平均为 5~7 个,芽长势良好,几乎没有生根,直到 25 d 后才开始有根的生成。因此,高盐浓度的培养基较适合于东方百合芽的诱导培养,而低盐浓度有利于根的形成。

2.2 小鳞茎的增殖培养

研究表明,每个小鳞片能诱导生成 3~4 个芽,厚实的叶柄诱导的芽数在 1 个以上,增殖系数大于 20(图 1-d)。

2.2.1 IBA、NAA 对幼芽培养的影响 试验表明,在 $MS+0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{BA}+0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{NAA}$ 的培养基中,大于 0.4 cm 的小芽能快速生长(图 1-e),而小于 0.4 cm 的芽则生长缓慢甚至不生长。这与李爱华等^[15]对东方百合的研究结果相似。而在 $MS+0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{BA}+0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{IBA}$ 的培养基中,所有的芽都能快速生长,故若诱导的芽在分离时小于 0.4 cm,最好选用 $MS+0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{BA}+0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{IBA}$ 的培养基进行壮苗培养。

2.2.2 活性炭对幼芽培养的影响 研究表明,培养基中添加了活性炭后,对东方百合组织培养没有明显的影响(图 1-f、图 1-g)。



a. 鳞片诱导芽 b. 鳞片诱导芽 c. n 号培养基诱导效果
d. 利用小鳞片增殖 e. 幼苗培养 f. 未添加活性炭培养
g. 添加活性炭培养 h. 生根培养

图 1 鳞茎诱导效果

Fig. 1 The bulb inducing effect

2.3 小鳞茎的生根培养

百合在组织培养中一般极易生根,产生新芽。为了保持移栽苗的质量,最理想的情况是产生大量的根而不长出新苗。在培养基中,仅添加 $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{IBA}$ 和 $3\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 活性炭,取得了良好的效果(图 1-h)。

3 结论与讨论

在东方百合组织培养中,高浓度的激素容易引起材料分化愈伤组织或出现玻璃化等异常情况,这可能是由于百合本身激素水平较高或者百合对激素

较敏感引起的。因此,在试验过程中设计的激素浓度在 $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 以下。

东方百合对 NAA 和 IBA 在不同阶段的反应不同。在诱导分化芽时,NAA 效果明显优于 IBA,而在幼苗期,长度小于 0.4 cm 的幼苗对 NAA 反应迟钝,用 IBA 替代 NAA 能取得良好效果。

在东方百合培养的过程中,常分生出一些新的芽子,因此,一般的增殖途径是采用一边培养小芽子或一边生根,一边增殖^[14-15]。这种方式存在许多弊端,它既使得苗子大小参差不齐,又严重影响了移栽苗的质量,而且增殖系数不高,很难达到规模化、工厂化生产的要求。针对这些情况,本试验采用将培养成熟而未进行生根培养的苗子剪去叶片,只留下小鳞片和粗大的叶柄,将鳞片和叶柄剥下接入分化培养基中,以重新培养的方式进行增殖,增殖系数都在 20 以上。同时,长出的苗子大小均匀,且不影响生根移栽,更适宜大规模的工厂化生产。

参考文献:

- [1] 李浚明. 植物组织培养教程[M]. 第 2 版. 北京: 中国农业大学出版社, 2002, 48-60.
- [2] 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, 180-205.
- [3] 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, 45-60.
- [4] 杨薇红, 张延龙, 童斌, 等. 亚洲百合花器官的组培快繁技术研究[J]. 中国农学通报, 2004, 20(5): 193-195.
- [5] 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, 50-57.
- [6] 邵红波. 花卉园艺植物快速繁殖研究现状[J]. 植物杂志, 1994 (2): 20-22.
- [7] JOUNG H Y, SUNG M. In vitro propagation of *L. orientalybrid* 'Casa Blanca' and *L. lichenii* var. *tigrinum* as influenced by growth regulators and cultural explant[J]. Journal of Agriculture Science, 1995, 37(1): 378-383.
- [8] 唐道城, 孟明, 梁文玉. 东方百合杂种系愈伤组织分化小鳞茎的研究[J]. 青海大学学报(自然科学版), 2005, 23(5): 1-4.
- [9] 唐东芹, 黄丹枫, 唐克轩, 等. 东方百合鳞片的组织培养[J]. 植物生理学通讯, 2003, 39(5): 450-452.
- [10] 狄翠霞, 安黎哲, 张满效, 等. 西伯利亚百合器官离体培养及鳞茎的研究[J]. 西北植物学报, 2005, 25(10): 1931-1936.
- [11] 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, 2002, 38(1): 69-71.
- [12] 王家福, 陈振光. 百合快速繁殖条件的优化[J]. 福建农业大学学报, 1999, 28(2): 152-156.
- [13] 金淑梅, 杨利平, 吕品, 等. 细叶百合中内源激素的变化[J]. 东北林业大学学报, 2005, 33(1): 20-22.
- [14] 刘雅莉, 张剑侠, 潘学军. 东方百合“索邦”的花器官培养与快速繁殖[J]. 西北植物学报, 2004, 24(12): 2350-2354.
- [15] 李爱华, 杨柳, 陈慧玲. 东方百合组培快繁及试管苗健化栽培技术研究[J]. 湖北林业科技, 2006(3): 5-9.