

卷丹的组织培养及快繁研究初报

徐 皓, 杨培君, 李会宁

(陕西理工学院生物科学与工程学院, 陕西汉中 723001)

摘 要: 以卷丹的鳞片作为外植体, 比较不同激素浓度对比对鳞片的诱导增殖效果。结果表明, 卷丹鳞片的最佳诱导培养基为 MS+6-BA2.0 mg/L+NAA0.2 mg/L, 可诱导出生长势较强、数量较多的不定芽; 最适合的增殖培养基为 MS+6-BA1.0 mg/L+NAA0.2 mg/L。

关键词: 卷丹; 鳞片; 组织培养

中图分类号: S682.2

文献标识码: A

文章编号: 1004-1389(2008)04-0290-04

Preliminary Study on Tissue Culture and Rapid Propagation of *Lilium lancifolium* Thunb.

XU Hao, YANG Pei-jun and LI Hui-ning

(School of Biological Science & Engineering, Shaanxi University of Technology, Hanzhong Shaanxi 723001, China)

Abstract: Using the bulb scales from *Lilium lancifolium* as the explants, inoculation methods and the effect of plant hormones on inducement and proliferation were compared. The result indicated that the regeneration ability of external scales was better than the middle ones, which was better than the internal ones. The paraxial scales that faces upward were tend to induce buds, reversely, the paraxial scales that faces downward were tend to induce callus. The appropriate mediums for inducing bulb scales was MS +6-BA1.5 mg/L +NAA0.2 mg/L in which a large number of adventitious buds grew strongly. The best optimum medium for differentiation and subculture was MS +6-BA1.0 mg/L +NAA0.2 mg/L.

Key words: *Lilium lancifolium*; Bulb scales; Tissue culture

卷丹(*Lilium lancifolium*), 又名倒垂莲, 虎皮百合, 是多年生草本, 为百合科(Liliaceae)百合属(*Lilium*)的多年生球根类花卉。具白色广卵球状鳞茎, 茎褐色或带紫色, 被白色绵毛; 单叶互生, 长圆状披针形, 上部叶腋常具珠芽; 花3~20朵, 下垂, 橙红色, 花被片反卷, 内面具紫黑色斑点^[1]。卷丹百合鳞茎含少量蛋白质、淀粉、脂肪及微量秋水仙碱, 为滋养强壮、镇静、祛痰药, 茎、叶还具有消炎止痛的作用, 具有一定的药用价值; 鳞茎中含有淀粉, 故可用其提取淀粉及煮熟或淹渍后食用, 还可酿酒, 具有一定的食用价值; 除此之外, 花朵大, 姿态美, 花期长, 可作为花坛栽植或盆栽, 还是

切花产品的主要来源, 极具观赏价值^[2]。为了提高百合的快速繁殖, 充分开发和利用这一资源, 国内学者在百合的组织培养方面做了大量探索和研究。目前, 百合的组织培养可以利用许多部位, 如鳞茎、鳞片、珠芽、花粉、叶片、花瓣、花托等器官或组织作外植体, 大规模的生产都能顺利的再生出小植株, 移栽也有较高的成活率。据不完全统计, 已培养成功的种及杂种约有三、四十种^[3]。其中毛百合(*L. dauricum*)、麝香百合(*L. longiflorum*)、火百合(*L. star gazer*)、青岛百合(*L. tsingtauens*)、细叶百合(*L. pumilum*)、宜兴百合(*L. leucanthu*)、精粹百合(*L. pithy*)、南川百合

收稿日期: 2007-11-20 修回日期: 2008-02-29

基金项目: 陕西理工学院科研基金(SLG0627)。

作者简介: 徐 皓(1972-), 女, 陕西汉中人, 副教授, 硕士, 从事植物学及系统分类学研究。E-mail: xh2003@126.com

(*L. rosthomii*)、野百合(*L. browniif*)等都是以百合球茎鳞片进行离体组织培养研究,探讨丛生芽诱导、继代增殖培养、生根培养及移栽等方面的快速繁殖技术^[4-12]。

本研究以卷丹百合鳞片作为外植体,应用组织培养法,比较不同激素浓度对比对鳞片诱导和增殖效果的影响,为卷丹种苗快速繁殖及大面积推广栽培提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 材 料

选取卷丹的鳞片为试验材料,采自陕西理工大学院校内苗圃。

1.2 方 法

1.2.1 培养基 采用 MS 培养基,再添加不同种类、不同浓度配比的激素,做诱导和增殖培养。诱导培养基:MS+6-BA 0.5~2.0 mg/L +NAA 0.1~1 mg/L,共 16 组。增殖培养基:MS+6-BA 0.5~2.0 mg/L +NAA 0.05~0.5 mg/L,共 16 组。

1.2.2 培养条件 培养温度为 20~25℃,光照强度为 1 000~1 500 lx,光照时间每天 12~24 h。

1.2.3 外植体消毒 从苗圃中挖取卷丹鳞茎,流水冲洗一夜。选取健壮、无病斑的鳞片作为外植体,将其置于 75%的酒精中消毒 10 s,再用 0.1%

HgCl₂ 消毒 10 min,然后用无菌水冲洗 5 次。

1.2.4 不定芽和愈伤组织的诱导 将材料接种诱导培养基中,30 d 后观察不同激素浓度组合对不定芽及愈伤组织诱导的影响。

1.2.5 增殖培养 将初代培养的不定芽转入增殖培养基中继代培养,30 d 后观察并记录生长情况,选出一个最佳的增殖培养基。

2 结果及分析

2.1 不同激素浓度对比对不定芽和愈伤组织的诱导效果

接种 6~10 d 后,鳞片先由白色逐渐转变成褐色,最后转变成绿色,在转色的同时鳞片有明显增厚现象。在变成绿色的鳞片上,先出现淡绿色的胚状体,然后由胚状体直接诱导出不定芽,而卷丹百合的不定芽会直接长成绿色小鳞茎(图 1)。没有变色的鳞片最后没有分化出愈伤颗粒和不定芽,逐渐死亡。统计结果表明,培养基(4)转绿时间最早,但不定芽和愈伤组织的诱导效果不太好;培养基(3)和(14)转绿时间都为 8 d,但培养基(14)中的不定芽和愈伤组织数量最多,生长势强,为卷丹百合鳞片的最佳诱导培养基(表 1)。对表 1 统计分析表明,对诱导起主要作用的为 6-BA,其次为 NAA,6-BA 在 0.1 水平上差异显著,NAA 在 0.05 水平上差异显著。

表 1 不同激素浓度对比对卷丹鳞片诱导不定芽的影响

Table 1 Effects of different hormones compositions on the induction of adventitious buds

6-BA/NAA (mg/L)	污染率/% The rate of pollution	诱导芽数/个 Number of buds	愈伤颗粒数/个 Number of callus	转绿天数/d Time to turn green
(1) 0.5 / 0.1	0	29	39	14
(2) 0.5 / 0.2	0	78	58	13
(3) 0.5 / 0.5	0	95	76	8
(4) 0.5 / 1.0	5%	46	51	7
(5) 1.0 / 0.1	5%	41	22	13
(6) 1.0 / 0.2	0	29	60	11
(7) 1.0 / 0.5	0	43	91	12
(8) 1.0 / 1.0	0	40	61	14
(9) 1.5 / 0.1	0	55	0	15
(10) 1.5 / 0.2	0	80	75	12
(11) 1.5 / 0.5	0	72	40	12
(12) 1.5 / 1.0	5%	50	43	15
(13) 2.0 / 0.1	10%	32	27	13
(14) 2.0 / 0.2	10%	110	97	8
(15) 2.0 / 0.5	0	82	69	10
(16) 2.0 / 1.0	10%	54	36	10

注:数据均为 20 个材料统计的总数。下同。

Note: The statistical data is the total of 20 materials. The same as below.

2.2 不同激素浓度对比对不定芽增殖培养的诱导效果

初代培养 30 d 后,将不定芽基部的鳞片切去,并将芽分成 2~3 小株,移入增殖培养基,30 d

后统计并分析不同激素浓度配比对卷丹不定芽增殖的影响(表 2)。除了培养基(5)、(8)、(10)中有污染以外,其余生长状况都良好。培养基(6)、(7)无根苗的株数最多,但(7)的增殖芽数量最多,在此培养基中培养 10~15 d 以后,从基部长出丛生芽,每个苗可分化出 5~8 个芽,平均苗高 5 cm

左右。无根苗在(7)号培养基,即 MS+6-BA1.0 mg/L+NAA0.2 mg/L 培养基中生长苗壮,叶色浓绿(图 2)。对表 2.2 的数据进行统计分析表明,对不定芽增殖起主导作用的因子为 6-BA,各处理之间的差异显著,6-BA 和 NAA 之间还存在交互作用,并对诱导有显著差异。

表 2 不同激素浓度配比对卷丹的不定芽增殖的影响

Table 2 Effects of different hormone compositions on propagation of adventitious buds

6-BA/NAA /(mg/L)	污染率/% The rate of pollution	增殖芽数/个 Number of buds	无根苗数/株 Number of seedling	愈伤颗粒数/个 Number of callus
(1) 0.5 / 0.05	0	62	5	0
(2) 0.5 / 0.1	0	75	12	2
(3) 0.5 / 0.2	0	87	11	4
(4) 0.5 / 0.5	0	91	13	0
(5) 1.0 / 0.05	3.3%	81	14	1
(6) 1.0 / 0.1	0	85	18	2
(7) 1.0 / 0.2	0	91	17	1
(8) 1.0 / 0.5	3.3%	88	16	0
(9) 1.5 / 0.05	0	84	14	0
(10) 1.5 / 0.1	3.3%	74	11	0
(11) 1.5 / 0.2	0	72	13	0
(12) 1.5 / 0.5	0	70	15	0
(13) 2.0 / 0.05	0	58	16	0
(14) 2.0 / 0.1	0	68	8	0
(15) 2.0 / 0.2	0	76	16	3
(16) 2.0 / 0.5	0	88	16	0

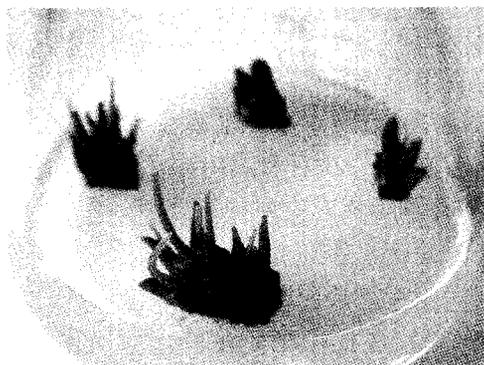


图 1 初代培养诱导产生的不定芽

Fig. 1 Adventitious buds induced from primary culture



图 3 初代培养中的生根现象

Fig. 3 The phenomenon of radication in primary culture

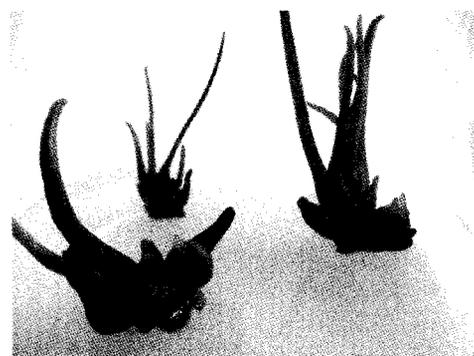


图 2 增殖培养中不定芽形成无根苗

Fig. 2 The nothing root seedling induced from adventitious buds in proliferation culture

3 讨论

百合鳞片作为外植体易于诱导,但容易产生内生菌。为防止内生细菌的滋生,试验将外植体用自来水冲洗 24 h,然后置无菌水中浸泡 5 min,可在一定程度上抑制内生细菌的滋生,减少后期污染。百合鳞片作为外植体进行初代培养时,出现鳞片褐变的现象,主要是由于组织中多酚氧化酶被激活,氧化酚类物质产生醌类物质造成的^[13]。在继代培养中加入 0.01% 的聚乙烯吡咯烷酮,可以很好地抑制褐变的发生。

试验结果表明,在不添加激素的对照 MS 培养基里,诱导鳞片出芽和增殖不仅所用时间最长,

而且数量最少,生长势弱,效果差。培养基 MS+6-BA2.0 mg/L+NAA0.2 mg/L 诱导不定芽和愈伤组织数量较多,生长势强,为卷丹百合鳞片的最佳诱导培养基。MS+6-BA1.0 mg/L+NAA0.2 mg/L 对不定芽的增殖诱导效果最好,生长势最强,平均苗高 5 cm 左右,为最佳增殖培养基。本试验表明,在 6-BA 和 NAA 对鳞片诱导的相互作用中,6-BA 对不定芽的诱导和增殖起主要作用;NAA 可能更多地影响根的分化,如在初代培养时,NAA 浓度较高的培养基里出现了生根现象(图 3)。

参考文献:

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会主编. 中国植物志(第十六卷, 第一分册) [M]. 北京: 科学出版社, 1981.
- [2] 肖 智, 刘慧媛. 大花卷丹的经济价值及人工栽培[J]. 人参研究, 2004, 17(1): 29-31.
- [3] 赵祥云. 淡黄花百合的脱毒研究[J]. 园艺学报, 1993, 20: 283-284.
- [4] 吴旭红. 毛百合的组织培养和快速繁殖[J]. 生物学杂志, 2003, 37(6): 23-25.
- [5] 陈彦云, 海 英, 君 迈, 等. 麝香百合组培快速繁殖技术研究[J]. 宁夏大学学报: 自然科学版, 2004, 14(1): 204-205.
- [6] 张施君, 王凤兰, 周厚高, 等. 火百合的组织培养及快速繁殖[J]. 江苏农业科学, 2004, 35(4): 89-92.
- [7] 赵秀芳. 青岛百合组培快繁技术研究[J]. 安徽农业科学, 2005, 14(2): 2231-2232.
- [8] 金淑梅, 吕 品, 李 黎, 等. 细叶百合的组织培养研究[J]. 国土与自然资源研究, 2006, 23(2): 135-136.
- [9] 席梦利, 胡凤荣, 刘光欣, 等. 宜兴百合组培快繁体系的建立[J]. 林业科技开发, 2006, 32(6): 98-100.
- [10] 景艳莉, 周蕴薇, 张金玉, 等. 精粹百合的组织培养与快速繁殖技术[J]. 东北林业大学学报, 2006, 36(6): 84-85.
- [11] 刘燕琴, 胡开治, 肖 波, 等. 南川百合组织培养研究[J]. 中国现代中药, 2006, 27(6): 48-50.
- [12] 蔡宣梅, 方少忠, 林 真. 药用百合组织培养与试管苗假植技术研究[J]. 西北农业学报, 2004, 13(4): 152-155.
- [13] 曹孜义, 刘国民. 实用植物组织培养技术教程[M]. 甘肃: 甘肃科学技术出版社, 1996.