

青岛百合的组织培养技术研究

赵 强, 李庆典, 赵玉岭

(山东省莱阳农学院青岛校区园艺学院, 青岛 266109)

摘 要:以青岛百合鳞片为外植体诱导不定芽的最适培养基为 MS+0.3mg/L NAA+1.5mg/L 6-BA;以再生苗切段为外植体诱导不定芽的最适培养基为 MS+0.1 mg/L NAA+1.5mg/L 6-BA;最适生根培养基为 1/2MS + 0.5 mg/L NAA;最佳移栽配方土为草炭土:蛭石:园土按 1:1:1 比例混合的营养土。

关键词: 青岛百合; 组织培养; 快繁

中图分类号: S 682.2⁺ 9; S 603.6(252) **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2007)06-0213-02

青岛百合(*Lilium tsingtauense* Gilg LiliaCeae)又名崂山百合,是一稀有物种,属百合科、百合属,为多年生单叶草本植物。青岛百合不仅是重要的药食兼用植物,而且具有很高的观赏价值,是百合属植物良好的遗传育种资源。因其分布范围狭窄,对生长条件要求高,现已逐渐稀少,已被列入国家第二批稀有濒危植物名录。

目前,国内外对青岛百合的研究较少。从保护和挖掘我国特有的种质资源方面来看,利用组织培养的方法加快青岛百合的繁殖,扩大种群分布范围,对青岛百合的保护和可持续利用具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 试验材料

青岛百合于 2005 年 9 月采于青岛崂山北九水。

1.2 试验方法

将青岛百合先用自来水冲洗干净,剥开鳞茎分成外、中、内 3 部分(注:外围 1~2 层鳞片为外部鳞片,中心较嫩的 2~3 层为内部鳞片,其余为中部鳞片),剔除腐烂的鳞片,用洗衣粉液浸泡 1~1.5h,然后流水冲洗 2~3h,然后与不同位置的鳞片相结合进行不同灭菌处理。先用 75%酒精表面灭菌 30s,无菌水冲洗 1 次,再放到 0.1%氯化汞溶液中灭菌,再用无菌水冲洗 5 次,然后将每片鳞片切成上、中、下(靠近根部的为下)3 块接种到培养基上。不同部位鳞片 0.1%氯化汞灭菌的时间设置 5 个梯度:1、2、3、5、8min,共 15 个处理。

灭菌后的鳞片切成 0.5cm×0.5cm 小块接种在添加了不同激素的 MS 培养基上,附加蔗糖 3%,琼脂 0.7%,pH 值为 5.8。激素 NAA 设置 4 个梯度 0.1、0.3、0.5、1.0mg/L,6-BA 也设置 4 个梯度 0.5、1.0、1.5、2.5mg/L,

两者搭配,共 16 个配方。培养条件为光照强度 2 000Lx,培养温度(22±2)℃。

在无菌苗长到 3~4cm 高时,将生长健壮的无根苗单株接到各生根培养基中。生根培养基选择 1/2MS 培养基(大量元素减半其他不变),附加糖 2%,琼脂 0.7%,pH 值为 5.8,只添加激素 NAA 设置 6 个梯度 0、0.05、0.1、0.3、0.5、1.0mg/L,只添加 2,4-D 也设置 6 个梯度 0.05、0.1、0.2、0.3、0.5mg/L,一共 11 个处理。

将长出根或小鳞茎的幼苗打开瓶盖练苗 3~7d 后,取出洗去根上面的培养基定植到装有不同配方土的营养钵内,浇透水,盖上薄膜,使其保持高温高湿的环境。1 周之后,逐渐揭去薄膜,让组培苗逐渐适应外界的环境。

2 结果与分析

2.1 不同灭菌处理的效果

灭菌是组培中关键的一步,不同的外植体所要求的灭菌时间不同^[1]。随着升汞灭菌时间的增加,污染率逐渐下降。外部鳞片由于机械损伤,本身容易带菌,污染率较高,在相同的灭菌时间后,越往里,鳞片的污染率越低。在试验中发现青岛百合鳞片本身内部含菌较多,在开始不污染的鳞片,在 2 周之后还会有污染,采取及时将未污染的鳞片移到新培养基上的方法可以有效的降低这种污染造成的组培苗损失。根据表 1 可以看出,灭菌时间在 3~8min 时,不同位置鳞片的污染率基本都在 10%以下,考虑到灭菌时间的加长同样会对外植体造成更多的伤害,所以选择 3~5min 作为升汞灭菌的最佳时间。

2.2 不定芽的诱导与增殖

有关研究表明^[2],百合鳞片上、中、下不同部位的不定芽诱导难易程度不同,由难到易为上部、中部、下部李巧峡等^[3]在进行娜托百合组培试验中舍弃了上部鳞片,由表 2 可以看出,青岛百合上部鳞片不定芽诱导率不是很低,因此对青岛百合来说,不需舍弃上部鳞片。

在以往的文献中^[4~5],大都是先诱导出不定芽然后再将切下的芽丛接种到增殖培养基上,但是这个过程往

第一作者简介:赵强(1981-),男,山东滕州人,在读硕士研究生,蔬菜育种专业,山东省莱阳农学院青岛校区园艺学院研究生, Email: qq51186988@y.ahoo.com.cn, 收稿日期: 2007-01-22

往比较长,增殖速度慢。试验采取以再生苗的切段为外植体进行不定芽的再诱导,通过这种方法能够快速获得大量的不定芽。采用再生苗切段培养的方法,4d后切段明显膨大,1周后就有大量的点状突起,3周后就得到大量的不定芽。由表3可以看出,16种处理均能诱导出不定芽,以鳞片为外植体时,诱导率最高的培养基为B7,即MS+0.3mg/L NAA+1.5mg/L 6-BA,以再生苗切段为外植体时,诱导率最高的培养基为B3,即MS+0.1mg/L NAA+1.5mg/L 6-BA。

表 1 不同灭菌处理的效果				
编号	鳞片位置	升汞处理时间 (min)	一周后污染率 (%)	二周后污染率 (%)
W1	外部鳞片	1	16.7	57.5
W2	外部鳞片	2	14.3	45.3
W3	外部鳞片	3	0.0	10.5
W5	外部鳞片	5	0.0	9.5
W8	外部鳞片	8	0.0	8.9
Z1	中部鳞片	1	0.0	27.8
Z2	中部鳞片	2	0.0	16.7
Z3	中部鳞片	3	0.0	10.0
Z5	中部鳞片	5	0.0	5.1
Z8	中部鳞片	8	0.0	6.3
N1	内部鳞片	1	0.0	21.4
N2	内部鳞片	2	0.0	3.2
N3	内部鳞片	3	0.0	0.0
N5	内部鳞片	5	0.0	0.0
N8	内部鳞片	8	0.0	0.0

表 2 不同鳞片部位对不定芽诱导的影响			
鳞片部位	接种块数	诱导出芽块数	诱导率(%)
鳞片上部	50	41	82.0
鳞片中部	50	48	96.0
鳞片下部	50	50	100.0

表 3 不同激素配比对不定芽诱导的影响				
编号	NAA(mg/L)	6-BA(mg/L)	不定芽诱导率(%)	
			鳞片诱导	再生苗切段诱导
B1	0.1	0.5	31.3	30.0
B2	0.1	1	38.5	80.0
B3	0.1	1.5	50.0	66.7
B4	0.1	2.5	50.0	42.9
B5	0.3	0.5	39.8	18.2
B6	0.3	1	48.2	30.0
B7	0.3	1.5	75.8	18.2
B8	0.3	2.5	60.0	14.3
B9	0.5	0.5	37.5	30.0
B10	0.5	1	42.1	20.0
B11	0.5	1.5	41.7	5.4
B12	0.5	2.5	50.0	20.0
B13	1	0.5	14.3	7.0
B14	1	1	37.5	10.0
B15	1	1.5	26.7	18.2
B16	1	2.5	33.3	7.1

注:基本培养基为MS,附加蔗糖3%,琼脂0.7%,pH值为5.8。

2.3 再生苗的生根

生长素促进根的生长,在添加了少量的NAA或2,4-D后生根率明显提高。但过高的2,4-D会抑制生根。在将百合苗接到生根培养基上之后,1周后就有不少根生成,大约2~3周,即可进行移栽。由表4可知,11种培养基均可诱导生根,但根的数量和长度不同,其中以NR5培养基生根效果最好,即添加了0.5mg/L NAA的

1/2MS培养基。

表 4 不同激素配比对再生苗生根的影响					
编号	NAA (mg/L)	2,4-D (mg/L)	生根率 (%)	平均每株 根数	平均根长 (cm)
NR1	0	0	47.1	6.1	1.5
NR2	0.05	0	86.7	5.8	1.7
NR3	0.1	0	100.0	4.2	1.3
NR4	0.3	0	100.0	6.9	1.6
NR5	0.5	0	100.0	7.8	1.9
NR6	1	0	92.9	6.5	0.5
RT1	0	0.05	100.0	3.8	1.8
RT2	0	0.1	100.0	5.3	1.6
RT3	0	0.2	95.5	4.1	0.7
RT4	0	0.3	100.0	6.0	0.8
RT5	0	0.5	82.4	3.1	1.4

注:基本培养基为1/2MS,附加蔗糖2%,琼脂0.7%,pH值为5.8。

2.4 移栽定植

蛭石和珍珠岩的保水性较好,草炭土的营养成分较高,园土在浇水后容易板结。将它按照一定的比例混合后,可以获得易于青岛百合组培苗成活的培养土。由表5可知,组培苗在不同配方的营养土上都能成活,其中在按草炭土:蛭石:园土=1:1:1的比例混合的营养土上组培苗的成活率最高。另外按草炭土:珍珠岩:园土=1:1:1的比例混合的营养土移栽成活率也很高,如蛭石不够时可以用珍珠岩替代。

表 5 不同配方土移栽定植后的成活率							
编号	草炭土	蛭石	园土	珍珠岩	定植株数	成活株数	成活率(%)
Y1	1	1	1	0	45	41	91.1
Y2	1	2	0	0	45	37	82.2
Y3	1	0	1	1	45	40	88.9
Y4	1	0	2	0	43	29	67.4
Y5	1	0	0	2	45	36	80.0

3 讨论

青岛百合本身繁殖力较弱,组织培养是一个很好的快速繁殖的途径。青岛百合鳞片内生菌较多,用升汞难以灭菌完全,目前没有特别有效的方法来解决,试验采用及时将未污染鳞片转移的方法,尽量减少损失的组培苗。关于消除内生菌污染有待进一步研究。

该试验采用再生苗切段再诱导的方法进行不定芽的增殖,在较短时间内获得大量不定芽,比其它文献报道的直接用芽丛增殖的方法所耗时间明显减少。

组培苗生根后不及时移栽会出现根尖变黑现象,可能是根老化的原因造成的。本试验尝试发现添加一定的活性炭能够有效的避免黑根现象。

参考文献

[1] 李俊明.植物组织培养教程[M].北京:北京农业大学出版社,1992.77-96.
[2] 赵庆芳,曾小英,丁兰,等.晶体百合组织培养及快速繁殖研究[J].甘肃科学学报,2003,15(1):39-42.
[3] 李巧峡,赵庆芳,李海亮.娜托百合的组织培养和离体快繁[J].西北师范大学学报(自然科学版),2004,40(4):74-76.
[4] 张施君,凤兰,周厚高,等.新铁炮百合和金百合的组织培养与快速繁殖技术[J].湖南农业大学学报(自然科学版),2004,30(2):135-137.
[5] 虞弘,陆永武,程治英.大百合的离体快繁和鳞茎的诱导[J].植物生理学通讯,2005,41(2):192.