

# 亚洲百合“普瑞头”叶片组织培养技术研究

宋丽莉<sup>1</sup>, 司亮<sup>1</sup>, 于典司<sup>1</sup>, 魏鲁玉<sup>2</sup>, 郭长虹<sup>1</sup>

(1. 哈尔滨师范大学 生命与技术科学学院, 黑龙江省分子细胞遗传与遗传育种重点实验室, 黑龙江 哈尔滨 150025;

2. 鹤岗市东山区 65426 部队农副业基地, 黑龙江 鹤岗 154107)

**摘要:**以亚洲百合普瑞头组培苗的叶片为外植体, 对其组织培养技术进行了研究。结果表明: 不同激素组合对愈伤组织的诱导和分化效果差异显著, 诱导叶片愈伤组织的最适培养基为 MS+0.5 mg/L 6-BA+0.5 mg/L NAA+0.2 mg/L KT+0.1 mg/L 2,4-D, 诱导率为 73.3%; 愈伤组织分化的最佳培养基为 MS+0.1 mg/L TDZ+0.5 mg/L NAA, 生根效果最好的培养基为 1/2MS+0.5 mg/L NAA。

**关键词:**亚洲百合“普瑞头”; 组织培养; 愈伤组织; 外植体

**中图分类号:**S 682.2<sup>+</sup>9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)06-0122-03

“普瑞头”(Lilium asiatic Hybrids Prato)属于亚洲百合杂种系的多年生草本植物, 花橘黄色或橘红色, 开花无香味, 色彩娇艳, 耐寒, 在北方地区可露天栽培, 常用作花坛、花境、庭院和园林等的美化, 也可作盆栽, 大多做切花材料<sup>[1]</sup>。亚洲百合“普瑞头”是北方主要栽培品种之一, 长期种植易导致品种退化<sup>[2]</sup>, 而且传统的鳞球茎繁殖方法也很难满足市场的需求, 因此常采用组织培养技术进行扩繁<sup>[3]</sup>。组培快繁技术不但可以保留品种优良性状<sup>[4]</sup>, 还可以减少从国外或国内(南方)引进百合的资金。目前, 国内多以鳞片为外植体进行组织培养, 如张艺萍等<sup>[5]</sup>以大理百合鳞片为外植体得到组培苗, 周蕴薇等<sup>[1]</sup>对“普瑞头”鳞片进行组织培养, 成功得到再生植株, 但对叶片组织培养技术的研究比较少。该研究以亚洲百合“普瑞头”的叶片为试材, 研究其组织培养技术, 为深入探讨亚洲百合离体培养和基因工程技术奠定了基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试材料为东北林业大学苗圃提供的“普瑞头”球茎(周茎 13~16 cm)。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 外植体的获得

**第一作者简介:**宋丽莉(1987-), 女, 在读硕士, 研究方向为植物基因工程。

**责任作者:**郭长虹(1968-), 女, 博士, 教授, 研究方向为植物基因工程。E-mail: kaku2008@hotmail.com。

**基金项目:**黑龙江省杰出青年基金资助项目(JC201109); 人事部留学归国择优资助项目。

**收稿日期:**2012-01-10

成 1.0 cm×1.0 cm 的小块, 腹面朝上接种于诱导培养基 MS+1.0 mg/L 6-BA+0.1 mg/L NAA。

**1.2.2 百合愈伤组织的诱导** 选用鳞片诱导出的再生芽的新生叶片作为外植体, 将靠近叶柄处叶片切成 1~2 cm 小块置于诱导愈伤组织的培养基中。诱导培养基以 MS 为基本培养基, 采用不同激素组合 6-BA(0、0.5、1.0、2.0、3.0 mg/L)、NAA(0、0.1、0.2、0.5、0.7 mg/L)、KT(0、0.1、0.2、0.5、1.0 mg/L)、2,4-D(0、0.05、0.1、0.2、0.5 mg/L)。每个处理接种 30 个外植体, 3 次重复, 定期观察外植体形态变化, 30 d 后统计愈伤组织的诱导率。诱导率=形成愈伤组织的外植体数目/接种外植体总数。

**1.2.3 百合愈伤组织的分化** 以 MS 为基本培养基, 将体积约为 1.0 cm<sup>2</sup> 的愈伤块接种到附加不同浓度 TDZ(0.05、0.1、0.2、0.5、1.0 mg/L)和 NAA(0.5 mg/L)分化培养基中, 每个处理接种 30 个愈伤块, 3 次重复, 30 d 后统计愈伤组织的分化率。分化率=分化出芽的愈伤块/接种愈伤块总数。

**1.2.4 百合再生植株的生根** 诱导生根的培养基以 1/2MS 作为基本培养基, 添加不同浓度的 NAA(0、0.1、0.2、0.5 mg/L), 选取高 3~4 cm 的百合新生芽接种于生根培养基中, 每瓶 8 株, 每个处理 3 瓶, 3 次重复, 定期观察生根情况并统计每株生根数。

### 1.3 培养条件

试验所用培养基 pH 5.8, 蔗糖浓度 30 g/L, 琼脂浓度 0.8%。培养温度(24±2)℃, 光照时间 16 h/d。

### 1.4 数据分析

采用 SPSS 16.0 软件设计百合叶片愈伤组织的诱导的培养基, 试验中每个激素设定 5 个梯度, 得到 25 种激素组合。所用的数据都是采用 SPSS 16.0 进行一元方

差分析(ANOVA)并通过最低标准偏差(LSD)完成平均差异比较,每个数据为重复3次平均值( $n=30$ ,  $P<0.05$ 为差异显著)。

## 2 结果与分析

### 2.1 无菌外植体的获得

如图1-a所示,25 d左右可观察到鳞片下端长出新生的小鳞茎,40 d左右分化成完整植株,新生叶片长约6~8 cm。

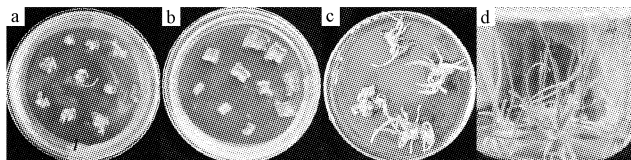


图1 亚洲百合“普瑞头”组织培养

### 2.2 不同激素浓度对百合愈伤组织诱导的影响

将百合叶片接种到不同激素组合的培养基中,10 d左右叶片边缘开始膨大,15 d左右叶缘由深绿色变为淡黄色,25 d左右可观察到黄色颗粒状的愈伤组织,如图1-b所示。而MS+0.5 mg/L 6-BA+0.5 mg/L NAA+0.2 mg/L KT+0.1 mg/L 2,4-D诱导愈伤组织形成的效果最佳,诱导率较高,达73.3%;其次是MS+0.5 mg/L 6-BA+0.1 mg/L KT+0.2 mg/L 2,4-D和MS+0.5 mg/L NAA+0.1 mg/L KT+0.5 mg/L 2,4-D,诱导率均为43.3%;在不添加任何激素的MS培养基中的叶片逐渐褐化,最终死亡。通过SPSS软件分析,结果显示不同浓度激素组合对百合叶片愈伤组织的诱导差异显著( $P<0.05$ )。

表1 SPSS设计不同激素组合及叶片愈伤组织诱导的结果

6-BA /mg·L <sup>-1</sup>	2,4-D /mg·L <sup>-1</sup>	KT /mg·L <sup>-1</sup>	NAA /mg·L <sup>-1</sup>	接种数 /个	愈伤数 /个	诱导率/%
0.5	0.05	0.5	0.1	30	5	16.7
3.0	0	0.1	0.1	30	4	13.3
3.0	0.05	0	0.5	30	11	36.7
3.0	0.2	0.5	0.2	30	6	20.0
2.0	0	0.2	0.2	30	7	23.4
0	0.05	1.0	0.2	30	12	40.0
1.0	0	0.5	0.5	30	8	26.7
0.5	0.1	0.2	0.5	30	22	73.3
2.0	0.05	0.1	0.7	30	5	16.7
2.0	0.2	1.0	0.5	30	10	33.3
1.0	0.2	0	0.7	30	7	23.4
0.5	0.2	0.1	0	30	13	43.3
0.5	0	1.0	0.7	30	3	10.0
2.0	0.1	0	0.1	30	11	36.7
0	0.1	0.5	0.7	30	4	13.3
0	0	0	0	30	0	0
1.0	0.05	0.2	0	30	10	33.3
3.0	0.5	0.2	0.7	30	4	13.3
0	0.2	0.2	0.1	30	8	26.7
1.0	0.5	1.0	0.1	30	3	10.0
0.5	0.5	0	0.2	30	7	23.3
2.0	0.5	0.5	0	30	8	26.7
3.0	0.1	1.0	0	30	5	16.7
0	0.5	0.1	0.5	30	13	43.3
1.0	0.1	0.1	0.2	30	11	36.7

### 2.3 TDZ对百合愈伤组织分化的影响

将愈伤组织接种到不同的分化培养基上,30 d后大部分愈伤组织均分化出嫩绿的新芽,并逐渐长出新叶分化成植株,如图1-c所示。接种于MS+0.1 mg/L TDZ+0.5 mg/L NAA中的愈伤组织分化率最高,达96.7%,新生植株叶片粗壮,平均每块愈伤组织分化出4~5个植株;添加1.0 mg/L TDZ的培养基愈伤组织分化率最低,仅为33.3%。由此可看出,高浓度的TDZ不利于普瑞头百合愈伤组织的分化。因此,最适合百合愈伤组织分化的培养基为MS+0.1 mg/L TDZ+0.5 mg/L NAA。

表2 TDZ对百合愈伤组织分化的影响

TDZ /mg·L <sup>-1</sup>	NAA /mg·L <sup>-1</sup>	接种数 /个	愈伤组织分化数 /个	分化率 /%
0.05	0.5	30	17	56.7
0.1	0.5	30	29	96.7
0.2	0.5	30	22	73.3
0.5	0.5	30	15	50.0
1.0	0.5	30	10	33.3

### 2.4 百合再生植株的生根

接种于4个处理的植株均可生根,如图1-d所示。但生根情况有差异,NAA浓度为0 mg/L和0.1 mg/L时,植株长出的根细弱且短,平均每株5根左右。而NAA浓度为0.5 mg/L时,利于植株生根,新长出的根较粗壮且长,平均每株10根左右。因此,植株生根的最适培养基为1/2MS+0.5 mg/L NAA。

## 3 结论与讨论

自1957年Robb首次报道了百合的组织培养后,国内也纷纷开展了对百合科植物组织培养技术的研究。迄今为止,在百合组织培养研究中多以鳞片和花器官作为外植体。但是相对鳞片和花器官,叶片具有更新周期短、取材简便的优势。所以该研究以“普瑞头”组培苗叶片为材料,对愈伤组织的诱导、分化和再生植株的生根进行了研究,完善了“普瑞头”叶片组织快繁条件。研究结果表明,诱导叶片愈伤组织的最适培养基为MS+0.5 mg/L 6-BA+0.5 mg/L NAA+0.2 mg/L KT+0.1 mg/L 2,4-D,诱导率为73.3%;MS+0.1 mg/L TDZ+0.5 mg/L NAA为愈伤组织分化的最佳培养基;生根最适培养基为1/2MS+0.5 mg/L NAA。噻二唑苯基脲(TDZ)可以很好地促进植物芽的再生和增殖,Xu L F等<sup>[6]</sup>用添加0.5 mg/L TDZ和1.0 mg/L NAA的MS培养基直接诱导兰州百合叶片再生芽的形成。该试验在分化培养基中使用了TDZ,结果显示低浓度TDZ更有助于愈伤组织的分化。

### 参考文献

- [1] 周蕴薇,刘艳萍,岳莉然,等. 亚洲百合“普瑞头”的组织培养及休眠小鳞茎获得的研究[J]. 北方园艺,2011(4):146-148.

# 辣椒炭疽病生防菌筛选及抗菌活性初步研究

秦 刚, 吴庆丽

(成都农业科技职业学院 农学院园艺分院, 四川 成都 611130)

**摘 要:**对辣椒炭疽病生防菌进行了筛选,并对其进行抗菌活性进行了初步研究。结果表明: N-193、N-246、N-216、N-69 和 L-5 对辣椒炭疽病具有抗菌活性。其中, N-193、N-246、N-216 和 N-69 为枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*), L-5 疑似放线菌。枯草芽孢杆菌对辣椒炭疽病具有明显的拮抗作用,其中 N-193 抑制作用更明显。

**关键词:**辣椒炭疽病;生防菌;抗菌活性

**中图分类号:**S 436.418.1<sup>+</sup>1 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2012)06-0124-05

辣椒炭疽病是辣椒生产上重要的病害之一,在全国均有发生,在辣椒产区四川发生尤为严重。单纯依靠化学防治容易造成农药残留、抗药性等问题,而且严重污染环境。因此开展该病的生物防治具有重要的意义。采用生防菌控制辣椒炭疽病是综合防治该病的一条重要措施。它具有不污染环境、对人畜无害、对植物无副作用等优点,对土传病害的控制尤为适用。但防治效果一般不及化学农药显著,防效受环境条件影响较大,一般生防制剂的防治效果达到 60%~70%,即可认为是较理想的<sup>[1]</sup>。

**第一作者简介:**秦刚(1978-),男,硕士,讲师,现主要从事植物保护教学及科研工作。E-mail:qingang178@163.com。

**收稿日期:**2011-12-19

植物病害的生物防治研究国内外已广泛开展<sup>[2]</sup>,研究的主要内容是应用各种具有生防作用的有益微生物及其次生代谢产物对植物病害进行防治。在各种植物病害中,以真菌病害的生物防治研究最广泛,已有许多成功的报道。研究表明,许多有益微生物,如多种真菌、细菌和一些放线菌都可应用于真菌病害的生物防治,并已取得良好的应用效果<sup>[3-16]</sup>。拮抗性细菌、放线菌主要用于土传真菌病害的生物防治,常用的有以下一些属:芽孢杆菌属(*Bacillus*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)、黄单胞菌属(*Xanthomonas*)、链霉菌属(*Streptomyces*)、游动放线菌属(*Actinoplanes*)、土壤杆菌属(*Agrobacterium*)、产碱菌属(*Alcaligenes*)、节杆菌属(*Arthrobacter*)、固氮菌属(*Azotobacter*)、欧文氏菌属(*Erwinia*)、黄杆菌属(*Flavobacterium*)、小单胞菌属(*Micromonospora*)和根瘤

[2] 潘佑找,柯尊涛,赵宇璇.不同外植体对兰州百合组织培养的影响[J].安徽农学通报,2007,13(19):242-245.

[3] 潘佑找,赵金萍,曾祥秒,等.野生乳头百合组织培养及快速繁殖研究[J].安徽农业科学,2011,39(14):8256-8258.

[4] 葛蓓学,杨青杰,吴萍,等.细叶百合组织培养植株再生[J].东北林业大学学报,2010,38(5):54-56,59.

[5] 张艺萍,屈云慧,吴学尉,等.大理百合组织培养和快速繁殖[J].北方园艺,2007(8):189-190.

[6] Xu L F, Ma F W, Liang D. Plant regeneration from in vitro cultured leaves of Lanzhou lily (*Lilium davidii* var. *unicolor*) [J]. Scientia Horticulturae, 2009, 119:458-461.

## Study on Tissue Culture and Micropropagation of *Lilium asiatic* Hybrids Prato

SONG Li-li<sup>1</sup>, SI Liang<sup>1</sup>, YU Dian-si<sup>1</sup>, WEI Lu-yu<sup>2</sup>, GUO Chang-hong<sup>1</sup>

(1. Key Laboratory of Molecular Cytogenetics and Genetic Breeding of Heilongjiang, College of Life Science and Technology, Harbin Normal University, Harbin, Heilongjiang 150025; 2. Agricultural and Sideline Base of 65246 Troops, Hegang, Heilongjiang 154107)

**Abstract:** The leaves of 'Prato' were selected as explants, the tissue culture of *Lilium asiatic* Hybrids Prato were studied. The results showed that the optimal medium for leaf induction was MS+0.5 mg/L 6-BA+0.5 mg/L NAA+0.2 mg/L KT+0.1 mg/L 2,4-D, the induction rate was 73.3%; MS+0.1 mg/L TDZ+0.5 mg/L NAA was the optimal medium for the callus differentiation; the 1/2MS+0.5 mg/L NAA was successful for rapid rooting.

**Key words:** *Lilium asiatic* Hybrids 'Prato'; tissue culture; callus; explant