

荷兰百合索尔邦的离体组织培养

陈学林¹, 李卫锋¹, 黄海涛² (1.西北师范大学生命科学院, 甘肃兰州 730070; 2.西南科技大学生命科学与工程学院, 四川绵阳 621002)

摘要 [目的]寻找荷兰百合索尔邦最佳离体培养途径,大幅度提高其繁殖速度。[方法]利用荷兰百合索尔邦的不同组织作外植体进行离体培养,进行不同分化培养基对不同外植体分化效果的影响,不同激素浓度对索尔邦百合鳞片诱导出芽效果的影响,不同部位的百合鳞片对诱导出芽效果的影响,不同激素浓度对百合丛生芽增殖的影响和生根与移栽等研究。[结果]结果表明:组培荷兰百合索尔邦以鳞茎为最佳外植体,以 MS+6-BA 2.0 mg/L+IAA 1.0 mg/L 的培养基诱导丛生芽效果最好,其诱导率为 96.7%;鳞片诱导中鳞茎中部表现出较大的器官发生潜力;百合继代增殖培养以 MS+6-BA 1.0 mg/L+IAA 0.4 mg/L 培养基为宜,组培苗在 MS+IAA 0.5 mg/L 的培养基中较易生根,生根时间约 25 d。[结论]该研究为百合的辐射育种提供了技术支持。

关键词 百合;索尔邦;组织培养

中图分类号 Q943.1 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2007)20-06045-02

Tissue Culture *in vitro* of Holland Lily Sorbonne

CHEN Xue-lin et al (College of Life Science, Northwest Normal University, Lanzhou, Gansu 730070)

Abstract [Objective] The optimum culture route *in vitro* for Holland lily variety Sorbonne were searched, which could improve propagation rate. [Method] The bulb, tip bud, stem section and leaf of Holland lily variety Sorbonne were selected for *in vitro* culture. [Result] Bulb was the best explants and the optimum multiple bud induction medium was MS+6-BA 2.0 mg/L+IAA 1.0 mg/L with induction rate of 96.7%. The central section of bulb displayed big organogenesis potential. The optimum regeneration and rooting medium for lily was MS+BA 1.0 mg/L+IAA 0.4 mg/L and MS+IAA 0.5 mg/L, respectively, with rooting time of about 25 d. [Conclusion] Technical support were provided for the studying of lily breeding.

Key words Lily; Sorbonne; Tissue culture

百合(*Lilium*)为百合科百合属的多年生草本植物,在全世界有 90 多种,百合花色丰富、花形各异、清雅脱俗、芳香宜人,是名贵切花和盆花,其大部分鳞茎既可食用又能药用^[1-3]。荷兰是百合球根生产面积最大的国家,产值达 1.2 亿美元^[4]。荷兰百合索尔邦花色鲜艳,为百合中的名贵品种,深受人们的欢迎,在国内外市场上需求量很大,其种苗供不应求。百合的繁殖主要靠鳞茎、分株进行,繁殖速度慢,而离体培养为加快繁殖、满足市场需求提供了理想的途径。自 1957 年 Robb 首次发表了百合的组织培养^[5]文章后,到现在成功的百合组织培养方法已有 40 多种^[6]。笔者利用荷兰百合索尔邦的不同组织作外植体进行离体培养,寻找最佳离体培养途径,以便大幅度提高繁殖速度,取得更大的经济效益。

1 材料与与方法

1.1 材料 供试材料,索尔邦百合,来自云南隆格园艺公司,该品种来源于荷兰。

1.2 方法 取百合鳞茎解冻后于 2005 年 10 月 16 日播种;2006 年 2 月 20 日,采用百合鳞片、叶片、茎段、花瓣作为外植体进行离体组织培养。用自来水将百合鳞片冲洗干净后,在超净工作台上用浓度 70%酒精浸泡 30 s,无菌水冲洗后,再用 0.1%氯化汞溶液浸泡 10 min,无菌水冲洗 6~7 次^[5-9]。用已消毒滤纸吸干鳞片表面水分,将外植体在无菌条件下切成 0.5 cm² 的小块,接种于诱导培养基上。基本培养基为 MS,琼脂 0.7%,蔗糖 3%,培养基 pH 值为 5.8,以 121℃高温高压灭菌 20 min,培养温度 22~25℃,光照强度 1 500~2 000 lx,光照时间 10~12 h/d。设计 4 种分化培养基(表 1),在 4 种分化培养基上分别接种鳞片、顶芽、茎段和叶片切块进行分化效果的试验;分化培养后,设计 8 种不同激素浓度

的培养基接种索尔邦百合鳞片愈伤组织,研究其诱导出芽效果(表 2);同时选取不同部位的百合鳞片材料进行接种培养,以研究其诱导出芽效果(表 3);待芽伸长,绿色叶片长出时,将芽切下转接到增殖培养基上,研究不同激素浓度对百合丛生芽增殖的影响(表 4)。

2 结果与分析

2.1 不同分化培养基对不同外植体分化效果的影响 表 1 表明,不同外植体在不同激素配比的培养基中,分化效果不同。鳞片切块的分化率最高,达 96.7%,开始分化的天数最短,其最适分化培养基为 MS+6-BA+IAA,其次是顶芽和茎段,叶片无分化。表 1 中还反映出不同外植体在同一激素配比下分化率不同^[9],这可能与不同外植体的生理状态差异有关。

表 1 不同激素配比对不同外植体分化效果的影响

外植体	激素种类及配比			接种外植体数//个	开始分化(膨大)d	60 d 形成小鳞茎或芽数//个	分化率//%
	6-BA mg/L	IAA mg/L	NAA mg/L				
鳞片	2.0	1.5	0	60	10	56	93.3
	2.0	1.0	0	60	9	58	96.7
	2.0	0	1.0	60	12	55	91.7
	2.0	0	1.5	60	10	50	83.3
顶芽	2.0	1.5	0	60	18	34	56.7
	2.0	1.0	0	60	22	45	75.0
	2.0	0	1.0	60	25	36	60.0
	2.0	0	1.5	60	28	38	65.0
茎段	2.0	1.5	0	60	27	34	56.7
	2.0	1.0	0	60	25	27	45.0
	2.0	0	1.0	60	32	29	48.3
	2.0	0	1.5	60	29	22	36.7
叶片	2.0	1.5	0	60	-	0	0
	2.0	1.0	0	60	23	0	0
	2.0	0	1.0	60	-	0	0
	2.0	0	1.5	60	-	0	0

2.2 不同激素浓度对索尔邦百合鳞片诱导出芽效果的影响 表 2 表明,低浓度 6-BA 的诱导培养基对鳞片诱导出芽有一定的效果。但随着 6-BA 浓度的升高,诱导效果反而有下降的趋势。其中以培养基 MS+6-BA 2.0 mg/L+IAA 1.0 mg/L 诱导出芽效果最好,于接种 9 d 后鳞片明显增厚变红;15 d

基金项目 西南科技大学与中国工程物理研究院横向合作研究课题(2003205)。

作者简介 陈学林(1963-),男,甘肃永登人,在读博士,硕士生导师,副研究员,从事系统与进化植物学研究。

收稿日期 2007-04-02

表2 不同激素浓度对百合鳞片诱导效果

培养基//mg/L	瓶数//瓶	外植体//个	芽苗数//个	生长势
①MS+6-BA 1.0+IAA 1.0	20	60	37	++
②MS+6-BA 2.0+IAA 1.0	20	60	76	+++
③MS+6-BA 3.0+IAA 1.0	20	60	51	+++
④MS+6-BA 4.0+IAA 1.0	20	60	45	+
⑤MS+6-BA 1.0+IAA 2.0	20	60	25	++
⑥MS+6-BA 2.0+IAA 2.0	20	60	37	++
⑦MS+6-BA 3.0+IAA 2.0	20	60	56	++
⑧MS+6-BA 4.0+IAA 2.0	20	60	45	+

注: +为生长势弱; ++为生长势较强; +++为生长势强。下表同。

后切口部位出现淡绿色愈伤组织; 25 d后切口出现绿色芽点。

2.3 不同部位的百合鳞片对诱导出芽效果的影响 表3为不同部位的百合鳞片材料切成0.5 cm²的块, 接种60 d后的观察结果, 培养基均采用MS+6-BA 2.0 mg/L+ IAA 1.0 mg/L。

表3 不同部位的百合鳞片诱导效果

鳞片部位	外植体数//个	诱导的芽总数//个
外部	20	61
中部	20	103
内部	20	3

表3表明, 芽的形成与鳞片不同部位有关。鳞茎中部的鳞片诱导出芽的能力最强, 外部鳞片次之, 内部鳞片几乎不能形成幼芽。由于外部鳞片易受细菌侵染, 增加了灭菌难度, 故一般不采用外部鳞片。利用中部鳞片进行组织培养, 既能提高芽的诱导率, 又能降低组培苗的污染^[6]。

2.4 不同激素浓度对百合丛生芽增殖的影响 表4表明, 低浓度的6-BA和IAA对芽增殖有较好的效果, 其中以⑥号培养基对芽增殖效果最好。将诱导出的芽转接到增殖培养基中, 20 d后, 芽基部膨大并分化出4~5个小芽, 形成芽丛。待芽生出嫩绿叶片, 长至1.5~2.0 cm时可转接到增殖培养基上继代培养, 也可转接到生根培养基上使其生根。一般30~40 d继代培养1次。

2.5 生根与移栽 将丛生试管芽切成单株接种在1/2 MS+IAA 0.5 mg/L的生根培养基上, 10 d后芽基部长出3~5条辐射状白色小根, 25 d后可全部生根。移栽前将试管苗从培养室中移出开瓶炼苗3~5 d, 移栽时, 将苗从培养瓶中取出, 洗

(上接第6043页)

- SREBP-1c expression[J]. Mol Cell Biochem, 2003, 254: 327-337.
- [19] MATSUZAKA T, SHIMANO H, YAHAGI N, et al. Insulin-independent induction of sterol regulatory element-binding protein-1c expression in the livers of streptozotocin-treated mice [J]. Diabetes, 2004, 53: 560-569.
- [20] SUNDQVIST A, ERICSSON J. Transcription-dependent degradation controls the stability of the SREBP family of transcription factors [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2003, 100: 13833-13838.
- [21] HIRANO Y, YOSHIDA M, SHIMIZU M, et al. Direct demonstration of rapid degradation of nuclear sterol regulatory element binding protein by the ubiquitin-proteasome pathway [J]. J Biol Chem, 2001, 276: 36431-36437.
- [22] NAAR A M, BEAURANG P A, ZHOU S, et al. Composite co-activator ARC mediates chromatin-directed transcriptional activation [J]. Nature, 1999, 398: 828-832.

表4 不同激素浓度对芽增殖效果

培养基//mg/L	瓶数//瓶	外植体数//个	芽总数//个	生长势
①MS+6-BA 0.5+IAA 0.2	10	30	104	+
②MS+6-BA 1.0+IAA 0.2	10	30	113	+++
③MS+6-BA 1.5+IAA 0.2	10	30	124	+++
④MS+6-BA 2.0+IAA 0.2	10	30	107	++
⑤MS+6-BA 0.1+IAA 0.4	10	30	193	++
⑥MS+6-BA 1.0+IAA 0.4	10	30	111	++
⑦MS+6-BA 1.5+IAA 0.4	10	30	143	+++
⑧MS+6-BA 2.0+IAA 0.4	10	30	109	++

去附着在苗上的培养基, 栽于草炭:蛭石=2:1的基质中, 保温保湿, 待小苗长出侧根后可栽入大田。

3 小结

试验结果表明, 组培荷兰百合索尔邦以鳞茎为最佳外植体, 以MS+6-BA 2.0 mg/L+IAA 1.0 mg/L的培养基诱导丛生芽效果最好, 其诱导率为96.7%, 而且鳞茎中部表现出较大的器官发生潜力; 百合继代增殖培养以1/2MS+6-BA 1.0 mg/L+IAA 0.4 mg/L培养基为宜; 组培苗在1/2MS+IAA 0.5 mg/L的培养基中较易生根, 生根时间为25 d左右。

参考文献

- [1] 晋京宜. 百合的开发与利用[J]. 湖北农业科学, 1999(4): 44.
- [2] 洪波. 百合花卉的综述研究[J]. 东北林业大学学报, 2000, 28(2): 68-70.
- [3] 赵丽辉, 王艳秋, 李详, 等. 荷兰百合引种的初步研究[J]. 吉林农业大学学报, 2000, 22(3): 37-38, 46.
- [4] ROBB SM. The culture of excised tissue from bulb scales of *Lilium speciosum* [J]. J Exp Bot, 1957(8): 348-352.
- [5] 罗丽萍, 杨柏云, 章敏华, 等. 百合的组织培养[J]. 中草药, 2001, 32(7): 640-642.
- [6] 张淑娟, 刘与明. 组织培养法快速繁殖新铁炮百合F1植株[J]. 植物生理学通讯, 1998, 34(5): 364.
- [7] 卢其能. 龙牙百合的组织培养和快速繁殖研究[J]. 江西农业大学学报, 2002, 14(4): 43-46.
- [8] 傅玉兰, 何凤群. 影响百合试管鳞茎增殖因素的研究[J]. 安徽农业大学学报, 2001, 28(2): 179-181.
- [9] 龙春林, 程治英, 王俐, 等. 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] 冷肖肖, 王青华. 外植体和培养因子对百合不定芽诱导的影响[J]. 河北林业科技, 2000(1): 1-2.
- [11] 谭文澄. 观赏植物组织培养技术[M]. 北京: 中国林业出版社, 1991.
- [23] KIM J B, SPIEGELMAN B M. ADD1/SREBP1 promotes adipocyte differentiation and gene expression linked to fatty acid metabolism [J]. Genes Dev, 1996, 10: 1096-1107.
- [24] SHIMOMURA I, HAMMER R E, JAMES A, et al. Insulin resistance and diabetes mellitus in transgenic mice expressing nuclear SREBP-1c in adipose tissue: model for congenital generalized lipodystrophy [J]. Genes Dev, 1998, 12(20): 3182-3194.
- [25] HORTON J D, SHIMOMURA I, IKEMOTO S, et al. Overexpression of sterol regulatory element-binding protein-1a in mouse adipose tissue produces adipocyte hypertrophy, increased fatty acid secretion, and fatty liver [J]. J Biol Chem, 2003, 278(38): 36652-36660.
- [26] HORTON J D, GOLDSTEIN J L, BROWN M S. SREBPs: activators of the complete program of cholesterol and fatty acid synthesis in the liver [J]. J Clin Invest, 2002, 109(9): 1125-1131.

GB/T 7714-2005

著录信息源

文后参考文献的著录信息源是被著录的文献本身。专著、论文集、学位论文、科技报告、专利文献等可依据书名页、版本记录页、封面等主要信息源著录各个著录项目; 专著、论文集中析出的篇章与报刊上的文献本身著录析出文献的信息, 并依据主要信息源著录析出文献的出处; 缩微制品可依据题名页、片头、容器上的标签、附件等著录; 光盘依据标签、附件等著录; 网络信息依据特定网址中的信息著录。