

# 两个百合品种鳞茎诱导正交试验

徐小玉, 张凤银

(江汉大学 生命科学院 湖北 武汉 430056)

**摘要:**以麝香百合(*Lilium longiflorum*)、香水百合(*Lilium Casa Blanca*)为试材,以 MS 为基本培养基,分别选取 NAA 浓度梯度 0.1、0.2、0.5 mg/L, 6-BA 浓度梯度 0.5、1.2 mg/L, 附加蔗糖浓度 2%、3%、4%, 用正交试验的方法, 研究鳞茎诱导激素最佳浓度配比。结果表明: MS+NAA 0.2 mg/L+6-BA 1 mg/L+蔗糖 4% 组合对麝香百合鳞茎诱导最好; MS+NAA 0.2 mg/L+6-BA 0.5 mg/L+蔗糖 3% 组合对香水百合鳞茎诱导最有效。所选激素浓度水平之间有显著差异, 各处理间均无显著差异。

**关键词:**正交设计; 百合; 鳞茎; 诱导

**中图分类号:**S 682.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2010)02-0163-03

百合(*Lilium* L.)为百合科多年生球根花卉, 除供观赏外, 还兼有药用、滋补食用等多种用途。由于百合种类多、花型、花色各异, 因而杂交育种的变异显著, 新品种不断涌现, 并以其花大、色艳、花型、花色丰富而成为世界著名切花、盆花品种。

百合的繁殖方式主要依靠小鳞茎分株繁殖、鳞片扦插繁殖及播种繁殖等。百合除杂交育种上多用播种繁殖外, 生产上大多采用营养繁殖, 而长期的营养繁殖会造成病毒积累, 影响百合品质。因此, 在百合的引种栽

培、优良品种快速繁殖、去毒复壮以及新品种培育上, 组织培养是常用的方法<sup>[1]</sup>。自 1957 年 Robb 首次报道百合的组织培养结果后, 国内外诸多学者对百合的组织培养进行过研究<sup>[2-5]</sup>, 目前已应用于生产<sup>[6]</sup>。虽然利用组织培养的方法进行快速繁殖, 具有去病毒、迅速更新品种等优点, 在百合组培苗应用上已有许多成功的报道<sup>[7-8]</sup>, 但组培苗在出瓶移栽过程中存活率低, 容易重新感染病毒。通过试管内结鳞茎, 可以克服上述缺点<sup>[9-10]</sup>。百合的试管鳞茎诱导的相关试验已有一些报道<sup>[11-14]</sup>, 但大多围绕添加激素的种类、激素浓度配比等的研究上, 很少有用正交试验的方法, 研究所选激素各浓度之间以及各处理之间的差异情况, 也少有比较不同百合品种之间差异的报道。该试验以 MS 为基本培养基, 添加一定浓度梯度的 6-BA、NAA 和蔗糖, 用正交试验的方法, 研究利于百合鳞茎诱导的各激素浓度梯度及蔗糖添加浓度, 从

**第一作者简介:**徐小玉(1975—), 女, 硕士, 讲师, 现主要从事园林植物栽培及应用等相关学科的教学与研究工作。E-mail: xxi-aoyever@sohu.com。

**基金项目:**湖北省教育厅自然科学基金资助项目(B200534007)。

**收稿日期:**2009-09-02

## The Technology of Rapid Propagation of New Zealand Lavender

WANG Jia-jia, ZHENG Feng-ying, WANG Kang, GAO Qing, LIU Yang

(Marine College, Shandong University at Weihai, Weihai, Shandong 264209)

**Abstract:** Used the Lavender seeds in New Zealand as the material, inoculated them to the medium whose components was MS+6-BA 2.0 mg/L. About 30 days later, we cut the aseptic seedlings into 1~2 cm of stem segments and then inoculated them to the proliferation medium. We found the best medium for the proliferation was MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L. About 20 days later, we cut the multiple buds into Single-bud stem and then inoculated them into the rooting medium. We found the relatively better rooting medium was MS+NAA 2.0 mg/L.

**Key words:** New Zealand lavender; rapid propagation; medium; differentiation; rooting

而为百合的快速繁殖提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以市售麝香百合和香水百合种球作为供试材料。剥掉种球的外层鳞片,选用靠近种球中心、无病斑、健壮、饱满的种球内层鳞片基部作为外植体。

1.2 试验方法

1.2.1 灭菌、接种操作 选取靠近种球中心的生长正常、无病斑、无病虫害、健壮、饱满的种球鳞片作为外植体,选择大小均匀的放入滤布中,用流动的自来水冲洗2 h。用75%的酒精处理30 s,除去酒精,再用无菌水冲洗3次,每次1 min。最后用0.1%的升汞振荡处理材料10 min,用无菌水清洗4次,每次1 min。

1.2.2 丛芽诱导阶段 无菌操作把所选鳞片切成0.5~1.0 cm<sup>2</sup>的小块。每个培养皿接种5块,各品种分别接15个培养皿。将外植体放在光照培养箱里进行培养。培养的温度为(25±2)℃,空气湿度保持在60%左右,光照1 500~2 000 lx,每天光照12~16 h。每隔5 d观察记录1次。

1.2.3 丛芽扩增阶段 将诱导的丛芽分别接种在培养基MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L(20.0 g蔗糖,8.0 g琼脂)上;每瓶接种4个,每个品种10瓶。然后将丛芽放在光照培养室里进行培养。培养温度为(25±2)℃,空气湿度保持在60%左右,光照1 500~2 000 lx,每天光照12~16 h,并作好观察检查评价分析记录。

1.2.4 鳞茎诱导阶段 以MS为基本培养基,分别添加NAA 0.1、0.2、0.5 mg/L,6-BA 0.5、1.2 mg/L,蔗糖浓度2%、3%、4%。采用L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)正交表设计法,方法如表1。丛芽扩增到一定数量后进行鳞茎诱导。在超净工作台上将丛芽分割成单芽,将单芽接种到添加了不同浓度激素、蔗糖的MS培养基中。每瓶放置3个单芽,每个处理4瓶。然后分别将2个百合品种的单芽放在光照培养室里进行培养。培养的温度为(25±2)℃,空气湿度60%左右,光照1 500~2 000 lx,每天光照12~16 h。

表1 正交表与试验设计									
行号	列号	A	B	C	处理号	水平组合	试验条件		
							6-BA	蔗糖	
		1	2	3	4		/mg·L <sup>-1</sup>	/%	
1	1	1	1	1	1	A <sub>1</sub> B <sub>1</sub> C <sub>1</sub>	0.1	0.5	2
2	1	2	2	2	2	A <sub>1</sub> B <sub>2</sub> C <sub>2</sub>	0.1	1	3
3	1	3	3	3	3	A <sub>1</sub> B <sub>3</sub> C <sub>3</sub>	0.1	2	4
4	2	1	2	3	4	A <sub>2</sub> B <sub>1</sub> C <sub>2</sub>	0.2	0.5	3
5	2	2	3	1	5	A <sub>2</sub> B <sub>2</sub> C <sub>3</sub>	0.2	1	4
6	2	3	1	2	6	A <sub>2</sub> B <sub>3</sub> C <sub>1</sub>	0.2	2	2
7	3	1	3	2	7	A <sub>3</sub> B <sub>1</sub> C <sub>3</sub>	0.5	0.5	4
8	3	2	1	3	8	A <sub>3</sub> B <sub>2</sub> C <sub>1</sub>	0.5	1	2
9	3	3	2	1	9	A <sub>3</sub> B <sub>3</sub> C <sub>2</sub>	0.5	2	2

2 结果与分析

鳞茎诱导大约40 d左右,分别统计2个百合鳞茎诱导情况(见表2)。结果表明,利用DPS软件对正交设计进行方差分析和多重比较,分别比较各处理组合对2个百合品种鳞茎诱导的影响结果。

表2 鳞茎诱导结果									
品种	台处理平均	处理							
		1	2	3	4	5	6	7	8
麝香百合	值	5	10	7	12	13	9	7	9
香水百合	值	12	10	7	15	11	9	13	7

2.1 麝香百合的鳞茎诱导结果

DPS正交设计方差分析结果显示,NAA的3个浓度梯度之间存在显著差异。NAA浓度为0.2 mg/L时诱导的小鳞茎数最多,且与其它2个浓度梯度之间均存在显著差异,而浓度为0.1 mg/L与0.5 mg/L之间并无显著差异。6-BA浓度为1 mg/L时诱导的小鳞茎最多,但3个浓度梯度之间无显著差异。蔗糖添加浓度为3%时鳞茎诱导效果最好,但彼此之间并无显著差异。各处理组合以NAA 0.2 mg/L,6-BA 1 mg/L,蔗糖浓度4%时诱导效果最好,但彼此之间也无显著差异。

2.2 香水百合的鳞茎诱导

DPS正交设计方差分析结果显示,NAA浓度为0.2 mg/L时诱导的小鳞茎数最多,但与其它2个浓度之间无显著差异。6-BA浓度为0.5 mg/L时诱导的小鳞茎最多,且与浓度为2 mg/L之间存在显著差异,其它浓度之间无显著差异。蔗糖添加浓度为4%时鳞茎诱导效果最好,但彼此之间并无显著差异。各处理组合以NAA 0.2 mg/L,6-BA 0.5 mg/L,蔗糖浓度3%时诱导效果最好,但彼此之间无显著差异。

以上结果表明,不同激素浓度、蔗糖浓度的添加对2种百合鳞茎诱导既有相似之处,又有区别。首先,NAA浓度为0.2 mg/L时,2种百合的鳞茎诱导效果最好,但0.2 mg/L NAA对麝香百合鳞茎诱导效果更为显著。相同6-BA浓度对2种百合的鳞茎诱导所产生的影响不同,所选浓度对香水百合的鳞茎诱导影响更为显著。而蔗糖添加浓度对2种百合的鳞茎诱导所产生的影响均无显著差异。9个处理组合中,分别有最适合供试2种百合的组合,但这些组合对其鳞茎诱导的影响并未达到显著水平。由此可见,相同浓度的激素、蔗糖对百合鳞茎诱导存在品种上的差异。

3 讨论

国内许多学者在不同浓度的激素对百合鳞茎诱导产生的影响之间作了比较,结果不尽相同,但普遍的规律是6-BA与NAA浓度比值大于1时利于鳞茎诱导<sup>[6, 10, 11~14]</sup>。该试验激素浓度的选择建立在前人研究的基础之上,在有利于鳞茎诱导的激素浓度范

围内进行培养基配比, 分别用在 2 种不同的百合品种上, 从直观的结果来看, 与前人报道既有相似之处也有差异, 这可能与试验方法及供试材料不同有关, 但总体上与一般鳞茎诱导的规律基本一致。而从正交试验的深层次看, 所选激素各水平之间有显著差异的情况, 如对麝香百合的鳞茎诱导上, NAA 的 3 个浓度梯度之间存在显著差异。说明浓度梯度合适。而在香水百合的鳞茎诱导上, 6-BA 浓度差异较大时才出现显著差异, 因而可能在对 6-BA 的浓度选择上需加大浓度梯度。在该试验中, 也可以看出品种不同, 其结果也有所差异, 因而, 也需针对不同的品种调整配方。

周连霞等认为激素种类和激素浓度显著影响百合属植物组织培养的成败, 从百合培养条件来看, 在选择最佳部位的外植体后, 激素的配比是百合组织培养中的关键因素<sup>[15]</sup>。许多研究者只将 6-BA 和 NAA 用来配比, 而将蔗糖作为一个固定的量来试验, 取得了良好的效果<sup>[6]</sup>。蔗糖是培养基的能源物质和渗透调节剂, 在百合组培的不同阶段浓度要求不同, 王家福等研究表明, 蔗糖质量浓度逐渐提高时, 百合鳞茎直径随着增加, 当蔗糖浓度达到 10% 时, 鳞茎的直径最大, 继续增加蔗糖浓度, 鳞茎的直径无明显变化<sup>[16]</sup>。傅玉兰等认为添加一定浓度的蔗糖, 有利于鳞茎的诱导<sup>[17]</sup>; 陈彦云报道的 3.5% 蔗糖适宜麝香百合鳞片芽的诱导<sup>[18]</sup>。该试验同时添加了蔗糖浓度的变化, 结果表明, 蔗糖添加浓度为 3% 和 4% 时分别利于香水百合和麝香百合的诱导, 这与前人的研究结果基本一致。但各浓度之间未出现显著差异, 其原因可能与所选蔗糖浓度差异较小有关, 这也说明在蔗糖浓度的选择上应增加变化梯度。

## 参考文献

- [1] 谭文澄. 观赏植物组织培养技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 1991.
- [2] 陈为民, 宋为民. 卷丹和青岛百合的组织培养及植株分化[J]. 植物生理学通讯, 1982(2): 35—36.
- [3] 陈为民. 百合离体培养再生植株[J]. 植物生理学通讯, 1983(3): 46.
- [4] 黄济明. 百合的组织培养和试管内诱发多倍体试验[J]. 园艺学报, 1983, 10(2): 125—128.
- [5] 解继能. 宜昌百合的快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 1987(3): 41.
- [6] 张文种. 不同激素对比对麝香百合鳞茎芽诱导的影响[J]. 亚热带植物科学, 2002, 31(1): 21—24.
- [7] 崔征, 桂耀林. 经济植物的组织培养与快速繁殖[M]. 北京: 农业出版社, 1985.
- [8] 徐文兴, 金国良, 潘荷娟. 百合组织培养两次成苗[J]. 植物生理学通讯, 1988(3): 57.
- [9] 王爱勤, 何龙飞, 周琼, 等. 百合试管苗的移栽对比试验[J]. 广西农业生物科学, 1999(3): 187.
- [10] 庄志鸿, 刘建. 百合鳞片试管结鳞茎的研究[J]. 福建农业科技, 2002(2): 26.
- [11] 刘红美, 令狐克勇, 方小波. 野百合试管鳞茎诱导与增殖的研究[J]. 安徽农业科学, 2008(21): 8927—8929.
- [12] 廉美兰, 朴炫春, 孙丹. 影响百合试管鳞茎诱导及膨大的几种因素[J]. 延边大学农学学报, 2006, 28(3): 6—11.
- [13] 陈惠云, 孙志栋, 严成其, 等. 野生百合小鳞茎诱导和快速繁殖研究[J]. 安徽农学通报, 2006, 12(2): 29—30.
- [14] 钱琼秋, 李彩琴, 朱祝军. 两个百合品种组织培养的比较研究[J]. 浙江农业学报, 2004, 16(04): 198—201.
- [15] 周连霞, 马锋旺, 徐凌飞. 百合组织培养及基因工程研究进展[C]//赵尊慈. 中国园艺学会第六届青年学术讨论会论文集. 杨凌, 2004.
- [16] 王家福, 陈振光. 百合快速繁殖条件的优化[J]. 福建农业大学学报, 1999, 28(2): 152—156.
- [17] 傅玉兰, 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.
- [18] 陈彦云, 胡海英, 曹君迈, 等. 麝香百合组培快繁技术研究[J]. 宁夏大学学报(自然科学版), 2001, 22(1): 67—69.

## Orthogonal Design on Bulb Induction of Two Lily Varieties

XU Xiao-yu, ZHANG Feng-yin

(School of Life Sciences, Jiangnan University, Wuhan, Hubei 430056)

**Abstract:** The *Lilium longiflorum* and *Lilium Casa Blanca* were chosen for the experiment, and MS medium was chosen as the basic culture medium with 6-BA of 0.1, 0.2, 0.5 mg/L, NAA of 0.5, 1, 2 mg/L and Sucrose of 2%, 3%, 4%. Orthogonal design was used in order to find the optimum concentrations of hormones and sucrose for bulbs induction. The results showed that: formula of MS+NAA 0.2 mg/L+6-BA 1 mg/L+sucrose 4% was the best for bulb induction of *Lilium longiflorum*, while MS+NAA 0.2 mg/L+6-BA 0.5 mg/L+sucrose 3% was the best for *Lilium Casa Blanca*. There was significant difference among different level of hormone factor selected, but no significant difference among treatment combination.

**Key words:** orthogonal design; lily; bulb; induction