西伯利亚百合子房的组织培养及离体快繁研究

申 玉 华, 段 永 平, 唐 寸 红, 黄 招

(赤峰学院 生命科学系,内蒙古 赤峰 024000)

摘 要:以子房为外植体,对西伯利亚百合离体快繁进行研究。结果表明:试验浓度范围内 适合不定芽诱导的培养基以 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 1.5 mg/L 为佳, 芽增殖最佳培养基为 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L, 适合生根的培养基为 MSo, 生根率达 100%, 且根系 发达, 长势粗壮, 练苗 3~5 d 后移栽, 长势良好, 移栽成活率达90%以上。

关键词: 西伯利亚百合: 组织培养: 子房

中图分类号:S 682.2⁺9:S 603.6 文献标识码:A 文章编号: 1001-0009(2008)11-0151-02

百合(Lilium tenuim folium Fisch)属于百合科(Liliaceae)百合属(Lilium)多年生具地下鳞茎的草本植物。 西伯利亚百合(Siberia)属于东方百合杂种系(The Oriental Hybrids),为百合中的名贵品系,其茎秆坚挺,花大而 美丽,开放时香气宜人,是近年来国内外市场热销的花 卉种类之一。西伯利亚百合是由天香百合(L.Auratum)Lindl.)、药百合(L.S eciosum Thunb.) 等百合品种杂交 选育出来的,种子高度败育,常采用传统的鳞茎球繁殖 方法,繁殖系数较低,1株百合每年只能得到1~3个小 鳞茎『。有些种类可用鳞片扦插繁殖,但往往容易腐 烂, 另外, 百合长期靠营养繁殖, 容易感染病毒, 而影响 百合品质[4]。目前国内主要引进荷兰种球进行繁殖、很 难满足市场需求,引种2 a 后,品质下降,花色变淡,花冠 变小,不形成花蕾或形成畸形花蕾,影响其观赏价值和 经济价值[3]。为了降低生产成本,实现种球的自主繁 育,进行组织培养与快速繁殖已十分必要。目前,国内 外对这方面的研究,以鳞片为外植体的报道较多。同一 植物老器官较幼嫩器官更容易带菌、土壤中器官较地上 部分器官更易带菌⁴, 故鳞茎作为多年生地下储藏器官, 极易携带霉菌和细菌 表面消毒后仍会不同程度的带 菌⁵,因而不利于进行长期的离体种植保存及规模化生 产。试验以西伯利亚百合子房为外植体进行了离体快繁 研究,以期为西伯利亚百合种苗工厂化生产提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料, 西伯利亚百合, 采自内蒙古赤峰市陵园 花卉基地。

第一作者简介: 申玉华(1971-), 女, 内蒙古赤峰人, 在读硕士, 讲 师, 现从事植物学领域研究工作。E-mail; shenyuhua520@sohu.

收稿日期: 2008-05-23

1.2 方法

取含苞待放的花蕾 用自来水将其在流水下冲洗 2~3 min, 用 75 %酒精棉球擦试 1 遍, 置于超净工作台 上, 再用 75% 酒精棉球擦试 2 遍, 剥除花瓣, 去掉花 丝,将子房在无菌条件下切成 1.0 cm 左右的小段,作为 外植体进行离体组织培养。

1.3 培养基及培养条件

基本培养基为 MS, 添加不同激素组合, 用于不同组 培阶段的培养基组成, 所用培养基均加入 30 g/ L 蔗糖, 7 g/L 琼脂, pH 值为 5.8 以 121 ℃高温高压灭菌20 min, 培养温度 23 ~ 25 °C, 光照强度 2 000 lx, 光照时间 12 h/d 约 20 d 继代 1 次。

1.4 记录统计

接种后每天观察并记录外植体启动情况,出愈伤及 生芽情况,继代后的增殖情况,生根后的生根数及生根 率。启动是指外植体开始有生长迹象,如变绿,不同程 度的膨大, 启动率即指: 表现膨大加厚的外植体数占接 种外植体总数的百分率。出芽率: 出现芽或芽丛的外植 体数占接种外植体总数的百分率。出芽数:发生芽的外 植体上的平均出芽数。

2 结果与分析

2.1 西伯利亚百合子房不定芽的诱导

子房外植体接入培养基中在人丁气候箱内培养 7 d 后,外植体颜色由淡绿变成深绿并开始膨大,在添加 6-BA 0.5、1.0 mg/L、NAA 0.5、1.5、2.0 mg/L 培养基上 的子房膨大较快,外植体粗壮、颜色新鲜,培养15 d后将 膨大的外植体分割成 0.7 cm 左右的小块, 分割后, 约 20 d 左右子房外植体切口处出现少量愈伤组织,很快在 愈伤组织上长出一些淡绿色锥形芽点, 15~20 d 后锥形 芽点长成约0.5 cm 高的幼芽,同时幼芽基部愈伤组织不 断增大、基部愈伤组织在生长的同时又出现新的芽点。 继续培养 20 d 统计百合子房外植体启动率,出芽率及出

芽数 (表 1)。综合启动率、出芽率及出芽数,并结合生长状态,诱导培养基 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 1.5 mg/L的效果最佳。培养基 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L 对外植体的启动率,出芽率都很低,但每个出芽的外植体上平均出芽数却最高,可将其做为下一步芽增殖培养基。

表 1 不同激素浓度培养基对百合子房外 植体不定芽诱导的影响

培养基	激素浓度/mg°L-1		种数	启动数	启动率	出芽率	出芽数
	6-BA	NAA	/ ↑	/ 个	1%	1%	/ ↑
MS	0.5	0.5	30	20	66.7	16.7	1. 2
MS	0.5	1.0	30	8	26.7	3.33	1.0
MS	1.0	0.5	30	18	60.0	13.3	5.0
MS	1.0	1.5	30	30	100.0	96.8	4. 25
MS	1.0	2.0	30	25	83.3	66.7	2. 78
MS	1.5	1.0	30	7	23.3	0	0
MS	2.0	1.0	30	5	16.7	0	0

2.2 不定芽的增殖

将基部带有愈伤组织的小芽切成 0.5~1.0 cm 的小块,接入不同的芽增殖培养基中继代增殖,培养约15 d后,便在外植体基部长出新的芽点,同时愈伤组织继续增大,25 d后统计继代芽的增殖倍数,继代增殖过程中MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L 和 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L 的不定芽增殖倍数均较高,同时苗也很健壮,表明二者均为适合的芽增殖培养基,其中 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L 增殖效果最佳,芽增殖倍数达 6.8 (表 2)。增殖培养约 40 d 后不定芽长到 2~3 cm 高,同时芽基部开始膨大形成小鳞茎。

表 2 不同激素浓度培养基对不定芽继代增殖的结果

培养基	激素浓度/ mg ° L-1		芽增殖	芽生长势	
	6-BA	NAA	倍数	オエバガ	
MS	1.0	0. 05	1. 0	健壮,有根生出、根较短	
MS	1.0	0.2	6. 8	健壮	
MS	1.0	0.5	5. 0	健壮,有较粗壮的根生出	

2.3 小鳞茎和根的诱导

将长到 2~3 cm 高、基部略有膨大的不定芽移到 MS₀培养基上进行小鳞茎增壮培养、约 20 d 左右大多数

不定芽基部略有膨大的小鳞茎继续增大,在小鳞茎增壮培养的同时,小鳞茎基部有白色的根生出,生根率达100%,根数4~13个不等,平均根长2cm左右,并且根的质量较好。由此表明,在进行西伯利亚百合子房离体培养时,可将小鳞茎的增壮培养和生根培养同时进行,这样既可以节省时间又可以节约费用。

2.4 练苗和移栽

待芽增壮明显、根较发达、芽基部小鳞茎的直径达 $0.5 \sim 1.0~{\rm cm}$ 左右时开瓶练苗 $3 \sim 5~{\rm d}$,然后移栽。移栽基质为泥炭土:珍珠岩:沙子=3:1:1,室温 $20 \sim 25~{\rm C}$ 半天光照,半天遮荫,每 $2~{\rm d}$ 浇 1 次水,约 $15~{\rm d}$ 后将幼苗移入大棚,成活率达 $90~{\rm S}$,试验中,小鳞茎直径在 $0.5~{\rm C}$ $1.0~{\rm cm}$ 左右的不定芽移栽后生长状态良好,成活率高没有小鳞茎的幼苗移栽后成活率很低,因此,对小鳞茎进行增壮培养很重要 它直接影响着幼苗移栽成活率。

3 小结

研究表明,用百合子房作外植体较易诱导成苗且诱导率较高。试验中,添加激素 6-BA、NAA 的 MS 培养基对子房丛生芽诱导的效果明显优于对愈伤组织的诱导,初代培养中愈伤阶段短暂,即没有明显的愈伤阶段,愈伤与芽丛是共生的。培养基 MS+6-BA 1.0~mg/L+NAA 1.5~mg/L 对促进子房膨大和丛生芽的诱导效果最佳,培养基 MS+6-BA 1.0~mg/L+NAA 0.2~mg/L 为最佳芽增殖培养基,适合小鳞茎增壮和生根的培养基为MS。

参考文献

- [1] 赵祥云 王树栋 陈新露, 等. 百合[M]. 北京: 中国农业出版社 2000, 52-61.
- [4] 崔澄. 贵耀林. 经济植物的组织培养与快速繁殖[M]. 北京: 农业出版社. 1985; 35-48
- [3] 丁兰, 赵庆芳, 刘瑞梅, 马可波罗百合的组织培养和离体快繁[J]. 广西植物, 2004, 24(1): 37-39.
- [4] 刘敏. 花卉的组织培养与工厂化生产[M]. 北京. 地质出版社 2002, 86-89.
- [5] 彭隆金. 百合资源与栽培[M]. 昆明. 云南民族出版社, 2002; 114-119.

In Vitro Ovary Culture and Rapid Propagation of Siberia

SHEN Yu-hua DUAN Yong-hua, TANG Li-hong, HUANG Yuan, LI Chao (Department of Life Science Chifeng College Chifeng, Inner Mongolia 024000, China)

Abstract: Rapid propagation of Siberia was preliminary studied using ovaries for in vitro culture. Result showed that the optimum mediums for shoot induction, shoot proliferation and rooting were MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 1.5 mg/L, MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L and MSo respectively. Rooting rate could reach 100% and its root system was well developed, after acclimatization for 3 ~ 5 days, the bulblets were transplanted and grew well, survival rate after transplanting was above 90%.

Key words: Siberia; Tissue culture; Ovary