



# 西伯利亚百合花丝组织培养研究

姜春华

(甘肃农业职业技术学院园林工程系,甘肃 兰州 730020)

**摘要:**本试验以东方百合杂种系的西伯利亚品种为试材,采用正交试验法,筛选出的花丝为外植体的最佳诱导培养基和最佳增殖培养基,并进行了生根、移栽实验。结果表明:西伯利亚百合最适合花丝愈伤组织诱导与分化的培养基为 MS+6-BA1.0mg/L+IBA0.5mg/L;最佳增殖培养基为 MS+6-BA2.0mg/L+IBA0.1mg/L+NAA0.3mg/L。

**关键词:**百合;组织培养;诱导;增殖;快速繁殖

百合是百合科百合属的具地下鳞茎的多年生草本植物的总称,是世界上著名的球根花卉<sup>[1]</sup>,其鳞茎还具有食用和药用价值。中国是百合种类分布最多的国家,也是世界百合起源地之一,具有丰富的种质资源,约有47个原种18个变种<sup>[2]</sup>,占世界百合属总数的一半以上,其中36个种15个变种是中国特有的珍稀种<sup>[3]</sup>。观赏百合植株刚直挺秀,花大美丽,清雅脱俗,芳香宜人,常被人们视为纯洁、光明、自由和幸福的象征<sup>[4]</sup>。

国内百合切花和百合种球的繁殖生产,是近十几年随着我国花卉产业的兴起才发展起来的,其中云南省和甘肃省发展最快,目前生产面积大约有1500hm<sup>2</sup>,其产量和品质都居全国首位<sup>[5]</sup>。而传统的百合繁殖方法主要采用常规分球、分珠芽鳞片扦插鳞片包埋等,其缺点是:速度慢,繁殖系数较小,特别是经过多代分殖以后,常造成品种退化,甚至病毒积累,影响百合鳞茎和切花的产量和质量<sup>[6]</sup>,严重制约着百合的生产。利用植物组织培养技术,进行百合离体繁殖,是百合鳞茎和切花的大规模工厂化生产,创办“百合工业”的前提条件。

## 一、材料与方法

西伯利亚属于东方百合杂种系中的切花品种,用荷兰进口种球进行栽植。挑选生长健壮,开花良好的百合未开放的花蕾花丝分别作为外植体。

(一)无菌系的建立 剪取西伯利亚品种未开放的花蕾,于70%酒精溶液中浸泡8s,用无菌水冲洗3次,然后用0.1%的升汞溶液浸泡7min,再用无菌水冲洗3次~5次。选用生长健壮的百合花丝,用镊子夹开花瓣,剥离花丝,将剥离的花丝整段及时接种到不同激素配比的诱导培养基上(各种激素配比见表1),

表1.不同激素组合对西伯利亚百合花丝诱导的影响

编号 Code	6-BA (mg/L)	IBA (mg/L)	2,4-D (mg/L)	原接 种数	分化数	分化 率(%)
1	0.5		0.05	120	31	25.83
2	1.0		0.05	120	79	65.83
3	2.0		0.05	120	56	46.67
4	3.0		0.05	120	41	34.17
5	0.5	0.5		120	37	30.83
6	1.0	0.5		120	110	91.67
7	2.0	0.5		120	95	79.16
8	3.0	0.5		120	32	26.67

附加琼脂5g/L,蔗糖80g/L,pH5.6。

(二)不同激素组合对不定芽增殖的试验 采用正交试验设计L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)进行分析,将在诱导培养基上生长了60d后的不定芽,分割成4个~6个小芽块,选取大于5mm~15mm的不定芽转接到9种不同的增殖培养基上进行增殖培养。试验因子及水平排列为A[6-BA(mg/L)]、B[IBA(mg/L)]、C[NAA(mg/L)];A<sub>1</sub>:1.0、A<sub>2</sub>:2.0、A<sub>3</sub>:3.0;B<sub>1</sub>:0.1、B<sub>2</sub>:0.3、B<sub>3</sub>:0.5;C<sub>1</sub>:0.1、C<sub>2</sub>:0.3、C<sub>3</sub>:0.5,见表2。以

表2.L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)因子水平表

水平 Levels	A (mg/L)	B (mg/L)	C (mg/L)
	6-BA	IBA	NAA
1	1.0	0.1	0.1
2	2.0	0.3	0.3
3	3.0	0.5	0.5

改良MS培养基为基本培养基,附加琼脂5g/L,蔗糖80g/L,pH值为5.6~5.8。

(三)组织培养的条件 在组织培养室中进行光照培养,温度



24±1℃,每天光照时间为16h,光照强度2000Lx。

**四、移栽** 当试管苗长成高5cm~7cm左右,具有4片~5片叶,有3条~4条根,根长2cm~3cm,且根系白嫩较粗壮,生长良好时,移出培养室,将试管苗放到自然光照和温度的条件下进行炼苗,2d~3d后打开试管口,7d以后可移栽。移栽时用清水冲洗干净根部的培养基,以防霉菌的污染。设计4个不同的基质处理(见表5),消毒后进行栽植,并用1%灭菌灵喷洒地面,在温度20℃~25℃,湿度85%~90%之间,光照50%自然光,每天的光照时间为12h的条件下,每日喷水2次,20d后浇一次稀释MS营养液,30d后观察统计其生长情况。当幼苗长出新根后逐步降低湿度,加强光照,最后移到大田栽培。

**二、结果与分析**

**(一)百合花丝在不同激素组合下的诱导分化效果** 经观察,西伯利亚百合花丝容易诱导出愈伤组织,接种15d~20d左右,花丝尖端弯曲发黄,基部膨大产生绿色愈伤组织,约在40d~45d左右,出现芽的分化,之后花丝进一步伸长加粗,基部进一步膨大,在55d~58d左右时芽聚生在一起形成芽丛,并逐渐伸出绿叶。

从表1可以看出,西伯利亚百合品种在处理6和7诱导分化率较高,其中最适合花丝愈伤组织诱导与分化的培养基为MS+6-BA1.0mg/L+IBA0.5mg/L,6-BA与IBA的浓度比例为2:1。并且可以看出激素6-BA+2,4-D组合的诱导效果要比6-BA+IBA的组合的差,即在含有2,4-D的培养基上花丝的诱导结果不是十分理想。不同激素组合对花丝愈伤组织的形成有影响,随着2,4-D浓度的提高,愈伤组织的数量也增加的结论也不同。

不同品种的百合花丝分化能力有一定的差异,这是由于各个品种的内源激素水平不同而异。西伯利亚品种在处理1、4、5和8中表现较差,其中在处理1和处理5中6-BA含量为0.5mg/L,处理4和处理8中6-BA含量为3.0mg/L,因此,西伯利亚百合品种花丝愈伤组织诱导与分化的培养效果较差的原因可能是6-BA的含量过低(0.5mg/L),或过高(3.0mg/L),影响花丝愈伤组织的分化。同时可以看出,西伯利亚百合品种花丝愈伤组织诱导与分化的培养基中激素的组合和比例为6-BA:IBA=1:1或6-BA:IBA=6:1时,花丝愈伤组织诱导与分化效果均较差。

**(二)百合花丝不定芽在不同激素组合下的增殖效果** 选取大于1.5cm的初代培养中诱导分化出的不定芽,分割成4个~5个小块芽丛,转接到不同培养基上进行增殖培养。经观察,培养7d~10d后原有芽继续增长,原有愈伤组织块也可以分化出新的不定芽,10d~15d后分化出许多淡黄绿色的小突起状愈伤组织团。23d~25d后这些胚性愈伤组织团的小突起逐渐分化出不定芽,60d~70d后可长成小苗。

根据表3中k值的大小的比较可得出,西伯利亚为A<sub>2</sub>B<sub>1</sub>C<sub>2</sub>,即花丝最佳增殖培养基为MS+6-BA2.0mg/L+IBA0.1mg/L+NAA0.3mg/L。极差R值越大的因素对指标影响越显著,在本试验中西伯利亚百合花丝在继代增殖培养中都以A为主导因素,3个因素的影响程度依次为6-BA>IBA>NAA。

**表3.不同激素组合对西伯利亚百合不定芽增殖的影响**

试验号	A	B	C	e	原接种数(个)	增殖数(个)	增殖倍数
1	1	1	1	1	120	427	3.56
2	1	2	2	2	120	407	3.39
3	1	3	3	3	120	307	2.56
4	2	1	2	3	120	596	4.97
5	2	2	3	1	120	534	4.45
6	2	3	1	2	120	568	4.73
7	3	1	3	2	120	462	3.85
8	3	2	2	3	120	474	3.95
9	3	3	1	1	120	430	3.58
K <sub>1</sub>	9.51	12.38	11.87	11.59			35.04
K <sub>2</sub>	14.15	11.79	12.31	11.97			
K <sub>3</sub>	11.38	10.87	10.86	11.48			
k <sub>1</sub>	3.17	4.13	3.96	3.86			
k <sub>2</sub>	4.72	3.93	4.10	3.99			
k <sub>3</sub>	3.79	3.62	3.62	3.82			
R	1.55	0.51	0.46	0.17			

**表4.方差分析**

方差来源	平方和	自由度	均方	F
A	3.63	2	1.82	82.45*
B	0.39	2	0.19	8.76
C	0.37	2	0.18	8.36
误差	0.04	2	0.02	
总和	4.43	8		

由方差分析表可以看出(见表4),A因素对西伯利亚百合花丝的继代增殖培养有显著影响,对凝星花丝的继代增殖培养有极显著影响,B和C因素则无显著影响;与直观分析结论相同。在西伯利亚百合花丝的继代增殖培养中,最佳培养基中细胞分裂素类激素的浓度与细胞生长素类激素浓度的比例是5:1,即西伯利亚百合6-BA:(IBA+NAA)=2:(0.1+0.3)=5:1,说明细胞分裂素类激素的浓度与细胞生长素类激素浓度的比例相对较高时最有利于花丝的继代增殖。据观察,不仅增殖系数高,小苗长势也健壮;而较低浓度比例下增殖系数低,小苗长势也一般。宜适当控制6-BA浓度,太高影响苗木质量,太低影响繁殖系数<sup>[7]</sup>。本试验还有很多地方未涉及到,例如花丝的不同部位的研究、植物生长调节剂对苗形成的影响等等还需进(下转第96页)

时实现可视化,具有防火、防盗、监控功能,提高了系统整体的性能价格比;适合于空间高度高、容积大、火场温度升温较慢、难以设置传统闭式自动喷水灭火系统的场所。

大空间智能型主动喷水灭火系统与传统的采用由感温元件控制的被动灭火方式的闭式自动喷水灭火系统以及手动或人工喷水灭火系统相比具有以下优点:一是具有人工智能、可主动探测寻找并早期发现判定火源;二是可对火源的位置进行定点定位并报警;三是可主动开启系统定点定位喷水灭火;四是可迅速扑灭早期火灾;五是可持续喷水、主动停止喷水并可多次重复启闭;六是适用空间高度范围广;七是安装方式灵活,不需要贴顶安装,不需要极热装置;八是射水型灭火装置(自动扫描射水灭火装置及自动扫描射水高空水炮灭火装置)的射水水柱水量集中,扑灭早期火灾效果好;九是洒水型灭火装置(大空间智能灭火装置)的喷头洒水水滴颗粒大、对火场穿透能力强、不易雾化等;十是对保护区域实施全方位连续监视。

大空间智能型主动喷水灭火系统与利用各种探测装置控制

自动启动的开放式雨淋灭火系统相比有以下优点:一是探测定位范围更小、更准确,可以根据火场火源的蔓延情况分别或成组地开启灭火装置喷水,既可达到雨淋系统的灭火效果,又不必像雨淋系统一样一开一大片,可在有效扑灭火灾的同时,可减少由水灾造成的损失;二是在多个(组)喷头(水炮)的临界保护区发生火灾时,只会引起周边几个(组)喷头(水炮)同时开启,喷水量不会超过设计流量,不会出现雨淋系统两个或几个区域同时开启导致喷水量成倍增加而超过设计流量的情况。

大空间智能型主动喷水灭火系统的出现,为大空间场所的消防扑救提供了一个全新而有效的手段。目前大空间智能型主动喷水灭火系统虽已在国内许多工程中得到成功应用,但在设计过程中还存在许多疑问和不解的地方,需要我们在以后的设计过程中不断学习、多方交流,使得大空间智能型主动喷水灭火系统更加完善、合理,并能得到大力推广,以更好的为社会服务。

(责任编辑 赵鹏飞)

(上接第93页)一步研究。

(三)百合花丝组培苗的生根效果 取健壮不定芽,转接在生根培养基MS+IBA0.5mg/L+蔗糖30g/L中。15d后芽基部稍膨

表5.不同基质对百合移栽的影响

基质	移栽数(苗)	成活数(苗)	成活率(%)	长势状况
田园土	156	140	89.7	较差
自然土:河沙=1:1	156	148	94.8	良好
水苔	156	156	100	良好
蛭石	156	142	91.0	一般

大,开始发生白色的小根,呈辐射状生长。25d后根长2cm~3cm,生根率可达95%。

(四)百合组培苗的移栽 将通过炼苗后的组培苗分栽于消毒的不同的基质中,设计4个处理,经观察移植苗在10d后出现白色辐射状的小根,25d后生根完全,即可移至苗圃中,进行常规栽培。

由表5可见百合苗移栽较容易成活,不同基质对百合移栽

也有影响,利用水苔作基质的成活率最高,为100%,且长势良好;其次为自然土:沙子=1:1,长势良好。

#### 参考文献

- [1]施宗明.云南名花鉴赏[M].昆明:云南科技出版社,1999.
- [2]程金水.园林植物遗传育种学[M].北京:中国林业出版社,2000.
- [3]张云,原雅林,刘青林.百合品种改良与生物技术研究进展[J].北京林业大学学报,2001,(6).
- [4]曹孜义,刘国民.实用植物组织培养技术教程[M].兰州:甘肃科学技术出版社,2001.
- [5]樊金萍,车代弟.百合切花生产现状及市场前景[J].北方园艺,2003,(3).
- [6]蒋细旺,司怀军.百合的组织培养技术综述[J].湖北农业科学,2004,(1).
- [7]谷祝平,邦国铝.从百合花药诱导花粉植株的研究[J].植物学报.1982,(1).

(责任编辑 赵鹏飞)