

食用百合组织培养快繁技术研究

李谋智

(甘肃省白银市农业科学研究所, 730900)

中图分类号:S644.103.6 文献标识码:B 文章编号:1001-0009(2006)01-0101-02

百合是单子叶植物亚纲百合科(*Liliaceae*)百合属(*Lilium*)的所有种类的总称,全世界约有90多种。百合是多年生草本植物,药用价值、经济价值和观赏价值甚高。根据用途可分为药用百合、食用百合和观赏百合。兰州百合(*Lilium davii* var. *uni color* (Hoog) Cotton)是一种具有悠久栽培历史的优良食用品种,鳞茎瓣厚、丰润、口感甜美,具有很高的营养及经济价值。

百合的繁殖方法很多,有播种、鳞片扦插、小鳞茎繁殖、株芽繁殖和组织培养等。常规繁殖方法为小鳞茎繁殖,繁殖系数低,易感染病毒,影响其经济价值。通过组织培养技术手段,可有效解决以上问题,不但在短期内能获得大量种苗,还可以通过茎尖脱毒技术得到品质优良的脱毒苗。因此,组织培养繁殖百合是一种很有前途的方法。

本试验以兰州百合鳞片为材料,对芽的诱导、增殖、生根及移栽进行了深入系统的研究。探讨了不同激素浓度的培养基对芽的生长、增殖及生根的影响,为兰州百合种苗品种复壮及大规模生产提供可靠的技术路线和理论依据。

1 试验材料与方法

1.1 试验材料处理

将兰州百合鳞茎的鳞片分离,挑选无病斑者,在自来水上用刷子洗净泥土,再在洗涤剂水中浸泡60 min~70 min(分钟);流水冲洗3 h~5 h(小时)后,在超净台上用75%乙醇消毒10 s~20 s(秒),投入0.1%升汞溶液中消毒8 min~10 min(分钟),然后用无菌水冲洗5~6次。将消毒好的不同部位鳞片横切成上、中、下三部分,接种于附加不同种类和浓度激素的MS培养基中进行初代培养。

1.2 培养条件

以MS培养基为基本培养基,附加不同种类和浓度的激素,蔗糖30 g/L(克/升),pH5.6;均用0.6%的琼脂固化;光照强度为2 000 Lx(勒克斯),光照时间为12 h/d(小时/天);培养温度为(23±2)℃。每组5~8个处理。

2 结果与分析



作者简介:李谋智,1965年生,白银市农业科学研究所高级农艺师,1986年毕业于甘肃农业大学园艺系,现从事作物组织培养试验研究,主持和参加省、市科研项目10余项,获白银市科技进步二等奖4项,三等奖6项,在省级以上刊物发表专业论文10余篇。

收稿日期:2005-10-13

2.1 百合鳞片的不同部位对小鳞芽形成的影响

将每个鳞片分切成上、中、下三段,作为外植体接种于培养基(见表1)。10 d(天)后鳞片开始变绿,18 d(天)后鳞片凹面出现白色突起,45 d(天)后突起形成小芽。小芽长大后形成鳞茎,部分小芽基部长出白根,且具有丰富的根毛。

由表1可知,鳞片的不同部位接种后分化小鳞芽的能力不同,鳞片产生芽的能力从强到弱顺序为:基部、中部、上部。鳞片基部诱导率为86.0%,中部为44.0%,鳞片上部诱导率几乎为0。另外,百合外部鳞片易受机械损伤,造成杂菌感染,接种后污染率较高;内部鳞片较易形成小鳞芽,但芽的长势较弱;中部鳞片易形成小鳞芽,且长势较强。因此,百合中部的基部是进行初代芽诱导培养的最好外植体。

表1 鳞片的不同部位对小鳞芽形成的影响

	上部	中部	基部
外植体数(个)	50	50	50
形成鳞芽的外植体数(个)	0	43	22
鳞芽诱导率(%)	0	86.0	44.0

2.2 激素对百合鳞片诱导芽的影响

表2 激素对百合鳞片诱导芽的影响

培养基编号	激素(mg/L)		芽诱导率(%)	新生芽平均数(个)	生长状况
	BA	NAA			
1	0.11	0.05	31	2.2	一般
2	0.1	0.1	38	2.6	一般
3	0.3	0.05	63	4.1	较好
4	0.3	0.1	69	4.5	良好
5	0.3	0.5	58	4.8	较好
6	0.5	0.1	92	7.6	良好
7	0.5	0.5	82	5.5	良好
8	0.5	1.0	78	4.2	良好
9	1.0	0.1	54	6.4	生长较慢
10	2.0	0.1	46	4.8	生长较慢

鳞片接种45 d(天)后统计试验结果(表2),BA浓度在0.3 mg/L~0.5 mg/L(毫克/升)之间,NAA浓度与此相对应在0.05 mg/L~1.0 mg/L(毫克/升)之间对鳞片的诱导效果较好,诱导率为63%~92%,平均每个外植体上可诱导出4个以上的小芽;BA浓度在0.3 mg/L(毫克/升)时,芽的诱导率不高,且每个外植体上新生芽数少;BA浓度在1.0 mg/L(毫克/升)以上时,尽管诱导率较高,芽平均数也不低,但后期芽的生长受到了抑制,表现为小鳞茎数增多但不长高。因此,3~8号培养基是较好的初代培养基,其中6号培养基最理想,不但诱导率高,而且平均每个外植体的新增芽数也多,诱导产生的小芽数也多,为7.6个。因此,MS+BA0.5 mg/L+NAA

0.1 mg/L(毫克/升)是百合鳞片诱导芽的最适宜培养基。

2.3 激素对百合芽增殖的影响

待初代培养基中诱导产生的小芽长到 2.0 cm~4.0 cm(厘米)时,将其分成单株,转接到表 3 所列的培养基中,分化增殖培养。每瓶培养基接 3 个小芽,每个处理接 15 瓶。20 d(天)后芽基部出现新生小芽,逐渐形成芽丛。60 d(天)后统计试验结果(见表 3)。

表 3 激素对百合芽增殖的影响

培养基编号	激素(mg/L)		新增芽数 (个)	生长状况
	BA	NAA		
1	0.1	0.05	4.8	良好
2	0.1	0.08	4.1	良好
3	0.1	0.1	3.7	较好
4	0.5	0.05	4.2	良好
5	0.5	0.08	3.6	好
6	0.5	0.1	2.8	较差
7	0.8	0.05	2.6	较差
8	0.8	0.1	1.3	差

从初代培养可知,BA 浓度过高将抑制芽的正常生长,在继代培养中,我们选择了较低浓度配比。表 3 的试验结果表明,在 BA 浓度相同的条件下,较低浓度的 NAA 有利于芽的增殖。当 BA 浓度达到 0.8 mg/L(毫克/升)时,丛芽基部出现大量愈伤组织。由此可知,MS + BA0.1~0.5 mg/L + NAA0.05~0.08 mg/L(毫克/升)是百合诱导芽增殖的适宜培养基。

另外,观察发现低于 2.0 cm 或高于 4.0 cm(厘米)的芽移入继代培养基中,产生新芽少;而芽高为 2.0 cm~4.0 cm(厘米)的芽,生长旺盛,产生丛芽数多,为较好的继代培养材料。

2.4 激素对百合芽生根的影响

将增殖培养基中已长至 5 cm(厘米)以上的丛芽分割为单株,转接入表 4 所列培养基中诱导生根,基本培养基为 1/2 MS 培养基,附加活性炭 3 g/L(克/升)。7 d(天)即有根生出,15 d(天)后观察记录小芽生根情况,60 d(天)后统计新增小芽平均数,结果见表 4。

表 4 激素对芽丛生根的影响

培养基编号	激素(mg/L)		生根率 (%)	生根数 (条)	新增芽数 (个)
	BA	NAA			
1	0.05	0.05	100.0	10.8	3.4
2	0.1	0.1	100.0	9.6	3.2
3	0.1	0.5	98.6	8.5	2.8
4	0.5	0.05	95.4	4.8	2.9
5	-	0.1	94.2	5.6	2.6
6	-	0.5	93.5	4.3	1.3
7	0.1	-	88.6	3.2	1.9
8	0.5	-	83.2	2.6	1.2

试验结果表明,1~5 号培养基均对根有较好的诱导率,达到 93.5%~100%。其中以 1~3 号培养基生根效果最好,其生根平均数达到 8.5~10.8 条。尤其是 1 号和 2 号,在生根培养的同时,生根苗基部可新增出带根的小鳞茎,平均芽数可达 3.2~3.4 个,可一次性成苗,简化了培养步骤,缩短了培养时间,降低培养成本。因此,MS + BA0.05 mg/L~0.1 mg/L + NAA0.05~0.1 mg/L(毫克/升) + 活性炭 3 g/L(克/升)

是百合芽生根诱导的适宜培养基。

2.5 不同培养容器对百合生根的影响

用新近购置的组培瓶与传统的三角瓶作百合生根的对比试验研究,结果见表 5。

表 5 不同培养容器对百合生根的影响

容器	所用培养基		容器成本		工作效率		污染率	
	用量 (L)	增减 (%)	用量 (个)	单价 (元/个)	费用 (元)	增减 (%)	用时 (h)	增减 (%)
组培瓶	93.35	-41.7	1	667	2 667.20	-80.0	285.7	-30.3
三角瓶	160.03	-	3	334	4.00	13 336.00	-	410.0
								5.0

注:生产 1 万亩的试验结果,组培瓶 1 瓶可接 6 株,三角瓶 1 瓶接 3 株。

由表 5 可知,生产 1 万株组培苗,组培瓶可比三角瓶节省容器成本 80%,减少培养基用量 41.7%,工作效率提高 30.3%。用组培瓶生产百合,可大幅度减少组培苗的生产成本,为规模化种植百合提供了可能。虽然,组培瓶的污染率稍高,但组培瓶不易损耗,而三角瓶易破损,这就弥补了组培瓶较易污染的不足。

2.6 基质对百合组培苗移栽生长的影响

在生根培养基中,待根长至 1 cm~2 cm(厘米)时,开瓶炼苗 3 d(天)后移入不同配比的移栽基质中,保持 75% 的湿度,50% 的自然光。每日喷 2 次水,20 d(天)左右喷 1 次稀释 MS 营养液,观察其生长情况。

表 6 不同移栽基质对试管苗生长情况的影响

基质编号	基质配比成份	成活率(%)	生长状况
1	腐殖土:珍珠岩(1:1)	95	好
2	蛭石	86	一般
3	珍珠岩	93	较好
4	珍珠岩:蛭石	98	较好
5	腐殖土	69	较差

从表 6 可以看出,1 号、3 号、4 号是比较好的百合组培苗移栽基质配比,移栽的百合苗成活率高,生长良好。其中 1 号不仅通气、保水性好,又有充足的营养,满足试管苗生长需求,成活率高,苗生长健壮。因此,腐殖土:珍珠岩(1:1)是最好的移栽基质配比。

3 小结与讨论

百合鳞片诱导芽的能力因鳞片的部位而异,且差异较大,诱导成功率也较低;百合芽的继代增殖培养较为容易,虽然每个周期的繁殖系数较低,但用时较短,在一定的时间内还是具有很高的繁殖率;百合组培苗生根较为容易,附加活性炭的培养基比不加活性炭的培养基,百合苗生长旺盛,根系发达。

组培瓶作为百合组培苗生根的容器,具有节省成本、提高工效的优点,而且幼苗生长空间大,生长健壮,生根苗取出时非常容易,不易伤苗,为批量生产百合组培苗,实现食用百合的规模化种植提供了可能。

参考文献:

- [1] 王康才.百合栽培新技术[M].北京:中国农业出版社,1999.
- [2] 中国科学院(中国植物志)编委会.中国植物志(第一卷百合科)[M].北京:科学出版社,1980,116~166.
- [3] 赵庆芳,李巧峡,丁兰,等.西伯利亚百合的组织培养和离体快繁[J].甘肃科学学报,2003,15(4):52~55.