

百合品种离体培养的研究

雷家军, 荣立苹, 郑 洋, 毕晓颖

(沈阳农业大学 园艺学院, 辽宁 沈阳 110161)

摘 要: 对“布鲁拉诺”、“索蚌”、“提伯”3 个百合品种的离体培养进行了比较研究。结果表明: 接种百合鳞片外植体的最佳消毒方法是 0.1% 升汞消毒 8 min, 污染率较低, 为 11.0%, 而成活率最高, 可达 88.0%; 采用小鳞茎整体消毒可以有效降低污染率, 污染率为 0.0%; 不同百合品种分化小鳞茎的能力有较大差异, 分化能力依次为“布鲁拉诺”>“索蚌”>“提伯”; 在继代增殖培养中, “布鲁拉诺”的增殖系数最高, 达 5.0 其次为“索蚌”, “提伯”最低, 为 4.2; 3 个百合品种的试管苗生根率都较高, 其中“布鲁拉诺”最高, 为 92.0%, “索蚌”87.5%, “提伯”83.3%。

关键词: 百合; 鳞片; 离体培养

中图分类号: S 682.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2008)07-0224-03

百合是百合科(Liliaceae)百合属(*Lilium* spp.)多年生鳞茎植物。百合花朵硕大、花色艳丽、芳香怡人, 栽培历史悠久^[1]。目前, 百合已成为世界五大鲜切花之一, 在世界鲜花市场占有十分重要的地位。但我国商品化种球 80% 以上依赖国外进口, 尤其东方百合种球几乎全部依赖进口。我国通常采用分球繁殖方式, 其繁殖系数低, 易受病毒侵染引起种球退化, 难以满足生产需要。而组织培养具有繁殖速度快、脱病毒及品种更新快等优点, 近年来在百合的引种栽培、优良品种快速繁殖和脱毒复壮上广为应用^[2-8]。研究选取“布鲁拉诺”、“提伯”和“索蚌”3 个百合品种为试材, 比较其在离体培养中的差异, 为进一步开展百合的离体快繁、脱毒复壮和基因转化等工作奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料取自沈阳农业大学花卉基地。选取东方百合杂种系 2 个品种“索蚌(Sorbonne)”、“提伯(Tiber)”和亚洲百合杂种系品种“布鲁拉诺(Brunello)”, 挖取生长良好、植株健壮且无病虫害的百合植株, 去掉地上部分的茎秆、叶片, 剥落泥土, 保留母球完整, 球直径平均为 6~8 cm。

1.2 方法

1.2.1 外植体的消毒 将外植体表面泥土除去, 去掉母球上受损或发黄的鳞片, 然后立即进行清洗处理, 流水冲洗 20 min。选取球径为 2~3 cm 的小鳞茎采用整体消

毒; 球径约 5~6 cm 的母球鳞茎采用分瓣消毒, 用 3 种不同的方法进行消毒: 用 0.1% 升汞溶液浸泡 8 min; 先用 70% 的酒精处理 30 s, 再用 0.1% 升汞溶液浸泡 8 min; 用 70% 的酒精处理 30 s, 然后用无菌水中洗 5 遍。

1.2.2 初代培养 将鳞片切成 1 cm² 正方形, 在无菌条件下接种在初代培养基上。培养基为 MS+BA 0.5 mg/L, pH 5.8, 培养温度 20~25℃, 光照条件为 1 000 lx, 光源为日光灯, 光照时数是 12~14 h/d。

1.2.3 继代培养 将诱导出的无根苗转接到 MS+BA 0.5 mg/L+IAA 0.05 mg/L 的培养基上, 光照强度 1 500 lx, 培养 20 d 后统计增殖系数。

1.2.4 生根培养 将继代培养出的小苗转入生根培养基 MS+BA 0.5 mg/L+IAA 0.1 mg/L 上培养, 苗基部分化出小鳞茎, 培养 30 d 后, 形成根系, 统计生根率。

1.2.5 练苗移栽 试管苗移栽前, 先打开瓶塞, 在自然散射光条件下练苗 48 h, 然后移栽在沙与土(1:1)的基质中, 保持温度在 15~25℃, 湿度在 70% 以上, 适当遮光。

2 结果与分析

2.1 不同的消毒方法对百合鳞片消毒效果的影响

比较了不同消毒剂和消毒方法对“索蚌”百合鳞片消毒效果的影响(表 1), 结果表明, 使用 0.1% 升汞溶液消毒 8 min 效果最好、污染率最低。污染率最高的是单独使用 70% 酒精消毒 30 s。而 2 种消毒剂混用的污染率虽然比只用升汞处理的污染率稍低, 但外植体的成活率也低于后者。

此外, 研究中还发现 3 种百合采用鳞茎整体消毒, 其污染率都显著低于分瓣消毒, 效果较好(表 2), 尤其是“布鲁拉诺”和“索蚌”污染率为 0。这可能是因为小鳞茎

第一作者简介: 雷家军(1966-), 男, 博士, 教授, 现从事百合种质资源与遗传育种研究。E-mail: jiajunlei@yahoo.com.cn

收稿日期: 2008-02-13

体积小,鳞片层紧密,间隙又小,受病菌侵染和外界损伤的几率小。相对而言,“提伯”无论是分瓣消毒还是整体消毒,污染率都较高。

表 1 不同消毒方法对索蚌百合鳞片消毒效果的影响

消毒方法	鳞片外植		污染率 / %	成活	
	体个数	个数		个数	成活率 / %
0.1%升汞 8 min	25	3	11.0	22	88.0
70%酒精 30 s+0.1%升汞 8 min	25	2	8.0	20	75.0
70%酒精 30 s	25	18	72.0	2	8.0

表 2 百合鳞茎整体和分瓣对外植体消毒效果的影响

品种	外植体状态	接种外植体数	污染数	污染率/ %
布鲁拉诺	整体	20	0	0.0
	分瓣	35	4	9.0
提伯	整体	20	1	5.0
	分瓣	20	3	15.0
索蚌	整体	25	0	0.0
	分瓣	35	3	7.5

2.2 不同百合品种鳞片培养对形成小鳞茎的影响

接种后 3~5 周后,在切块的边缘上诱导出淡黄色的愈伤组织,呈环状突起,每块有 4~8 个,多的可达 10 个,再经过 4 周后,这些愈伤组织继续生长形成绿白色小鳞芽。结果表明,供试 3 个百合品种鳞片,均可分化出鳞芽,2 个东方系品种间差异较小,亚洲系百合品种“布鲁拉诺”与东方系百合品种“索蚌”和“提伯”的差异较大(表 3)。在相同的培养条件下,其分化能力依次为“布鲁拉诺”>“索蚌”>“提伯”。

表 3 不同百合品种鳞片培养对再生小鳞茎的影响

品种	接种鳞片	分化	分化率	平均每块外植体再
	外植体数	外植体数	/ %	生小鳞茎数
布鲁拉诺	60	51	85.0	5.5
索蚌	50	39	78.0	4.8
提伯	40	20	50.0	4.2

2.3 不同百合品种对继代增殖系数的影响

当小鳞茎长到直径 0.5 cm 大小时,将其轻轻剥落,置入继代培养基继续培养。小鳞茎在继代培养 30 d 左右可增殖。开始是在鳞茎基中产生小鳞茎,40 d 左右小鳞茎长大,形成 2~4 个鳞茎丛,小鳞茎慢慢抽出新芽,然后形成小植株。结果表明,“布鲁拉诺”的繁殖系数最高,达到 5.0,其次是“索蚌”、“提伯”(表 4)。但整体来看 3 种百合的繁殖系数都较高,繁殖苗的生长状况良好。

表 4 不同百合品种小鳞茎继代培养对增殖的影响

品种	接种小鳞茎数	增殖数	增殖系数
布鲁拉诺	35	175	5.0
索蚌	30	129	4.3
提伯	30	114	3.0

2.4 不同百合品种试管苗生根的影响

继代苗转入生根培养基中 25 d 后,调查 3 个百合品

种的生长情况。结果表明,生根率由大到小依次为“布鲁拉诺”>“索蚌”>“提伯”(表 5)。观察根的生长势,明显看出,“布鲁拉诺”的根生长势强,根粗壮整齐,而“提伯”的根细长,生长势最弱。

表 5 不同百合品种对试管苗生根的影响

品种	接种苗数	生根苗数	生根率/ %	平均根数	试管苗生长情况
布鲁拉诺	50	46	92.0	7.2	根粗长,苗齐壮
索蚌	40	35	87.5	4.6	根中等粗,较短,苗较壮
提伯	30	25	83.3	5.0	根细长,苗弱

3 讨论

在百合的组织培养中,可采用鳞片、鳞茎盘、珠芽、叶片、茎段、花器官各部 and 根等,作为外植体,但生产上以鳞片作为外植体居多,其具有材料来源丰富,取材容易,消毒后污染率低,增殖系数高等优点。在消毒方法上,近年来发展使用两种甚至两种以上的消毒剂来处理外植体,多数人提倡在倒入消毒剂之前,先用 70%酒精做短暂灭菌,一般在 10~30 s 左右,但试验发现,这在材料颇多时较难掌握,而且 70%酒精穿透能力强,也很容易杀伤植物细胞,造成接种材料死亡,效果并不理想。在相同条件下,不同品种分化小鳞茎的能力有较大差异,一方面受遗传因素的影响,另一方面是不同品种的内源激素水平不同,因此在离体培养所需要的外源生长调节剂也不一样,这与杨增海等报道一致^[9]。

利用组织培养不仅可以生产大量的百合试管苗,而且对于百合种球脱毒、工厂化快繁起到极为重要的作用。试验对 3 个百合品种离体培养的影响因素做了初步探讨,对东方百合和亚洲百合品种的工厂化快繁、脱毒复壮和转基因研究打下了一定基础。

参考文献

[1] 龙雅宜, 张金政, 张兰年. 百合——球根花卉之玉[M]. 北京: 金盾出版社, 1999.

[2] 罗凤霞, 徐桂华. 新铁炮百合微繁的研究[J]. 沈阳农业大学学报, 2000, 31(3): 254-257.

[3] 孙晓梅, 付强, 王百合的组织培养研究[J]. 辽宁林业科技, 2001(5): 8-9, 25.

[4] 付玉兰, 何凤群. 影响百合试管鳞茎增殖因素的研究[J]. 安徽农业大学学报, 2001, 28(2): 179-181.

[5] 杨增海, 王聚瀛. 植物生长调节剂对百合组织培养繁殖的效应[J]. 西北农业大学学报, 15(3): 72-77.

[6] 杭玲, 苏宾, 陈雨新, 等. 龙牙百合组培快繁技术研究[J]. 广西农业科学, 2001(4): 183-184.

[7] 郭海滨, 雷家军. 卷丹百合鳞片及珠芽组织培养研究[J]. 中国农学通报, 2006, 22(2): 72-74.

[8] 姚连芳, 张建伟. 野生百合组织培养试验研究[J]. 河南职业技术学院学报, 2002(1): 23-26.

甜樱桃矮化砧木吉塞拉的组织培养和快速繁殖

李 晓 青, 张 晓 申, 王 慧 瑜

(郑州农林科学研究所 生物技术中心, 河南 郑州 450005)

摘 要: 用甜樱桃矮化砧木品种吉塞拉茎段进行组培快繁, 适宜的芽诱导与增殖培养基为 MS+BA 0.5 mg/L+NAA 0.2 mg/L, 生根培养基为 1/2 MS+IBA 0.5 mg/L, 经移栽成活率达到 85%以上。

关键词: 甜樱桃; 矮化砧木; 吉塞拉; 组织培养; 快速繁殖

中图分类号: S 662.503.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2008)07-0226-02

吉塞拉 5 号是德国贾斯特斯·里贝哥大学用酸樱桃与灰毛叶樱桃杂交育成的三倍体甜樱桃矮化砧木, 可使嫁接树矮化 20%~60%^[1], 并且极抗根癌病, 现已在欧、美国家广泛使用, 我国正在大力推广。由于其扦插繁殖生根难, 为加速吉塞拉 5 号的推广应用, 2003~2006 年, 对吉塞拉 5 号的组织培养与快速繁殖进行了研究, 探索出一条组培工厂化生产的道路。

1 材料与方法

1.1 试验材料与培养条件

4~5 月份选取健康生长的甜樱桃矮化砧木吉塞拉 5 号萌发的枝条, 去掉大叶, 在自来水下冲洗干净, 剪成带芽 2 cm 左右茎段, 在超净工作台上, 先用 70%的酒精处理 30 s, 无菌水冲洗 2~3 次, 再用 0.1%升汞消毒

5 min, 无菌水冲洗 3~4 次, 将茎段接种于启动培养基上。各培养基均加入白砂糖 30 g/L、琼脂 6.5 g/L、调 pH 值 5.8。培养温度 (25±1) °C, 光照 12 h/d, 光照强度 2 000 lx。

1.2 启动培养

启动培养基以 MS 为基本培养基, 附加不同浓度的细胞分裂素 BA 和生长素 NAA, 每瓶接种 1 个芽, 每处理 30 瓶, 重复 2 次, 生长 25 d 调查芽的诱导率。

1.3 增殖培养

将启动培养诱导的芽, 接种到以 MS 为基本培养基, 附加不同浓度的 BA 与 NAA 配比的增殖培养基上。每瓶接种 5 个芽, 每处理 20 瓶, 重复 2 次, 生长 30 d, 调查增殖系数和平均株高, 筛选最佳增殖组合。

1.4 生根培养

无菌条件下切取丛生芽中 3 cm 左右的壮苗转接至 1/2 MS 生根培养基上, 设置 IBA 4 种浓度水平, 摸索最佳生根浓度。每处理 20 瓶, 每瓶 5 株, 重复 2 次, 生长

第一作者简介: 李晓青(1966), 女, 河南郑州人, 本科, 助理研究员, 研究方向为林果花卉的组织培养。E-mail: abf1232@163.com.
收稿日期: 2008-02-17

Study on Tissue Culture of Lily Cultivars

LEI Jia-jun, RONG Li-ping, ZHENG Yang, BI Xiao-ying

(College of Horticulture, Shenyang Agricultural University, Shenyang, Liaoning 110161, China)

Abstract: The bulb scales of three lily cultivars 'Brunello', 'Tiber' and 'Sorbonne' were used as explants to culture in vitro to compare their difference in the experiment. The results showed that the best sterilization method was 0.1% HgCl₂ with 8 minutes. The rate of pollution was lower with only 11.0% and the rate of survival was up to 88.0%. The rate of pollution could be effectively reduced using the sterilization method for the whole bulb with the pollution rate of almost 0.0%. The capability of differentiating bulblets from the callus for different lily cultivars was various obviously, and from strong to weak was 'Brunello', 'Sorbonne', and then 'Tiber' in the experiment. 'Brunello' had the highest propagation coefficient and reached 5.0 and the next was 'Sorbonne', and 'Tiber' was the lowest with the propagation coefficient of 4.2. The rate of rooting of three lily cultivars, 'Brunello', 'Sorbonne', and 'Tiber' was high with 92.0%, 87.5% and 83.30% respectively.

Key words: Lily; Bulb Scales; Culture in vitro