

百合花器官的组织培养

刘丽敏¹, 卢赛清², 陈燕霞², 杨美纯²

(1. 广西甘蔗研究所, 南宁 530007; 2. 广西大学农学院, 南宁 530005)

摘要:以帝伯、西伯利亚、铁炮、金百合4个品种的花器官为外植体,进行不同品种花器官及同一品种花器官不同部位的组培难易程度试验。结果表明,品种间诱导率存在差异,从易到难的排序为帝伯、西伯利亚、铁炮、金百合;同一品种不同部位的诱导率也存在差异,从易到难的排序为花丝、花托、子房、花冠、花柱、花药。在初代诱导培养基中,以MS+6-BA 0.5mg/L+NAA 0.5mg/L和MS+6-BA 1.0mg/L+NAA 0.5mg/L较好;在继代增殖培养基中,帝伯和西伯利亚的最适培养基均为MS+6-BA 1.0mg/L+NAA 0.2mg/L,而铁炮百合为MS+6-BA 1.0mg/L+NAA 0.5mg/L。

关键词:百合;花器官;组织培养

中图分类号:S682.2⁺9

文献标识码:B

文章编号:1002—8161(2007)03—0219—04

Tissue culture of lily floral organs

LIU Li-min¹, LU Sai-qing², CHEN Yan-xia², YANG Mei-chun²

(1. Guangxi Sugarcane Research Institute, Nanning 530007, China; 2. Agricultural College, Guangxi University, Nanning 530005, China)

Abstract: The floral organs of four lily varieties, Diber, Siberia, *Lilium longiflorum* and *L. trompeten* were selected as explants for *in vitro* culture to study the difference in inducing abilities of calli among different varieties and different parts of same floral organ in a variety. The results showed that the inducing rates were different in four varieties. Diber was the easiest variety for inducing, followed by Siberia, *L. Longiflorum* and *L. trompeten*. The induced rates of different parts of floral organ in the same variety were also different. Their sequence, from easy to hard, was filament, floral receptacle, ovary, corolla, style and anther. During the primary culture stage, the medium MS+0.5mg/L 6-BA+0.5mg/L NAA and MS+1.0mg/L 6-BA+0.5mg/L NAA showed a better inducing ability in all varieties. In the subculture stage, MS medium supplemented with 1.0mg/L 6-BA and 0.2mg/L NAA was suitable for Diber and Siberia but MS medium supplemented with 1.0mg/L 6-BA and 0.5mg/L NAA fitted for *L. trompeten*.

Key words: lily; floral organ; tissue culture

百合(*Lilium spp.*)为百合科(*Liliaceae*)百合属(*Lilium*)多年生草本植物。百合不仅有著名的球根花卉,其地下鳞茎还具有食用和药用价值。近年来对百合的研究日趋深入和广泛,特别是百合的组织培养技术正逐步走向成熟化和工业化。目前百合离体培养大部分以鳞片作为外植体^[1~4],也有以花丝^[5,6]、子房^[7]作为外植体取得成功的报道。本文比较了不同百合品种花器官和同一品种花器官不同部

位的组培效果,从中筛选出百合花器官初代及继代培养较适合的培养基,为百合工厂化生产提供了技术参考。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料包括3个百合系列共4个品种:麝香百合系列的铁炮百合(*Lilium longiflorum*);东方百

收稿日期:2007-01-23

基金项目:广西科技攻关项目(桂科攻0322008-2A)

作者简介:刘丽敏(1978-),女,广西灵山县人,助理研究员,主要从事生物技术的研究与利用。

合系列的西伯利亚白百合 (*L. 'siberia'*), 帝伯百合 (*L. 'diber'*); 亚洲百合系列的金百合 (*L. 'trompeten'*), 分别取其生长健壮、饱满、无病害的花枝。

1.2 花器官初代培养

将百合的花蕾放在0.5%~1.0%的洗衣粉水中漂洗15min, 用清水冲洗30min, 在超净工作台上用75%酒精擦拭其表面, 然后用镊子和刀把花冠切开, 取出里面的花丝、花柱、子房和花冠, 各切成1.5cm长的小段, 分别接种到不同的培养基上。培养10d后, 统计污染率, 一个月后统计诱导率。

将已盛开花朵的各部位分切成小段, 依次用75%酒精洗30s, 0.1% HgCl_2 洗5min, 无菌水洗4~5次, 然后分别接种到不同培养基上。培养10d后, 统计污染率, 一个月后统计诱导率。

初代培养采用MS为基本培养基, 其激素配比分别为: 6-BA 0.5mg/L + NAA 0.5mg/L; 6-BA 1.0mg/L + NAA 0.5mg/L; 6-BA 2.0mg/L + 2,4-D 2.0mg/L; 6-BA 0.5mg/L + NAA 0.2mg/L; 6-BA 1.0mg/L + NAA 0.2mg/L; 6-BA 0.3mg/L + NAA 0.5mg/L; 6-BA 2.0mg/L + 2,4-D 2.0mg/L。

1.3 花器官继代分化培养

将长出愈伤组织或苗的花器官移接到分化培养基上, 分化培养同样采用MS为基本培养基, 其激素配比分别为:

帝伯与西伯利亚百合: 6-BA 0.5mg/L + NAA 0.5mg/L; 6-BA 1.0mg/L + NAA 0.5mg/L; 6-BA

2.0mg/L + NAA 0.5mg/L; 6-BA 1.0mg/L + NAA 0.2mg/L; 6-BA 2.0mg/L + NAA 0.2mg/L。

铁炮百合: 6-BA 0.5mg/L + NAA 0.5mg/L; 6-BA 1.0mg/L + NAA 0.5mg/L; 6-BA 1.5mg/L + NAA 0.5mg/L; 6-BA 2.0mg/L + NAA 0.3mg/L。

1.4 试剂

萘乙酸(NAA)有效成分 $\geq 98.0\%$, 6-苄氨基嘌呤(6-BA)有效成分 $\geq 98.0\%$, 均由中国医药(集团)上海化学试剂公司生产; 凝固剂为合浦琼脂厂生产的琼脂粉(700目/ cm^2), 糖为食用白糖。

2 结果与分析

2.1 花器官的灭菌效果

根据观察, 不同发育期的花器官(花蕾、已盛开的花朵), 其灭菌效果差异很大。没有开放的花蕾, 其花丝、花柱、子房都包裹在花瓣内, 内部带菌相对较少, 灭菌效果较好, 污染率低。已经开放的花朵与外界接触面大, 即使经过升汞灭菌, 污染率仍然较高, 灭菌效果相对较差。因此, 利用花器官作为外植体培养时, 宜取未开放的花蕾, 由于材料无需经过升汞灭菌, 可以最大限度地保持生活力, 提高其诱导能力。

2.2 不同品种花器官的诱导效应

将不同品种花器官各部位分别接种到MS + 6-BA 0.5mg/L + NAA 0.5mg/L培养基中, 观察其分化情况, 结果表明, 不同品种的花器官分化能力各有不同, 同一品种花器官的不同部位, 其分化能力也存在很大差异(见表1)。

表1 不同品种花器官愈伤组织的诱导率

部位	西伯利亚			帝伯			铁炮			金百合		
	接种数 (段)	诱导数 (段)	诱导率 (%)	接种数 (段)	诱导数 (段)	诱导率 (%)	接种数 (段)	诱导数 (段)	诱导率 (%)	接种数 (段)	诱导数 (段)	诱导率 (%)
花丝	45	7	15.6	68	6	8.8	62	7	11.3	26	0	0
花药	117	0	0	36	0	0	22	0	0	12	0	0
花柱	10	0	0	15	5	33.3	19	0	0	4	0	0
子房	15	2	13.3	20	6	30.0	11	0	0	5	0	0
花冠	11	1	9.0	67	9	13.4	32	0	0	18	0	0
花托	11	0	0	8	3	37.5	5	0	0	9	0	0

在本试验条件下, 供试的4个品种中, 最容易诱导的是帝伯百合, 除花药以外, 其余器官都可诱导出愈伤组织; 其次为西伯利亚百合, 花丝、子房和花冠都可以诱导出愈伤组织; 再次是铁炮百合, 只有花丝可以诱导出愈伤组织; 最难诱导的是亚洲百合系列

的金百合, 没有任何部位可诱导出芽或愈伤组织。从花器官的不同部位来看, 最容易诱导的是花丝, 有3个品种的花丝都可以被诱导, 且分化时间最早, 两周后花丝基部一端膨大并在上面分化出黄色小圆点(西伯利亚百合和帝伯百合)或淡黄绿色愈伤组织

(铁炮百合)。但花丝的诱导存在部位上的差异,根据观察,只有靠近花托基部的部位才能诱导出芽或愈伤组织,而其他部位则不能被诱导,这就是造成花丝诱导率较低的原因。子房和花托的诱导也较容易,但需时较长,若每隔20d更换一次培养基,可以提高诱导率和缩短诱导时间。将子房切开放入培养基中培养,两周后其内部的子房壁及其切口处颗粒状白色组织膨大,整个子房弯曲,变绿;花托切口处有变褐点,但整个花托变大、变绿,4周后花托上端切口处先分化出黄色愈伤组织。选用适合的花冠部位在一定条件下也能分化出芽,培养1周后整个花冠膨大、变绿,随后慢慢变褐,只有一小部分花冠还保持绿色,3周后在花冠上直接诱导分化出小苗。花冠和花丝一样,其分化能力也存在部位上的差异,靠近花托的部位容易被诱导,其他部位则不能被诱导。产生这种差异可能是由于靠近花托的部位是生长点,其生长代谢较活跃,包含的营养物质和内源激素较适合分化,因而诱导率较高。在花柱的诱导培养中,连接柱头的部分可以诱导出愈伤组织和芽,培养1周后,花柱膨大、变绿,接着渐渐长出黄绿色愈伤组织,并分化出芽和小苗,其他部位较难被诱导。最难诱导的是花药,培养一段时间后,一般都变褐,然后逐渐死亡。因此这4种百合品种的花药培养基还有待进一步研究。

2.3 不同激素对比对花器官分化的影响

将花器官各部位分别接种到不同的初代诱导培养基中,从诱导分化结果来看,NAA的浓度均为0.5mg/L,而6-BA的浓度为0.3~2.0mg/L。可见,适当浓度的NAA对花器官的初代诱导比较有利。从激素种类来看,在6-BA 2.0mg/L+2,4-D 2.0mg/L培养基上培养的外植体基本上都变白死亡,没有呈现出一点活性,而在含有NAA的培养基上,外植体一般都可以膨大,变绿,可见NAA的诱导效果比2,4-D要好。在各个配比浓度中,6-BA 0.5mg/L+NAA 0.5mg/L和6-BA 1.0mg/L+NAA 0.5mg/L较适合各种花器官的诱导,其次为6-BA 0.3mg/L+NAA 0.5mg/L。

2.4 不同激素对比对花器官愈伤组织生长的影响

在西伯利亚百合和帝伯百合花器官培养中,可以被诱导分化的主要是花丝、花托以及少量花冠、花柱和子房。这些外植体最初诱导出胚性愈伤组织,再由胚性愈伤组织分化出芽和根,最后形成完整植株。整个过程一次成苗,不需经过生根阶段,而且长出的

苗和根都较粗壮。将这些苗切去叶片和根接到不同的继代培养基中培养,发现每种培养基对其芽分化、根生成以及胚性愈伤组织生长的影响各有不同(见表2)。6-BA 0.5mg/L+NAA 0.5mg/L处理分化的愈伤组织很少,不利于增殖;6-BA 1.0mg/L+NAA 0.5mg/L处理分化的愈伤组织较多,但根和苗的分化很少;6-BA 2.0mg/L+NAA 0.5mg/L处理虽然各方面表现较显著,但根长得太粗壮,愈伤组织也过度膨大,整株苗略显畸形;6-BA 1.0mg/L+NAA 0.2mg/L处理愈伤组织生长及根的生成、芽的分化均较为适中;6-BA 2.0mg/L+NAA 0.2mg/L处理愈伤组织和根的分化能力有所降低。可见,6-BA 1.0mg/L+NAA 0.2mg/L激素组合较适合西伯利亚百合和帝伯百合花器官的继代培养。

表2 不同激素对比对花器官愈伤组织生长的影响

激素配比(mg/L)		愈伤组织生长情况	长根情况	芽分化情况
6-BA	NAA			
0.5	0.5	+	++	++
1.0	0.5	+++	+	+
2.0	0.5	+++	+++	++
1.0	0.2	++	++	++
2.0	0.2	+	+	++

注: +表示生长分化情况, +号越多, 生长分化越好, 下同。

铁炮百合花器官中可以被诱导分化的主要是花丝,但其分化途径与上述两个品种截然不同。铁炮百合花丝主要分化出愈伤组织,这种愈伤组织较疏松,呈淡黄绿色,表面有小褶皱突起,并伴随有根的分化。愈伤组织在初代培养基中生长良好,将其切成小块接到继代培养基中,其生长和分化情况如表3所示。

表3 不同激素对比对铁炮花器官愈伤组织生长的影响

激素配比(mg/L)		分化苗情况	愈伤组织生长情况
6-BA	NAA		
0.5	0.5	++	愈伤组织继续生长,为黄绿色。
1.0	0.5	+++	愈伤组织继续生长,为黄色。
1.5	0.5	+	愈伤组织变褐,只有一半继续生长。
2.0	0.3	+	愈伤组织变褐,有些已经玻璃化。

从表3可以看出,最适合铁炮百合花丝继代培养分化的激素为6-BA 1.0mg/L+NAA 0.5mg/L,此时愈伤组织生长较快,为黄色,当愈伤组织生长到一定程度时,可以直接分化出大量小苗。这些苗可以用作生根材料,但由于愈伤组织的生长分化能力随

着继代代数的增加而降低,并伴有玻璃化的趋势,故其不适合作为长期增殖的材料。

3 小结与讨论

通常情况下,百合的组培快繁主要利用鳞茎为外植体,但百合的种球不易获得,特别是优良品种的百合种球目前仍主要依靠进口。以百合未开放的花器官为外植体,既不需要经过升汞灭菌的过程,同时又最大限度地保持了花器官各部位原有的活性,使诱导培养获得成功,为百合工厂化生产提供了重要保障。本研究以东方系列的西伯利亚和帝伯百合,亚洲系列的金百合和麝香系列的铁炮百合的花器官作为外植体,比较了各个系列百合离体培养快繁效果,成功培育出东方系列和麝香系列百合无菌组培苗,而且筛选出这两个品种较适合的初代诱导和继代增殖培养基。但亚洲系列的金百合没有诱导成功,这个系列百合品种的离体培养仍有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 杨增海,王聚源.植物生长调节剂对百合组织培养繁殖的效应[J].西北农业大学学报,1987,15(3):72~77.
- [2] 姚连芳,周俊国,殷桂琴,郝梅,李江华.百合组织培养试验研究[J].贵州农业科学,1999,27(3):47~48.
- [3] 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.
- [4] 李标,胡琼华,何显静.紫斑百合的组织培养[J].云南大学学报(自然科学版),2001,(S1):111~112.
- [5] 蔡宣梅,郑伟文,黄建华,刘建,庄志鸿.百合花丝组织培养试验[J].福建农业科技,2001,(6):13~14.
- [6] 刘芬,王发林.兰州百合花丝组培诱导完整植株的研究[J].甘肃农业科技,2001,(6):29~30.
- [7] 陈善娜,高建莉,郑志英.百合子房的组织培养[J].云南大学学报(自然科学版),1997,28(4):284~287.

(责任编辑 林 涛)