

百合种间杂种胚离体培养研究

王丹菲, 代汉萍, 雷家军

(沈阳农业大学园艺学院 110161)

摘要:以不同百合种间杂交获得的幼胚为外植体进行离体胚培养, 观察不同百合种间杂种胚的萌发和生长情况, 并筛选适合百合种间杂种胚萌发、增殖和生根的培养基。结果表明, 在所有的杂交组合中, 渥丹×卷丹的萌发率最高, 达到 96.1%, 兰州百合×渥丹的萌发率最低, 为 9.4%。最适合百合种间杂种胚萌发的培养基为 MS+BA0.1mg/L+NAA0.01mg/L, 杂种幼苗最佳增殖培养基是 MS+NAA0.01mg/L+BA0.5~0.75mg/L。在培养基 1/2MS+0.1%活性炭中杂种幼苗的生根情况最好。杂种幼苗沙床扦插成活率可达到 90%以上。

关键词:百合; 幼胚; 种间杂交; 组织培养

中图分类号: S682.2 **文献标识码:** B

文章编号: 1001-0009(2006)04-0157-03

在百合种间杂交育种中, 胚培养技术被证实是一种克服杂交障碍的有效手段。我国从 20 世纪 80 年代初开始运用胚培养技术克服百合杂交后期的育性障碍, 并取得一定的成果, 但研究多集中在接种培养基的筛选上^[1~5]。其旨在筛选出适合百合种间杂种胚萌发、增殖、生根培养的培养基, 建立完整的百合幼胚组织培养体系。

1 材料与方

1.1 材料

本试验以不同百合杂交种子作为材料, 取其幼胚进行离体培养。所取的百合幼胚来自于以下杂交组合: (1)布鲁拉诺(Brunello)×渥丹(L. concolor); (2)布鲁拉诺×兰州百合(L. davidii); (3)渥丹×布鲁拉诺; (4)渥丹×细叶百合(L. pumilum); (5)渥丹×西伯利亚(Siberia); (6)渥丹×卷丹(L. lancifolium); (7)毛百合(L. dahuricum)×渥丹; (8)毛百合×布鲁拉诺; (9)毛百合×细叶百合; (10)兰州百合×渥丹; (11)兰州百合×布鲁拉诺; (12)细叶百合×毛百合; (13)细叶百合×布鲁拉诺。

1.2 方法

1.2.1 胚培养 取授粉后 30~50d 的蒴果, 在无菌条件下用 75%酒精棉球表面擦拭 3 次, 再用 0.1%的升汞溶液浸泡 15min, 无菌水冲洗 3 次。将蒴果横切, 选取有胚种子剥取种胚, 接种在培养基 MS+BA0.1mg/L+NAA0.02mg/L 上。培养温度为 24℃~27℃, 光照约 3 000Lx, 光照时数 12h/d。

1.2.2 增殖培养 将胚培养所得幼苗的鳞片剥离, 转移到 MS+NAA0.01mg/L+BA0~1.0mg/L 的增殖培养基上, BA 的浓度梯度分别为 0、0.25、0.5、0.75、1.0mg/L。

1.2.3 生根培养 将所得杂种苗接种在 1/2MS+NAA0~1.0mg/L 的生根培养基上, NAA 的浓度梯度分别为 0、0.05、0.2、0.5、1.0mg/L, 分为加活性炭(0.1%)与不加活性

炭两种情况, 总计 10 种培养基。

1.2.4 沙床扦插 幼苗诱导生根后进行炼苗并扦插, 扦插基质为清洁的河沙, 湿度为 70%~80%。起小拱, 盖地膜, 并用遮阴网遮阴, 使光照为自然光照的 50%, 保持温度 15~25℃和较高的空气湿度, 1 个月后调查成活率。

2 结果与分析

2.1 百合种间杂交所得蒴果及种子情况

不同杂交组合所得种子的有胚率不同, 最高为毛百合×布鲁拉诺, 达到 6.50%, 其次是布鲁拉诺×渥丹, 有胚率为 3.05%, 有胚率最低的杂交组合为布鲁拉诺×兰州百合, 仅为 0.05%(表 1)。同一母本的杂交组合, 蒴果大小与有胚率呈一定的正相关, 蒴果越饱满有胚率也越高, 同一蒴果中有胚种子与无胚种子的大小相差不大, 但有胚种子的厚度明显大于无胚种子。

表 1 百合种间杂交所得蒴果及种子情况

杂交组合	蒴果长 (cm)	蒴果宽 (cm)	种子长 (cm)	种子宽 (cm)	有胚率 (%)
布鲁拉诺×渥丹	3.63±0.27	2.46±0.19	0.74±0.21	0.53±0.15	3.05
布鲁拉诺×兰州百合	4.47±0.33	2.22±0.22	0.57±0.14	0.39±0.10	0.05
渥丹×布鲁拉诺	3.54±0.79	1.58±0.66	0.53±0.18	0.43±0.17	0.29
渥丹×细叶百合	3.82±0.71	1.68±0.27	0.50±0.14	0.44±0.15	2.30
渥丹×西伯利亚	3.20±0.38	1.10±0.39	0.45±0.03	0.45±0.03	1.13
渥丹×卷丹	3.58±0.65	1.54±0.63	0.55±0.13	0.55±0.10	2.61
毛百合×渥丹	4.11±0.31	2.23±0.45	0.79±0.15	0.67±0.10	1.30
毛百合×布鲁拉诺	3.15±0.86	1.28±0.37	0.39±0.15	0.32±0.13	0.63
毛百合×细叶百合	5.05±0.43	2.65±0.61	0.93±0.19	0.74±0.18	6.50
兰州百合×渥丹	3.45±0.26	1.15±0.07	0.31±0.04	0.21±0.02	2.23
兰州百合×布鲁拉诺	3.65±0.35	1.39±0.27	0.39±0.10	0.26±0.06	1.10
细叶百合×毛百合	2.40±0.31	1.10±0.55	0.30±0.06	0.25±0.04	0.79
细叶百合×布鲁拉诺	2.86±0.37	1.50±0.74	0.26±0.05	0.20±0.13	0.59

收稿日期: 2006-01-10

2.2 百合种间杂种胚的离体培养

表 2 不同百合种间杂种胚离体培养的萌发情况

杂交组合	接种胚数 (个)	萌发胚数 (个)	萌发率 (%)	萌发时间 (d)
渥丹×西伯利亚	58	48	82.8	9
渥丹×细叶百合	163	146	89.6	11
渥丹×卷丹	281	270	96.1	11
渥丹×布鲁拉诺	17	9	52.9	18
布鲁拉诺×兰州百合	4	2	50.0	10
布鲁拉诺×渥丹	91	39	42.9	9
毛百合×渥丹	66	10	15.2	10
毛百合×细叶百合	286	171	59.8	10
毛百合×布鲁拉诺	15	8	53.3	9
细叶百合×毛百合	12	5	41.7	10
细叶百合×布鲁拉诺	16	13	81.3	12
兰州百合×渥丹	106	10	9.4	14
兰州百合×布鲁拉诺	5	2	40.0	11

2.2.1 不同百合种间杂种胚离体培养的萌发情况 以渥丹为母本的杂交组合中萌发情况最好的为渥丹×卷丹, 萌发率高达 96.1%, 明显高于其它组合, 萌发率最低的为渥丹×

布鲁拉诺的幼胚, 为 52.9%。从萌发时间上看, 杂交组合渥丹×布鲁拉诺萌发时间最晚(18d), 另三个杂交组合萌发时间基本相同(约 10d)。以布鲁拉诺为母本的两个杂交组合中萌发率相对较高的为布鲁拉诺×兰州百合, 萌发率为 50%, 萌发时间差异不大; 以毛百合为母本的杂交组合萌发率较高的分别是毛百合×细叶百合 59.8%、毛百合×布鲁拉诺 53.3%, 而毛百合×渥丹的萌发率较低仅为 15.2%; 以细叶百合为母本的两个杂交组合萌发率差异较大, 细叶百合×布鲁拉诺的萌发率为 81.3%, 明显高于细叶百合×毛百合的萌发率 41.7%; 以兰州百合为母本的杂交组合中兰州百合×渥丹的萌发率很低, 仅为 9.4%, 且萌发时间长, 兰州百合×布鲁拉诺的萌发率为 40.0%, 高于兰州百合×渥丹。综合各杂交组合所得幼胚的萌发情况, 发现有胚率较高的萌发率也相对较高, 成正相关(表 2)。

2.2.2 不同培养基对百合种间杂种幼苗增殖培养的影响

杂交组合布鲁拉诺×渥丹杂种幼苗鳞片在 3 号培养基上的诱导率最高, 达到 21.4%, 杂交组合渥丹×卷丹杂种幼苗鳞片在 4 号培养基上的诱导率最高, 为 27.3%(表 3、表 4), 但在不同培养基中鳞片萌发的幼苗均为嫩绿色, 生长健壮, 长势没有明显区别。较适合百合种间杂种幼苗的增殖培养基为 MS+NAA0.01mg/L+BA0.5mg/L 或 MS+NAA0.01mg/L+BA0.75mg/L。

表 3 不同培养基对布鲁拉诺×渥丹杂种幼苗鳞片增殖培养的影响

代号	培养基(mg/L)	接种鳞片数(个)	诱导芽鳞片数(个)	诱导总芽数(个)	每个鳞片平均芽数(个)	诱导率(%)
1号	MS+NAA0.01	50	8	36	4.5	16.0
2号	MS+NAA0.01+BA0.25	40	4	18	4.5	20.0
3号	MS+NAA0.01+BA0.5	70	15	47	3.1	21.4
4号	MS+NAA0.01+BA0.75	90	13	50	3.9	14.4
5号	MS+NAA0.01+BA1.0	65	7	25	3.6	10.8

表 4 不同培养基对渥丹×卷丹杂种幼苗鳞片增殖培养的影响

代号	培养基(mg/L)	接种鳞片数(个)	诱导芽鳞片数(个)	诱导总芽数(个)	每个鳞片平均芽数(个)	诱导率(%)
1号	MS+NAA0.01	90	16	70	4.4	17.8
2号	MS+NAA0.01+BA0.25	95	22	76	3.5	23.2
3号	MS+NAA0.01+BA0.5	75	15	45	3.0	20.0
4号	MS+NAA0.01+BA0.75	55	15	37	2.5	27.3
5号	MS+NAA0.01+BA1.0	75	9	53	5.9	12.0

2.2.3 不同培养基对百合种间杂种幼苗生根情况的影响 以杂交组合布鲁拉诺×渥丹的杂种幼苗为试材, 在幼苗接种 30d 后调查生根情况。发现加有活性炭的培养基中生根

情况较好, 根系白且粗壮, 而没有加入活性炭的培养基中的根细弱, 颜色黄且长度短, 但根数多。生根率最高的培养基为 1/2MS+0.1%活性炭, 且在此培养基中幼苗的平均根数

和平均根长的值都较高, 其次为培养基 1/2MS+NAA0.05 mg/L+0.1%活性炭; 在不加入活性炭的培养基中, 最好的培养基为 1/2MS+NAA0.2 mg/L(表 5)。

表 5 不同培养基对百合种间杂种幼苗生根的影响

代号	培养基 (mg/L)	接种株数 (株)	生根株数 (株)	生根率 (%)	平均根数 (条)	平均根长 (cm)
6号	1/2MS	35	19	54.3	4.9	1.3
7号	1/2MS+NAA0.05	30	24	50.0	9.4	1.4
8号	1/2MS+NAA0.2	30	19	63.3	12.3	1.3
9号	1/2MS+NAA0.5	30	18	60.0	16.9	1.4
10号	1/2MS+NAA1.0	30	15	50.0	13.3	1.1
11号	1/2MS+0.1%活性炭	30	26	86.6	6.8	2.4
12号	1/2MS+NAA0.05+0.1%活性炭	35	28	80.0	6.5	2.4
13号	1/2MS+NAA0.2+0.1%活性炭	35	25	71.4	6.2	2.3
14号	1/2MS+NAA0.5+0.1%活性炭	35	26	74.3	7.08	2.2
15号	1/2MS+NAA1.0+0.1%活性炭	35	26	74.3	9.6	2.0

3 讨论

3.1 胚龄对百合种间杂种胚培养的影响

本试验中发现, 百合的胚龄过长时, 萌果干枯, 种子有失水现象发生, 胚乳大多发育成淀粉状, 给胚的剥离增加了难度, 部分剥离胚可能带有一部分胚乳, 而胚龄过短时, 幼胚成水状, 几乎无法剥离和接种, 而 40~60d 胚龄的种胚是较为适宜的, 具体胚龄对胚培养的影响与不同杂交组合有关。

3.2 百合种间杂种胚培养的培养基选择

百合种间杂种胚培养的培养基选择前人做了许多研究, 主要集中在不同激素、蔗糖浓度对胚的萌发及生长的影响。本试验在后期的观察中发现, 激素浓度在一定的范围内对百合杂种胚的萌发没有明显影响, 但萌发后幼苗的生长与激素浓度有一定的关系, 较低浓度的生长素和细胞分裂素有利于杂种幼苗的生长, 不易形成畸形苗。

3.3 活性炭在百合种间杂种幼苗生根培养中的作用

赵玮等(2005)在活性炭对半夏组培苗改良的研究中发现, 浓度为 0.25%的活性炭可明显降低玻璃化率和褐化率, 并且对组培苗的长势有明显的促进作用^[6]; 李芸瑛等(2001)

2.3 百合种间杂种试管苗的扦插

种间杂种幼苗正常生根后, 扦插到河沙基质中, 1 个月后调查成活率, 各种间杂种幼苗扦插成活率都在 90% 以上。

在活性炭对粉蕉生根影响的研究中发现, 活性炭对不定根的诱导和生长有促进作用^[7]。本试验在百合杂种幼苗的生根培养基中加入 0.1% 的活性炭, 利用活性炭对根分泌物的吸收作用, 减少了根的褐变, 从而促进了根的生长。

参考文献:

- [1] 黄济明. 以玫红百合作为亲本进行百合种间远缘杂交[J]. 自然杂志, 1983(4): 316.
- [2] 黄济明. 以玫红百合为亲本育成百合种间杂种[J]. 园艺学报, 1990, 17(2): 153-156.
- [3] 于晓英, 吴铁明, 倪沛, 等. 百合幼胚的离体培养和植株再生[J]. 湖南农业大学学报, 1987, 15(3): 72-77.
- [4] 孙晓梅, 罗凤霞, 王亚斌, 等. 百合幼胚离体培养基的筛选[J]. 沈阳农业大学学报 2002, 33(1): 22-26.
- [5] 屈云慧, 吴丽芳, 杨春梅. 百合幼胚离体培养成株体系的建立[J]. 云南农业科技, 2002, (2): 9-12.
- [6] 赵玮, 魏莉霞. 活性炭对半夏组培苗改良的研究[J]. 甘肃农业, 2005, 5: 50.
- [7] 李芸瑛, 余淦新, 梁廉. 适当浓度的调节剂和活性炭对粉蕉组培的影响[J]. 肇庆学院学报, 2001, 22(2): 48-50.

欢迎随时订阅《北方园艺》期刊

2006 年《北方园艺》期刊由 80 页增至 120 页, 但订价没变, 欢迎订阅, 欢迎投稿, 欢迎刊登广告。