

卷丹百合组培快繁技术的研究

王丽娟¹, 樊金萍², 车代弟² (1. 大庆油田物业集团园林绿化公司, 黑龙江 大庆 163000; 2. 东北农业大学园艺学院)

摘要:以卷丹百合珠芽为实验材料,以MS为基本培养基,对其组培快繁进行了研究,结果表明,适宜的小鳞茎诱导培养基为MS+1.0 mg/L NAA+0.5 mg/L 6-BA+0.1 mg/L KT;适宜的增殖培养基为MS+2 mg/L NAA+0.5 mg/L 6-BA+0.1 mg/L KT;适宜的生根培养基为1/2MS+0.2 mg/L IBA;诱导和快繁适宜的条件为光照16h/d,温度(25±1)℃。

关键词:卷丹百合;珠芽;组织培养;快繁

Studies on the technique of tissue culture and rapid propagation of *Lilium lancifolium* Thunb

WANG Li-juan et al (Daqing Oil Field Property Group Landscape Design Company, Daqing 163000, China)

Abstract: Using the bulblet from *Lilium lancifolium* Thunb as the explants to study rapid propagation and based on MS medium. The result indicated that the appropriate mediums for inducing bulblet was MS+1.0 mg/L NAA+0.5 mg/L 6-BA+0.1 mg/L KT; The best optimum medium for differentiation and subculture was MS+2 mg/L NAA+0.5 mg/L 6-BA+0.1 mg/L KT. The best medium for rooting was 1/2MS+0.2 mg/L IBA. The appropriate culture condition for bulblet induction and rapid propagation was light period of 16 h and temp of (25±1)℃.

Key words: *Lilium lancifolium* thunb; bulblet; culture; rapid propagation

百合植物资源丰富,栽培历史悠久,百合花大美丽且清雅脱俗、芳香宜人,被人们视为纯洁、光明、自由和幸福的象征,是国际上十分畅销的花卉之一。卷丹属于亚洲系百合,其抗寒性强,可在北方露地越冬,一般靠种球进行无性繁殖,但是因长期营养繁殖,病毒积累而影响品质,因此,应用现代科学方法进行组织培养百合,可在短期内获得保持原有品种优良性状的大量脱毒苗,还可用于新品种选育上。本研究在前人研究的基础上,对卷丹百合 *Lilium lancifolium* Thunb 离体快繁进行了初步研究。

1 材料与方法

1.1 材料

卷丹百合珠芽

1.2 试验方法

1.2.1 外植体表面灭菌条件的筛选

取当年新生珠芽先用流动水冲洗30min后,用75%酒精浸30s,再用0.1%升汞分别消毒3min,5min,8,10min,然后用无菌水冲洗5~6次,放在培养基上,观察污染情况。

1.2.2 小鳞茎诱导最适培养基和培养条件筛选

以MS为基本培养基,附加不同浓度的NAA,6-BA,KT。NAA设0.5mg/L,1mg/L,2mg/L 3个浓度梯度。6-BA设0.1mg/L,0.2mg/L,0.5 mg/L。KT设0.05mg/L,0.1mg/L,0.2 mg/L^[1]。

对NAA浓度,6-BA浓度,KT浓度进行了3因素3水平的L9(34)正交试验,

试验因素水平见表1。每个处理90块外植体,重复3次,30d后调查小鳞茎分化情况^[2]。

表1 试验因素和水平表

因素		水平		
		1	2	3
A	NAA 浓度	0.5	1	1.5
B	6-BA 浓度	0.1	0.2	0.5
C	KT 浓度	0.05	0.1	0.2

1.2.3 增殖快繁最适培养基筛选

将诱导出的鳞茎丛,切取一部分接种于不同的培养基上,培养基以分化培养基为基础对NAA设置4个浓度,分别为0.5 mg/L,1 mg/L,2 mg/L,2.5 mg/L,培养35d后观察增殖生长情况。

1.2.4 生根及驯化移栽

将产生的小鳞茎从基部切下,接种于生根培养基上1/2MS+0.2 mg/L IBA。

2 结果与分析

2.1 外植体表面灭菌条件

从试验结果看出,用75%酒精浸30s,再用0.1%升汞浸5min,最后用无菌水冲洗5~6次,可以达到最好效果,污染率最低。

2.2 小鳞茎的诱导

接种15d后外植体开始膨大,30d后可以形成小鳞茎。

对正交试验进行极差分析,极差顺序RA(34.97)>RC(24.63)>RB(5.8),说明各因素对小鳞茎诱导率的影响作用NAA>KT>6-BA。

比较各因素的k值,最大的k值分别是:因素A的k₂=82.27,因素B的k₃=

表2 正交试验方案及结果

试验	A	B	C	评价指标诱导小鳞茎率(%)
1	1	1	1	46.5
2	1	2	2	56.8
3	1	3	3	38.6
4	2	1	3	64.5
5	2	2	1	86.7
6	2	3	2	95.6
7	3	1	2	78.3
8	3	2	3	60.8
9	3	3	1	72.5
K ₁	141.9	189.3	171.8	
K ₂	246.8	204.3	230.7	
K ₃	211.6	206.7	163.9	
k ₁	47.3	63.1	52.27	
k ₂	82.3	68.1	76.9	
k ₃	70.5	68.9	54.63	
R	35.0	5.8	24.63	

68.9,因素C的k₂=76.9。因此最佳试验组合及最佳小鳞茎再生体系的建立应为:NAA1.0mg/L,6-BA0.5mg/L,KT0.1mg/L。

2.3 增殖快繁最适培养基筛选

接种后半个月鳞茎丛开始增殖,一个月后可产生大量的小鳞茎。由表3可以看出2号培养基(MS+2.0mg/LNAA+0.5mg/L 6-BA+0.1 mg/L KT)增殖效果最好。

表3 最适培养基筛选结果

编号	培养基配方	接种数(个)	总芽数(个)
1	MS+0.5mg/LNAA+0.5 mg/L6-BA+KT0.1mg/L	30	262
2	MS+1.0mg/LNAA+0.5 mg/L 6-BA+KT0.1mg/L	30	286
3	MS+2.0mg/LNAA+0.5 mg/L 6-BA+KT0.1mg/L	30	320
4	MS+2.5mg/LNAA+0.5 mg/L 6-BA+KT0.1mg/L	30	265

2.4 生根及驯化移栽

细叶百合的组织培养研究

金淑梅¹, 吕 品², 李 黎², 杨利平³

(1. 东北林业大学园林植物与观赏园艺学院, 黑龙江 哈尔滨 150040; 2. 黑龙江省科学院自然资源研究所; 3. 河北农业大学)

摘要: 探讨细叶百合(*Lilium pumilum*)鳞片不同切段的培养效应; 结果表明, 最适合鳞片分化的激素组合为 MS + BA0.5mg/L + NAA0.01 mg/L; 不同部位鳞片分化小鳞茎的能力大小依次为外层、中层、内层; 对鳞片分割处理可显著增加单个鳞片分化小鳞茎的数量, 分化能力大小依次为下部、中部、上部; 4 年生鳞片分化能力最好。

关键词: 细叶百合; 离体培养; 外植体位置效应

Study on *Lilium pumilum* tissue culture

JIN Shu-mei et al (Northeast Forestry University, Harbin 150040, China)

Abstract: Selected bulb scales of *L. pumilum* as explants, by means of in vitro culture the bulb scales were cultivated in minimal medium supplemented with hormone (BA and NAA) of different concentration. The research shows that the most adaptable combination for bulblet subculture was BA 0.5 mg/L and NAA 0.01 mg/L. different parts of bulb scale. The out layer bulb scale and the lower parts, the higher differentiation frequencies. The four-year-growing bulbs reproduces more bulblets than those from the others.

Key words: *Lilium pumilum*; away part of the body tissue culture; place effect of outer planting part of the body

随着百合在国内外鲜切花市场走俏, 百合花生产和消费逐年增加, 但由于百合种球繁殖率低, 病毒侵染造成退化, 难于满足切花生产需要。目前主要采用组织培养进行百合脱毒和快繁, 以促进百合商品种球的生产。

关于组织培养方面的报道自 1957 年 Robb 培养鳞片成功以来, 百合的鳞片、叶片、茎尖、茎段、花药、花丝、花梗等器官通过培养, 先后获得了完整植株^[1]。新美芳二在 1985 年对百合的花被片、花丝、花柱及茎等不同部位组培, 指出形成子球的能力与取样部位有关^[2]。1992 年赵祥云用珠芽进行组培和脱毒研究^[3], 1999 年汪有良通过组培对南京百合进行快速繁殖^[4]。王家福、陈振光对百合的 9 个优良品种进行了快速繁殖条件优化的研究, 主要对鳞片的繁殖条件与能力作了研究, 结果指出在组培中, 不同部位百合鳞片分化小鳞茎的能力不一^[5]。

1 材料与方法

1.1 材料

实验材料 取自东北林业大学花圃内

栽培的 2~4 年生的细叶百合鳞茎, 接种部位为不同年龄段百合的外、中、内层及同一层鳞片的上、中、下部。

1.2 方法

1.2.1 外植体消毒与接种

将鳞茎在超级工作台用 70%酒精冲洗 30s, 用 10%Ca(ClO)₂ 溶液消毒 25min 后, 用无菌水反复清洗多次。消毒后鳞茎分别切取上、中、下 3 段, 每段大小为 1cm² 进行接种。

1.2.2 培养条件

接种后, 放在实验室的人工气候箱内, 在 20℃, 光强为 36Lx, 全天光照条件下培养。

2 结果与分析

2.1 小鳞茎发生情况

接种后 7d 左右, 部分鳞片切块变成紫红色。约在接种 10d 后, 切块的边缘上诱导出淡黄色的不定芽原基, 呈环状突起, 这些不定芽原基继续生长可抽出绿白色的小鳞茎, 在小鳞茎基部发生一些粗壮的根。30d 左右, 绝大部分小鳞茎长成 3~5cm 高的小苗。

2.2 不同激素组合对百合鳞片分化小鳞茎能力的影响

本实验以 2 年生细叶百合的鳞片为外植体共设 4 个组合: (1) MS; (2) MS + BA 0.5 mg/L + NAA 1mg/L; (3) MS + BA 0.5 mg/L + NAA 0.1mg/L; (4) MS + BA 0.5mg/L + NAA0.01mg/L。

由表 1 可见, 4 个组合均可诱导百合鳞片分化小鳞茎, 但不同激素组合对百合鳞片分化小鳞茎能力有明显影响, 各个组合的分化率不同, 其中以 MS+BA0.5 mg/L+NAA0.01mg/L 较为适合, 其分化率为 73.33%。有研究指出, 南京百合组培时, 若培养基中 BA/NAA 比值较大, 小鳞茎只长小苗, 苗基本没根; BA/NAA 比值较小, 小鳞茎均不抽苗, 只是继续生长, 可长成紫

表 1 不同激素组合对百合鳞片分化小鳞茎能力的影响

组 合	接种鳞片数(个)	分化鳞片数(个)	分化率(%)
MS	15	7	46.67
MS+BA0.5+NAA1	15	7	46.67
MS+BA0.5+NAA0.1	15	9	60.00
MS+BA1+NAA0.01	15	11	73.33

小鳞茎长到 2~3cm 左右时切下 并转入生根培养基上, 10d 左右开始生根。试管苗长到 8cm 左右时移栽, 移栽前需适当炼苗。在组培室内打开瓶口自然炼苗 1 周后, 小心取出用清水冲洗根部残留培养基后栽入消毒过的基质中。种植 1 个月后即

可长出叶片, 移栽苗成活率达 95% 以上。

3 讨论

本试验以卷丹小鳞茎为外植体, 试验中发现以鳞茎做外植体褐化现象严重, 由于时间原因没有找到适合抗褐化的培养基, 在以后的试验中将继续探讨。

参考文献:

- [1] 谭文澄, 戴策刚. 观赏植物组织培养技术 [M]. 北京: 林业出版社, 2004.
 - [2] 徐中儒. 农业试验最优回归设计 [M]. 哈尔滨: 黑龙江科学技术出版社, 1988.
- 作者简介: 王丽娟 (1966~), 女, 工程师, 经理。
(2006-02-22 收稿 X 编辑)