

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)

表2 供试鳞片位置、分割和年龄对分化小鳞茎的影响

鳞片状况	外植体数(个)	外植体分化率(%)	总子球数(个)	每块外植体分化子球数(个)
位置				
内层	25	69	51	2.04
中层	25	70	48	1.92
外层	25	81	91	3.64
部位				
上	25	40	34	1.70
中	25	70	71	2.84
下	25	100	122	4.88
年龄				
2年	25	70	48	1.92
3年	25	65	75	3.00
4年	25	67	101	4.03

黑色小鳞茎,且小鳞茎基部分化大量的根^[4],但在细叶百合离体培养中未发生此类情况,无论那种激素组合培养一段时间后均既长成小鳞茎又长根。

2.3 鳞片位置的影响

将鳞片切成外、中、内3层,分别接种在MS+BA0.5 mg/L+NAA0.01 mg/L培养基中,45d后,检查各个部位的鳞片分化小鳞茎数量。表2显示了分割后3层鳞片切段分化能力的差别。从鳞片分化小鳞茎数量看,以外部切段为最多,其次中部切段,内部最少;从外植体分化率看,自外向下分化率不断增加,而且差异较大。总的看来,内层切段分化能力低,中层和内层切段分化能力比较大。

2.4 鳞片分割对分化小鳞茎的影响

接种时若是整块鳞片,分化的小鳞茎个头大,颜色深,可见整块鳞片有利于小鳞茎生长,但所得小鳞茎数量有限,一般为2~3个。将每块鳞片切成上中下3段3块后,分别接种在MS+BA0.5 mg/L+NAA0.01 mg/L培养基中,结果发现,因为每一段都能分化2~3个小鳞茎,分割后平均每个鳞片分化的小鳞茎数大大增加,只是分化的小鳞茎较小,呈绿色;45d后,检查各个部位的鳞片分化小鳞茎数量。表2显示了分割后3块鳞片切段分化能力的差别。从鳞片分化小鳞茎数量看,以下部切段为最多,其次中部切段,端部切段种、鳞片的年龄、位置、培养基中激素种类及用量均与组培效果有密切关系。因此,在供试的品种快速繁殖中应考虑使用激

素的质量和浓度。鳞片不同部位分化小鳞茎能力也有较大差异,鳞片基部分化能力最强,中部次之,上部最差。因此,工厂化育苗宜采用鳞片下、中部培养。在激素组合的优化选择中,BA和NAA是首选常用激素,它们效果好,价格相对便宜。最适合百合鳞片分化小鳞茎的激素组合为MS+BA0.5 mg/L+NAA0.01 mg/L。

Robb指出,百合鳞片培养产生的细胞形态建成类型和频率,依赖于发生外植体原有的部位,以鳞片下部形成小鳞茎的能力最强,中部次之,上部无能力分最少;从外植体分化率看,自上而下,分化率不断增加,而且差异较大。总的看来,端部切段分化能力低,中部和基部切段分化能力比较大。

2.5 不同年龄鳞片的影响

从数据分析可以看出,不同年龄鳞片分化小鳞茎的能力也存在差异,其中以4年生细叶百合的鳞片组培效果最好。可能由于不同生长年龄的鳞茎生长发育的不同,营养物质、内部的内源激素不同,各种酶的活性也不同,影响鳞片的组培效果。

3 结论与讨论

利用细叶百合鳞茎进行组织培养的结果表明,百合鳞片的离体繁殖在工厂化育苗中有很好的应用前景。影响百合鳞片的诱导因素是多方面的,百合的不同品化小鳞茎^[6]。这一结果后来得到许多实验的证实。鳞片不同位置分化小鳞茎能力差异的原因,第一,可能是鳞片内源激素含量不同造成,与其生长促进物质与生长抑制

物质的相对含量有关,受两类激素的平衡所控制^[7,9];第二,可能与外植体营养状况有关,因为百合器官原茎的形态发生过程是细胞内旺盛的能量代谢过程;外围肥厚鳞片分化不定芽的能力比内部较小而薄的鳞片强,一片鳞茎鳞片的厚度也是基部>中部>上部^[9];第三,鳞片分化能力与外加植物激素种类和浓度关系也很大;第四,从遗传学的角度出发,百合的鳞茎是贮藏器官,同时又是无性繁殖器官,从植株的整体情况来讲,它位于中间偏下部位,这种情况应全息于每个鳞片即鳞片中偏下,对小鳞茎发生有较强的遗传势,小鳞茎发生能力中下部最强,顶部差,符合生物全息率的遗传优势理论^[10]。

参考文献:

- [1]龙雅宜,张金政,张兰年.百合——球根花卉之王(M).北京:金盾出版社,1999.
- [2]新美芳二.影响姬早百合鳞片培养中形成和生长因素[J].园艺学会杂志,1985.
- [3]赵祥云.百合珠芽组培及脱毒研究[J].园艺学报,1992,20(2):284~288.
- [4]汪有良.南京百合快速繁殖[J].江苏林业科技,1995,22(1):35~43.
- [5]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.
- [6]Robb SM. The culture of excised tissue from bulb scales of *Lilium speciosum*[J]. J Exp Bot, 1957, (8):348~352.
- [7]杨成德,种康.植物内源激素对兰州百合不同部位分化的影响[J].兰州大学学报,1988,24(3):95~99.
- [8]金淑梅,杨利平,吕品,周博如.细叶百合中内源激素的变化[J].东北林业大学学报,2005,33(1):20~22.
- [9]龙春林,程治英,王俐,左太春.兰州百合器官离体培养外植体位置效应观察[J].云南植物研究,2004,26(2):221~225.
- [10]李宝平,郝建平.发育环境对兰州百合组织培养产生小鳞茎及小鳞茎数量的影响[J].植物学通报,1992,(9):30.

作者简介:金淑梅(1973-),女,博士研究生。

(2005-06-22 收稿 宿伯杰编辑)

更正:本刊2006年第1期刊出的“大连与沈阳、青岛的城市竞争力比较”一文的作者简介更正如下:

钱文利(1980-),女,辽宁阜新人,硕士研究生,研究方向为沿海区域经济布局。