

文章编号:1001-4829(2006)04-0751-03

# 百合叶片离体不定芽发生和快繁技术研究

张艺萍,屈云慧\*,熊丽,吴学尉

(云南省农业科学院花卉研究所,云南昆明 650205)

**摘要:**以百合叶片为材料,建立了百合叶片不定芽发生、植株再生和微繁的技术体系。研究了不同消毒时间、不同激素及其组合对叶片不定芽发生、增殖和生根的效应。结果显示,用0.1%的氯化汞对叶片消毒5 min效果较好,污染率为36%,萌动率为75%,诱导率为68.8%。MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L是叶片不定芽发生的适宜培养基;MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L是不定芽增殖的适宜培养基;MS+NAA 0.1 mg/L是生根的适宜培养基。

**关键词:**百合;叶片;不定芽;快繁

**中图分类号:**S682.2 **文献标识码:**A

## Research on adventitious shoot regeneration and micropropagation from leaves of lily

ZHANG Yi-ping, QU Yun-hui\*, XIONG Li, WU Xue-wei

(Flower Research Institute of Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Yunnan Kunming 650205, China)

**Abstract:** Adventitious shoot formation, plant regeneration and micro-propagation were established in lily leaf in vitro. Effect of different sterilized time, kinds of hormone and its combination on adventitious shoot formation, plant regeneration and root regeneration were studied. The results showed that explant sterilized in 0.10% aqueous mercuric chloride for 5 min had better effect, and 36% of contamination rate, 75% of germinating rate, 68.8% of inducement rate, MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L was suitable for adventitious shoot formation from the leaf, the shoots grew well in MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L medium, MS+NAA 0.1 mg/L was the best medium for root regeneration.

**Key words:** lily; leaves; adventitious shoot; micro-propagation

百合(Lily),学名 *Lilium*,为百合科百合属多年生球根类草本植物。全世界约有100多种,中国栽培约有60多种<sup>[1]</sup>。百合切花是目前世界上发展最快的花卉之一,市场前景广阔。百合以有性方式(种子繁殖)和无性方式进行繁殖,而以无性繁殖为主,生产上主要靠扦插繁殖和分球繁殖等方式繁殖。而组织培养的方法也是目前运用较多的方法之一。组织培养中常用百合鳞片作为外植体,还有用花丝、花梗、花托、花柱、花萼、柱头、带叶茎段、子房、珠芽、根、茎尖等作为外植体培养成功的<sup>[2~9]</sup>,而用叶片作为外植体进行直接再生体系的研究较少,所报道的多是用组培苗的叶片进行诱导<sup>[10~11]</sup>。本研究直接用采自田间的百合叶片作为外植体来进行再生体系

的研究,为百合的优良株系扩繁和野生百合资源的保存奠定了基础,并建立了快繁体系。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

品种“Acapulco”,田间叶片。

### 1.2 方法

将叶片在流水下冲洗1~2 h,然后用棉花蘸75%的酒精擦拭叶片表面,再用0.1%的氯化汞溶液消毒3~9 min,用无菌水洗4遍,将叶片放在滤纸上吸干水分后切成2 cm×2 cm的小块,平放接种于诱导培养基M1、M2、M3、M4上,每处理5瓶,每瓶5块;随后将诱导出的不定芽转接至MS+6-BA 2~3 mg/L+NAA 0.1~0.5 mg/L的培养基上,共设13个处理,每个处理接10个不定芽,重复3次,摸索适宜不定芽增殖的培养基;将苗高为2 cm左右的苗转接至MS+NAA 0.05~0.15 mg/L的培养基中,共设3

收稿日期:2005-12-02

基金项目:云南省自然科学基金(2003C0028Q)

作者简介:张艺萍(1977-),女,云南大理人,硕士,主要从事组培技术和病害方面的研究,\*为通讯作者。

个处理,每个处理接 10 棵苗,重复 3 次,探求适宜的生根培养基。以上培养基加入蔗糖浓度为 3%,琼脂浓度为 0.5%,pH 值均为 5.8,培养室温度  $24\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ ,光照强度  $2000\text{ lx}$ , $10\text{ h/d}$ 。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同消毒时间对百合叶片再生植株的影响

用 0.1% 氯化汞对百合叶片消毒 5 min 时获得较好效果,其污染率为 36%,萌动率为 75%,诱导率为 68.8%。当消毒时间为 7 min 时,污染率较低,为 24%,但由于消毒时间长,不仅杀死了微生物,同时也导致外植体损伤,使萌动率、诱导率降低,而消毒 9 min 时,则全部外植体褐化死亡。

### 2.2 不同培养基对百合叶片再生植株的影响

在 M1(MS + 6-BA 1.5 mg/L + IBA 0.5 mg/L + KT 0.5 mg/L)、M2(MS + 6-BA 2.0 mg/L + NAA 0.5 mg/L)、M3(MS + 6-BA 1.0 mg/L + NAA 0.5 mg/L)、M4(MS + 6-BA 2.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L)4 种不同的培养基上进行芽的诱导分化,观察得知,叶片在 M2 培养基中经 20 d 左右开始发芽生长;在 M1、M3 培养基中经 25 d 左右才有绿色突起,之后有小芽生长;在 M4 培养基中全部外植体褐化死亡。由此可知,M2 是适宜诱导百合叶片再生植株的培养基,再生率为 55%。高浓度的 6-BA 且与 NAA 的比例合适就比较容易诱导出芽,KT 对诱导出芽也有一定的效果。

### 2.3 不同培养基对百合不定芽增殖的影响

在 1(MS + 6-BA 1.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L), 2(MS + 6-BA 2.0 mg/L + NAA 0.05 mg/L), 3(MS + 6-BA 2.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L), 4(MS + 6-BA 2.0 mg/L + NAA 0.15 mg/L), 5(MS + 6-BA 2.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L), 6(MS + 6-BA 2.5 mg/L + NAA 0.05 mg/L), 7(MS + 6-BA 2.5 mg/L + NAA 0.1 mg/L), 8(MS + 6-BA 2.5 mg/L + NAA 0.15 mg/L), 9(MS + 6-BA 2.5 mg/L + NAA 0.2 mg/L), 10(MS + 6-BA 3.0 mg/L + NAA 0.05 mg/L), 11(MS + 6-BA 3.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L), 12(MS + 6-BA 3.0 mg/L + NAA 0.15 mg/L), 13(MS + 6-BA 3.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L) 等 13 种不同的培养基上培养看不定芽增殖的效果。接种 20 d 后观察结果,从增殖倍数来看,1 号培养基的增殖效果最好,增殖倍数达 2.95。12 号培养基的增殖效果最差,增殖倍数为 1.28。6-BA 和 NAA 的浓度与比例是影响增殖的主要因素,6-BA 浓度越高,越不利于不定芽的增殖,而 6-BA 和 NAA 的比例为 10:1 时较有利于不定芽的增殖。

### 2.4 不同培养基对百合不定芽生根的影响

在 1(MS + NAA 0.05 mg/L), 2(MS + NAA 0.1

mg/L), 3(MS + NAA 0.15 mg/L) 3 种不同的培养基上培养看生根的效果。接种 20 d 后观察结果,从生根率、最大根长来看,在 2 号培养基上生根效果最佳,生根率达 90.0%,最大根长为 2.30 cm,较适宜后期的栽培,且根健壮。

## 3 讨论

百合育种工作中选育出来的优良株系和野生的百合资源数量有限,很难进行下一步的筛选和资源保存,所以采用叶片作为外植体是较好的选择。其优点是取材容易,繁殖周期短,节省培养基。

氯化汞是植物组织培养中常用的一种外植体消毒剂,其使用浓度和消毒时间对外植体的萌动有很大的影响。本实验以 0.10% 氯化汞对百合叶片消毒 5 min 为最佳。消毒时间过短,达不到抑菌效果;消毒时间过长,又会对外植体产生一定的伤害,从而使萌动率降低。

百合不定芽的产生受 6-BA 和 NAA 的影响,当 6-BA 2.0 mg/L, NAA 0.5 mg/L 时,最适宜诱导百合不定芽的产生,6-BA 的影响较 NAA 大,这与其它植物组织培养相同<sup>[12-15]</sup>。

罗凤霞用新铁炮百合的叶片作为外植体,其诱导率为 11.43%<sup>[16]</sup>。而本研究中的诱导率为 68.8%,说明消毒的时间和所用的培养基有利于百合叶片的诱导。马纯艳用有斑百合的叶片培养植株成功<sup>[17]</sup>,但未建立起快繁体系。本研究筛选出了适宜百合增殖和生根的培养基,建立了工厂化生产的快繁体系。这对百合优良株系的快繁和百合资源的保存具有重要意义。

### 参考文献:

- [1] 郑爱珍, 张峰. 百合的繁殖方法[J]. 北方园艺, 2004(4): 43.
- [2] 姚连芳, 周俊国, 殷桂琴. 百合组织培养试验研究[J]. 贵州农业科学, 1999, 27(3): 47-48.
- [3] 唐东芹, 钱虹妹, 黄丹枫. 百合基因转化胚性愈伤组织受体系统的建立[J]. 浙江林学院学报, 2003, 20(3): 273-276.
- [4] 吴若菁, 阮少宁. 百合胚状体形成途径及植株的再生研究[J]. 福建林学院学报, 2003, 23(4): 322-325.
- [5] 白美发. 青山百合的组织培养与快速繁殖[J]. 贵州农业科学, 2003, 31(6): 25-26.
- [6] 李睿. 麝香百合的组织培养与快速繁殖[J]. 甘肃林业科技, 2003, 28(2): 13-14.
- [7] 林天照, 张春镇, 危天进. 麝香百合花梗的离体培养研究[J]. 福建热作科技, 2003, 28(3): 5-6.
- [8] 丁兰, 赵庆芳, 谢晖. 泰伯百合的离体快繁[J]. 西北师范大学学报, 2003, 39(3): 65-67.
- [9] 赵庆芳, 李巧峡, 丁兰. 西伯利亚百合的组织培养和离体快繁[J]. 甘肃科学学报, 2003, 15(4): 52-55.
- [10] 马惠, 郭扶兴, 周俊彦. 百合叶片愈伤组织的诱导和植株再生[J]. 植物生理学通讯, 1992, 28(4): 284-287.

- [11]张 君,武丽敏,王 雷.麝香百合组培快繁技术初步研究[J].吉林农业大学学报,2002,24(1):53-54,81.
- [12]胡国富,李凤兰,袁 强.北青兰(*Dracocephalum argunense*)叶片组织培养的研究[J].东北农业大学学报,2004,35(2):195-198.
- [13]臧运祥,张 松,郑伟尉.垂吊型矮牵牛叶片培养不定芽发生和微繁研究[J].核农学报,2004,18(1):18-21.
- [14]卢其能.龙牙百合的组织培养和快速繁殖研究[J].江西农业学报,2002,14(4):43-46.
- [15]王 磊,李红双,蔺 娜.悬铃木叶片再生体系的建立[J].林业科学,2004,40(1):58-63.
- [16]罗凤霞,徐桂华,金丽丽.新铁炮百合微繁的研究[J].沈阳农业大学学报,2000,31(3):254-257.
- [17]马纯艳.有斑百合叶片的组织培养[J].沈阳师范学院学报,2002,20(3):219-221.

(责任编辑 王家银)

## 欢迎订阅 2007 年《中国南方果树》(双月刊)

★第三届全国期刊奖百种重点科技期刊

★中国期刊方阵“双效”期刊

★第三届重庆市“十佳”科技期刊

我国南方和西部惟一的全国性技术类果树期刊,直接从生产、科研、教学人员的自由来稿中,择优编发那些根据实践得到的第一手资料撰写的高新技术、应用技术原始文献。注重技术的创新性、先进性、实用性以及对生产的指导性和报道的时效性。报道树种囊括南方栽培的所有果树,对落叶果树,突出在南方温暖湿润气候条件下与北方不同的栽培管理、病虫害防治特点及适宜发展的品种。是果业从业人员的理想帮手。该刊是发行量和广告发布量最大的果业期刊之一,订户遍布 29 个省(区、市);广告客户多而稳定,多次被授予重庆市广告行业精神文明先进单位。

全国各地邮局(所)均可订阅,邮发代号 78-13。

定价 5 元,全年价 30 元。

欢迎到本中心邮购,平寄免收邮寄费,挂号每期加收 3 元。欢迎代办发行,折扣从优。

编辑出版:中国南方果树信息中心 联系电话:(023)68349196,68349198(兼传真)

通讯地址:重庆市北碚区歇马镇柑桔研究所,邮政编码:400712

电子邮件:citrusin@cta.cq.cn gj@southfruit.com.cn