

百合组织培养及快繁技术的研究与探讨

方华舟

洪万泓

(荆门职业技术学院生物工程学院 448000) (荆门市荆襄化工集团公司荆襄高级中学 431910)

摘要: 百合鳞茎不同部位鳞片都可以经诱导形成小鳞茎及芽, 但中层鳞片明显高于内层和外层; 同一鳞片的基部段诱导能力最强; 百合鳞茎中层下部及中部鳞片是优良组培苗外植体。百合鳞片组织培养适宜配方为 MS+NAA0.1+BA0.5; 移栽基质采取透气保水保肥的腐殖质及沙、土基质有较高的成活率。

关键词: 百合; 组织培养; 快繁技术

中图分类号: S722.37 **文献标识码:** B

A Study on the Tissue Culture of *Lilium acapulco* And Its Fast Propagation Technology

Fang Huazhou¹ Hong Wanhong²

(1. Jingmen Vocational Technology College, 448000; 2. Senior High School under Jingxiang Chemical Industrial Group Corp. 431910)

Abstract: The tissue culture of *Lilium Acapulco* was studied by using different parts of the bulb as the explants. The result showed that the scales from all part of the bulb could be induced in vitro, but the scales from the middle part of the bulb had the highest potential. For a same scale, the basal part has the best result. As a conclusion, the basal and middle part of the scales from the middle part of the bulbs are the most excellent explants for the tissue culture. The medium formula for the tissue culture is MS+NAA0.1+BA0.5. The medium for transplanting should be humus or sandy soil, in which a higher survival rate of the seedlings could be obtained.

Key words: *Lilium Acapulco*; Tissue culture; Bulb; Fast Propagation

百合 (*Lilium*) 是单子叶植物纲百合科百合属植物的总称, 系多年生宿根草本植物^[1]。百合鳞茎大多可以药用或食用, 是上等的滋补佳品; 百合花具有较高的观赏价值, 常被人们视为纯洁光明、自由和幸福的象征, 是目前国际和国内十分畅销的花卉之一^[2]。目前百合的繁殖方法主要是分株小鳞茎或分株芽鳞片扦插等方法, 前者种球数量少, 后者往往容易腐烂, 尤其是经过多代繁殖以后, 常常造成种性退化。本实验研究就是利用植物细胞全能性的原理, 即利用植物组织培养的方法, 快速繁育百

合种苗, 为规模化、工厂化生产百合脱毒种苗以及种植提供技术参数和依据。

1 材料与amp;方法

1.1 材料

百合的许多器官、组织都可以作为外植体, 如鳞片、根尖、叶片、子房、种子、花梗、花瓣、珠芽、花柱、花丝、花药、胚、腋芽、芽尖等。为加快繁育克隆苗的进程, 降低技术操作难度, 一般常用百合鳞片作外植体^[3]。

本实验使用的实验材料为从市场购回的盆栽百合，经鉴定为东方百合 (*Lilium acapulco*) 取其鳞片作外植体。

1.2 方法

1.2.1 外植体处理 将百合鳞茎从土层中取出，用自来水和软毛刷刷洗干净（如外层鳞片已腐烂或带较多霉点，此类鳞茎最好弃之不用；或剥去外层鳞片，选取中间洁白完整鳞片。），4℃低温处理24h，以降低鳞片带毒率^[4]。

在超净工作台上，用75%酒精浸泡10s，取出后放入0.1%升汞溶液中浸泡15min，无菌水冲洗7~8次。用消毒滤纸吸干表面水分，在无菌条件将鳞片横切为5mm×5mm的小块，并按外层鳞片、中层鳞片、内层鳞片以及鳞片上部、中部、下部等分类放置备用。

1.2.2 培养基及配方 以MS为基本培养基，琼脂6g/L，蔗糖30g/L，pH5.6~5.8（具体配方见后）。培养基以121℃蒸汽高温高压灭菌20~25min^[5]。

1.2.3 培养条件 外植体培养温度18℃~20℃，光照10~12h/d，光照强度1000~1200LX^[6]。

2 实验结果与分析

表1 不同激素浓度对百合鳞片诱导情况的比较

序号	培养基 (mg/L)	接种瓶数	诱导芽总数	诱导率%	诱导苗总数	诱导率%
1	MS+NAA0.1+BA0.1	20	66	85	0	0
2	MS+NAA0.1+BA0.5	20	82	100	0	0
3	MS+NAA0.1+BA1.0	20	62	80	0	0
4	MS+NAA0.5+BA0.1	20	48	75	3	15
5	MS+NAA0.5+BA0.5	20	43	80	2	25
6	MS+NAA0.5+BA1.0	20	41	65	0	0
7	MS+NAA1.0+BA0.1	20	42	60	4	20
8	MS+NAA1.0+BA0.5	20	27	50	2	10
9	MS+NAA1.0+BA1.0	20	23	40	1	5

2.2 鳞片部位对小鳞芽形成的影响

2.2.1 鳞片不同部位对小鳞芽形成的影响 将百合鳞茎中部鳞片分切成基部段、中部段和上部段三

部分，分别接种于MS+NAA0.1mg/L+BA0.5mg/L培养基上在适宜条件下培养，4周后即开始出现诱导芽。结果见表2。

2.1 不同激素浓度对百合鳞片诱导效果的影响

将百合中层鳞片接种在不同NAA、BA浓度的MS培养基中，在适宜条件下培养，5周后观察，实验结果见表1。结果表明NAA浓度在0.1~0.5mg/L之间，BA浓度在0.1~0.5mg/L之间，对百合鳞片有较好的诱导效果，总诱导率为85%~100%，平均每个外植体可诱导出2.5个芽或小苗。其中BA浓度在0.5mg/L，NAA浓度在0.1mg/L左右诱导芽的效率最高；随着NAA、BA浓度的增高，诱导效果下降；初代培养的小芽长到2~3cm时可将其分成单株，进行继代培养，可见鳞片诱导芽是良好的增殖材料。在高NAA、低BA的培养基上，鳞芽基部出现了幼小的根，即已分化形成了完整的植株幼苗，但从表1中可以看出培养条件不好控制，不仅数量上较少，仔细观察幼苗根部有明显肿胀现象，而且后期多生长不良。可见百合鳞片诱导形成芽的效果和质量明显高于诱导形成苗的情况。

表2 鳞片不同部位对诱导芽形成的影响

比较项目	鳞片上部	鳞片中部	鳞片基部
接种瓶数	20	20	20
诱导鳞芽外植体数	1	16	20
诱导率%	5	80	100

从表 2 可以明显看出,百合鳞片不同部位诱导芽分化形成能力有着较为明显的差异:基部>中部>上部,上部鳞片诱导芽的形成能力很弱,且小芽数量很少。

表 3 不同鳞片对诱导芽形成的影响

鳞片部位	接种瓶数	诱导率%	诱导芽总数
外层	20	30	26
中层	20	95	86
内层	20	5	14

实验表明,中层鳞片诱导效果最好,内层鳞片基本没有形成小鳞芽能力。

2.3 不同放置方式对百合鳞片诱导出芽效果的影响

百合鳞片作为外植体接入培养基共有三种方

表 4 不同放置方式对诱导芽形成的影响

处理代号	接种瓶数	诱导率	诱导芽总数
(1)	20	25	16
(2)	20	100	87
(3)	20	65	54

观察可知,芽萌发部位在鳞片内侧的基部切口处。当鳞片外植体芽萌发部位处于培养基中时,芽萌发受到了空间上的阻碍,所以诱导出的芽少、生长缓慢;而鳞片内侧向上,诱导芽易于生长,诱导芽生长效果好。

2.4 生根与移栽

将诱导芽接种到 $1/2MS + NAA0.1mg/L + BA0.1mg/L$ 生根培养基上在适宜条件下培养,观察可以发现,百合芽体 10d 左右即可以开始生根,20~30d 根系即可较为发达(2~3cm)。按一般常规炼苗 3~5d。移栽时,洗去附在小苗上的培养基,栽入腐殖质或沙土(1:1)基质中,保持温度 $15^{\circ}C \sim 25^{\circ}C$ 、湿度 70%~80%、避免强光直射^[2],成活率达 94%。

3 讨论与小结

3.1 外植体的选择

本实验结果证实,中层鳞片以及鳞片基部部分诱导能力最强,其次是外层鳞片和鳞片中段部分,因此在实际生产工作中应尽量选择中层鳞片,对鳞片的尖端部分尽量弃之不用。这与汪有良^[5]、王刚^[3]等研究认为“外层鳞片诱导能力最强”结果不同,这可能是人工栽培的百合品种更容易受到病菌

2.2.2 不同部位鳞片对诱导芽形成的影响 将百合鳞茎外层鳞片、中层鳞片、内层鳞片分别作为外植体,接种到上述培养基中在适宜条件下培养,实验结果见表 3。

式:(1)鳞片内侧向下平放于培养基上,(2)鳞片内侧向上平放于培养基上,(3)鳞片竖直插入培养基中。取百合鳞茎中部鳞片作外植体,培养基仍采用上述 $MS + NAA0.1mg/L + BA0.5mg/L$ 培养基,实验结果如下:

等因素的侵害,外部鳞片不易进行脱毒处理、诱导能力降低等因素造成的。因此从规模化处理外植体的技术难度、提高百合鳞片组培苗质量水平等角度看,在工厂化生产百合组培繁育苗中应尽量选择中层鳞片,并尽量选择鳞片尖端以外的部分作外植体,以确保组培繁育苗的质量和繁育系数。

3.2 培养基配方

本实验认为诱导百合鳞片分化形成小鳞茎及组培苗的适宜培养基配方为: $MS + NAA0.1 + BA0.5$ 。

3.3 移栽

组培苗培育成功以后,移入保水保肥透气基质中,有比较高的移栽成功率。

参考文献

1. 施宗民. 云南名花鉴赏 [M]. 昆明: 云南科学技术出版社, 1999
2. 曹孜义, 刘国明. 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
3. 王刚, 杜捷, 李桂英. 兰州百合和野生百合组织培养及快速繁殖研究 [J]. 西北师范大学学报(自然科学版), 2002, 38 (1)
4. 陈广有. 名优花卉组织培养技术 [M]. 北京: 科学技术文献出版社, 2001
5. 汪有良. 南京百合快速繁殖 [J]. 江苏林业科技, 1995, (1)