

野百合的组织培养与植株再生

潘佑找, 胡 琼 (长江大学园艺园林学院, 湖北 荆州 434025)

[摘要]研究了野百合(*Lilium brownii* var. *viridulum*)鳞片不同位置(外层、中层、内层)的鳞片对野百合组织培养成苗的影响。结果表明,外层鳞片的诱导率为87.50%,每个外层鳞片平均分化的小鳞茎数为3.56个;外层鳞片继代培养时产生的鳞叶数量多,并能最早抽生出叶;外层鳞片诱导出的根状态最好,表现为根粗、长、侧根多。外层鳞片诱导植株再生的能力最强。

[关键词]野百合(*Lilium brownii* var. *viridulum*);组织培养;外植体;植株再生

[中图分类号]Q813.1⁺2;Q949.71⁺8.23 **[文献标识码]**A **[文章编号]**1673-1409(2007)04-S068-03

野百合(*Lilium brownii* var. *viridulum*)原产于我国,为我国传统花卉,其植株刚直挺秀,叶子青翠娟秀,茎干亭亭玉立,花大美丽,花姿别致,清雅脱俗,是观赏价值极高的鲜切花材料。野百合还适宜盆栽、庭院绿化,适宜布置成专类花园,其地下鳞茎可食用和药用^[1]。发展野百合产业有广阔的市场前景,但野百合在自然状况下繁殖较慢,由于人为破坏和干扰,野生资源日益减少,处于濒危状态^[2]。生产上常用的小鳞茎繁殖方法繁殖周期长、繁殖系数低、因病毒侵染使得种性退化等问题,使得野百合的生产成本高、种球供应困难、市场风险大^[3]。应用组织培养技术培育野百合,能够有效而快速地脱去病毒,获得无病毒苗,实现野百合品种的脱毒复壮,缩短其生育周期^[4~6]。本试验研究不同位置(外层、中层、内层)的鳞片对野百合组织培养成苗的影响,以期简化组培条件,为实现野百合的商品化生产提供参考。

1 材料与方 法

1.1 材 料

野百合鳞茎球于2005年4月采自湖北省长阳县乐园乡,后植入长江大学植物园。

1.2 方 法

(1)诱导培养 诱导培养基为MS+1.0 mg/L 6-BA+0.2 mg/L NAA+1%琼脂+3%蔗糖。按外层、中层、内层的位置取鳞片分别放入3个培养皿中,置于超净工作台上。将鳞片置于70%酒精中浸摇10 s,再转入0.1% HgCl₂溶液中浸泡10 min,然后用无菌水冲洗8次。用解剖刀将鳞片的中下部切成0.5 cm×0.5 cm的方块。用镊子夹取外植体,接种到培养基中,使鳞片凸面接触培养基,将接种的培养瓶放入温度(24±2)℃的培养室中,暗培养6 d后转入光周期为12 h/d、光强为1 000~2 000 lx的光照条件下培养。

(2)继代培养 继代培养基为MS+1.3 mg/L 6-BA+0.5 mg/L NAA+1%琼脂+3%蔗糖。在超净工作台上,将初代培养的外植体放于垫有无菌滤纸的培养皿中,去除鳞片后置于继代培养基上,将接种的培养瓶放入温度(24±2)℃,光照为1 000~2 000 lx、光周期为12 h/d的光照条件下培养。

(3)生根培养 生根培养基为MS+0.1 mg/L NAA+0.2 mg/L IBA+1%琼脂+3%蔗糖。用镊子从继代培养瓶中取出野百合的组培苗,放入生根培养瓶。温度(22±2)℃,先进行10 d暗培养,再转入光照为1 000~2 000 lx、光周期为12 h/d的培养条件下培养。

(4)炼苗 在组培苗的根长到1~1.5 cm左右时,开瓶炼苗。先将试管苗不开口移到自然光照下锻炼,让组培苗接受自然光照,使其长得壮实,5 d后,逐步划开封口膜,使之经受较低湿度的锻炼。12 d后,完全去掉封口膜,将组培瓶放入内有少量水的塑料盆,用塑料膜将盆口轻轻盖住,继续在自然光照环境中

[收稿日期]2007-05-09

[第一作者简介]潘佑找(1964-),男,湖北浠水县人,农学硕士,副教授,研究方向为园艺植物生理学。

培养 20 d。

(5)假植 炼苗后,将组培苗从生根培养基中取出后,放入盛有 20 ℃左右温水的大烧杯中洗掉附着在根上的培养基,然后放入另一装有 20 ℃左右温水的烧杯中清洗 1 次,蘸 40 mg/L IBA 溶液,停留约 2 s 后,移入装有栽培基质(营养土)的、底部有小孔的塑料杯中(栽培基质为珍珠岩:蛭石:草炭土=1:1:0.5。栽培基质装入前已放入高压灭菌锅中消毒)。将全部塑料杯放入底部有少量水的大托盘中,假植移栽后浇透定根水,水温 20 ℃左右,上覆塑料膜以保湿,置于自然光照下。以后,逐步减少塑料膜覆盖时间,以逐步降低空气湿度,喷 1/10 MS 的营养液及铁盐作叶面喷肥,每 7~10 d 喷一次 75% 的百菌清可湿性粉剂 2 000 倍液。

2 结果与分析

2.1 野百合不同位置的外植体诱导培养的效果

诱导培养 7 d 后,野百合外植体鳞片切口的周缘出现启动迹象,产生了数目不等的白色圆形小突起;诱导培养 12 d 后,白色的圆形小突起转变为绿色;诱导培养 23 d 后,外植体鳞片上的圆形小突起已分化出淡绿色的小鳞茎(图 1)。外层鳞片形成小鳞茎的个数较多,平均每个外植体分化小鳞茎数为 3.56 个,外层鳞片分化率为 87.50%(表 1),说明外层鳞片所积累的养分较高,有利于分化。

表 1 不同位置的鳞片对小鳞茎诱导的影响
Table 1 Effects of explants in different positions on induced the bulblet formation

位置	接种数	污染数	形成小鳞茎的外植体数	诱导率/%	小鳞茎数	平均每个外植体分化小鳞茎数
外层	16	2	14	87.50	57	3.56
中层	10	1	8	80.00	22	2.20
内层	14	2	8	57.14	24	1.71

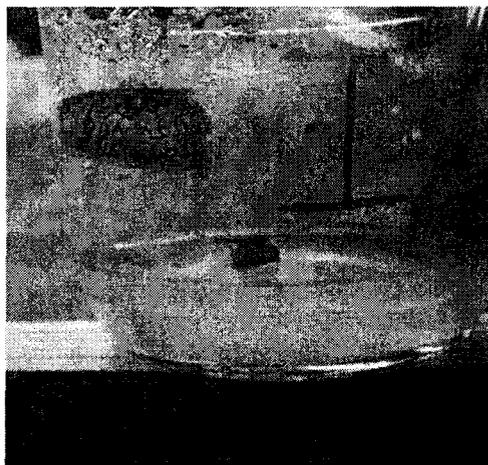


图 1 外植体鳞片分化出的新绿色小鳞茎
Figure 1 The explant splits up the small bulbs with pale-green

在小鳞茎继代培养过程中,小鳞茎上鳞片数量增多,鳞片继续长大,且少数小鳞茎上有细小的白根产生(图 2),说明此培养基有利于启动小鳞茎的生根培养。外层鳞片上长出了鳞叶,且数量多(图 3)。

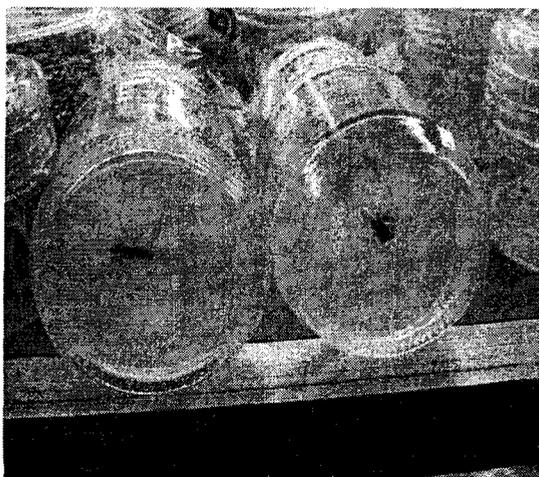


图 2 小鳞茎上有细小的白根产生
Figure 2 Small bulbs produce the tiny white roots

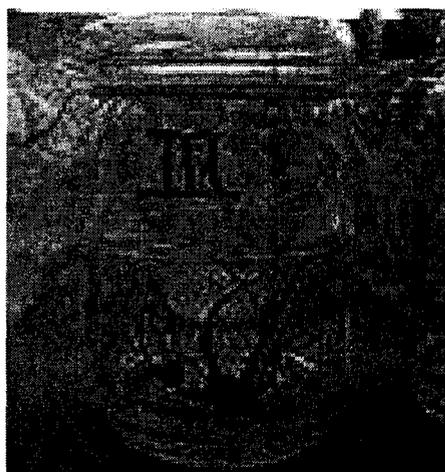


图 3 鳞片上开始抽生出长长的绿鳞叶
Figure 3 The lamellae produce leaves

2.2 小鳞茎生根和假植的效果

小鳞茎在生根培养基中,在小鳞茎继续长大的同时,根大量发生(图4、图5)。小鳞茎在生根过程中,外层鳞片的根长势良好,生根率为100%。

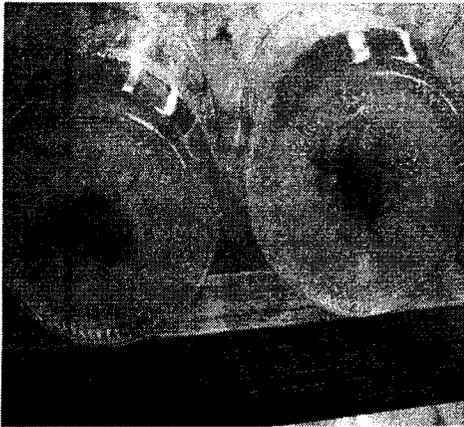


图4 小鳞茎上的根大量发生

Figure 4 Massive roots on small bulbs

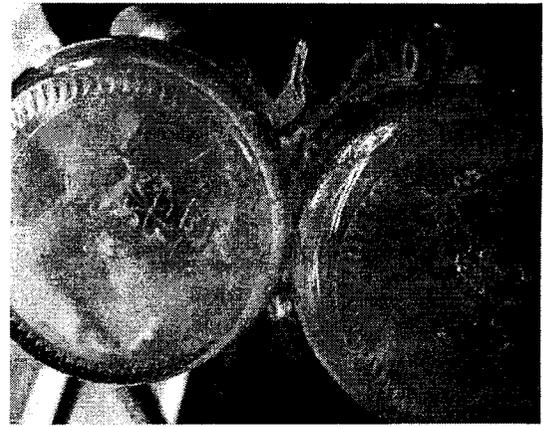


图5 小鳞茎上产生一定数量的白根

Figure 5 White roots on small bulbs

炼苗结束后,外层鳞片产生的组培苗的成活率达到了85.19%,并且鳞叶生长情况良好(图6)。假植20 d后,组培苗长势良好(图7)。说明外层鳞片的营养条件较好,较适合组织培养。

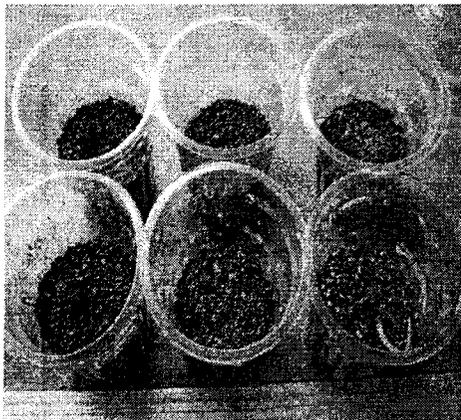


图6 炼苗后组培苗的生长情况

Figure 6 Growth of transferred plants

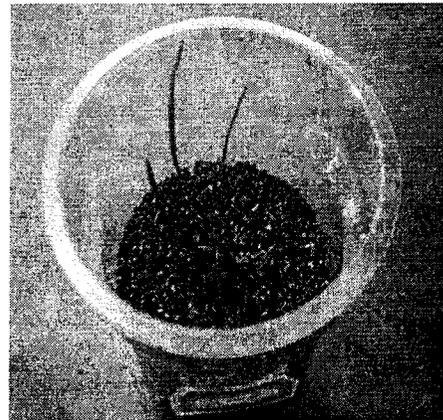


图7 假植后组培苗的生长情况

Figure 7 Growth of transference

3 小结

外层鳞片的诱导出芽率为87.50%,平均每个外植体分化小鳞茎数为3.56个。外层鳞片是野百合组织培养(以鳞片为外植体时)的最适外植体,野百合组培苗炼苗及假植期污染率低,成活率高。但该再生体系还需进一步验证。

[参考文献]

- [1]祝晓云.野百合组织培养与快速繁殖[J].耕作与栽培,2002,(2):29~30.
- [2]余朝秀,关文灵.野百合组织培养的研究[J].西部林业科学,2005,34(2):76~78.
- [3]余小涵.百合组织培养技术研究[J].林业技术开发,2002,16(6):27~29.
- [4]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):78~82.
- [5]王刚,杜捷,李桂英,等.兰州百合和野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):69~71.
- [6]张延龙,徐炎,李峰,等.秦岭野百合鳞片植株再生体系的建立[J].西北植物学报,2004,24(7):1315~1318.