

荷兰百合新品种索尔邦的快繁技术研究

李 卫 锋, 王 丹, 黄 海 涛

(西南科技大学 生命科学与工程学院, 四川 绵阳 621002)

摘 要: 选用荷兰百合品种索尔邦鳞茎、顶芽、茎段、叶等不同部位进行离体, 以鳞茎为最佳外植体, 以 MS+6-BA 2.0 mg/L+IAA 1.0 mg/L 的培养基诱导丛生芽效果最好, 其诱导率为 96.7%, 而且鳞片诱导中鳞茎中部表现出较大的器官发生潜力。百合继代增殖培养以 MS+BA 1.0 mg/L+IAA 0.4 mg/L 培养基为宜, 组培苗在 MS+IAA 0.5 mg/L 的培养基中较易生根, 生根时间为 25 d 左右。

关键词: 百合; 索尔邦; 组织培养

中图分类号: S 682.2⁺.9 文献标识码: A 文章编号: 1001-0009(2007)09-0191-02

百合 (*Lilium*), 百合科百合属的多年生草本植物, 在全世界有 90 多种, 百合花花形各异, 清雅脱俗, 芳香宜人, 是名贵的切花和盆花, 其大部分鳞茎既可食用又能药用^[1,3]。全球范围内的百合球根生产主要集中在 10 个国家, 生产面积最大的是荷兰, 荷兰已生产的 22.1 亿百合球根, 产值达 1.2 亿美元^[4]。荷兰百合索尔邦花色鲜艳, 为百合中的名贵种类, 深受人们的欢迎, 在国内外市场上需求量很大, 其种苗供不应求。百合的繁殖主要靠鳞茎、分株进行, 繁殖速度慢, 而离体培养为加快繁殖, 满足市场需求提供了理想的途径。自 1957 年 Robb^[2] 首次发表了百合的组织培养文章后, 到现在成功的百合组织培养方法已有 40 多种^[3]。试验利用荷兰百合索尔邦的不同组织作外植体进行离体培养, 找到最佳离体培养途径, 大幅度提高繁殖速度, 以便取得更大的经济效益。同时, 为百合辐射育种提供技术支持。

1 材料与方法

荷兰百合来自云南隆格兰园艺公司, 百合品种索尔邦直接来源荷兰。取百合鳞茎去冷冻后于 2005 年 10 月 16 日播种, 2006 年 2 月 20 日, 采用百合鳞片、叶片、茎段、花瓣作为外植体进行离体组织培养, 用自来水将百合鳞片冲洗干净后, 在超净工作台上用 70% 酒精浸泡 30 s, 无菌水冲洗后, 再用 0.1% 氯化汞溶液浸泡 10 min, 无菌水冲洗 6 ~ 7 次^[7,8]。用已消毒滤纸吸干鳞片表面水分, 将外植体在无菌条件下切成 0.5 cm² 的小块, 接种于诱导培养基上, 基本培养基为 MS, 琼脂 0.7%, 蔗糖 3%, 培养基 pH 值为 5.8 以 121 ℃ 高温高压灭菌 20 min,

培养温度 22 ~ 25 ℃, 光照强度 1 500 ~ 2 000 lx, 光照时间 10 ~ 12 h/d。

2 结果与讨论

2.1 不同分化培养基对不同外植体小鳞茎分化的影响
在 4 种分化培养基上分别接种鳞片切块、顶芽、茎段和叶片切块进行分化效果的试验, 试验结果见表 1。

表 1 不同激素配比对不同外植体分化效果的影响

外植体	激素种类及配比			接种外植 体数	开始分化 (膨大)/d	形成小鳞茎 或芽数/60 d	分化率 /%
	6-BA	IAA	NAA				
	/mg · L ⁻¹						
鳞片	2.0	1.5	0	60	10	56	93.3
	2.0	1.0	0	60	9	58	96.7
	2.0	0	1.0	60	12	55	91.7
	2.0	0	1.5	60	10	50	83.3
顶芽	2.0	1.5	0	60	18	34	56.7
	2.0	1.0	0	60	22	45	75.0
	2.0	0	1.0	60	25	36	60.0
	2.0	0	1.5	60	28	38	65.0
茎段	2.0	1.5	0	60	27	34	56.7
	2.0	1.0	0	60	25	27	45.0
	2.0	0	1.0	60	32	29	48.3
	2.0	0	1.5	60	29	22	36.7
叶片	2.0	1.5	0	60	无	0	0
	2.0	1.0	0	60	23	0	0
	2.0	0	1.0	60	无	0	0
	2.0	0	1.5	60	无	0	0

由表 1 可见, 不同外植体在不同激素配比的培养基中, 分化效果不同, 鳞片切块的分化率最高, 其最适分化培养基均为 MS+ 6-BA 2 mg/L+ IAA 1 mg/L, 其开始分化的天数最短, 最高分化率达 96.7%; 其次是顶芽和茎段, 分化率最低的叶片, 仅为 0。表 1 中还反映出不同外植体在同一激素配比下分化率不同^[7], 这可能与不同外植体的生理状态差异有关。

2.2 不同激素浓度对索尔邦百合鳞片诱导出芽效果影响
结果表明(表 2): 低浓度 6-BA 的诱导培养基, 对鳞片诱导出芽都有一定效果, 但随着 6-BA 浓度的升高, 诱导效果反而有下降的趋势, 其中以 (2) 号培养基 MS+ 6-BA 2.0+IAA 1.0 诱导出芽效果最好。于接种 9 d 后

第一作者简介: 李 卫 锋(1976-), 男, 陕西安康人, 讲师, 在读研究生, 主要从事园艺植物细胞工程。
基金项目: 中国工程物理研究院横向合作研究资助项目(2003205)。
收稿日期: 2007-04-23

鳞片明显增厚变红, 15 d 后切口部位出现淡绿色愈伤组织, 25 d 后切口出现绿色芽点。待芽伸长, 绿色叶片长出时, 将芽切下转接到增殖培养基上。

表 2 不同激素浓度对百合鳞片诱导效果

培养基	瓶数	外植体	芽苗数	生长势
(1) MS+6-BA1.0+IAA1.0	20	60	37	++
(2) MS+6-BA2.0+IAA1.0	20	60	76	+++
(3) MS+6-BA3.0+IAA1.0	20	60	51	+++
(4) MS+6-BA4.0+IAA1.0	20	60	45	+
(5) MS+6-BA1.0+IAA2.0	20	60	25	++
(6) MS+6-BA2.0+IAA2.0	20	60	37	++
(7) MS+6-BA3.0+IAA2.0	20	60	56	++
(8) MS+6-BA4.0+IAA2.0	20	60	45	+

2.3 不同部位的百合鳞片对诱导出芽效果的影响

表 3 不同部位的百合鳞片诱导效果

鳞片部位	外植体数	诱导的芽总数
外部	20	61
中部	20	103
内部	20	3

表 3 为不同部位的百合鳞片材料切成 0.5 cm² 的块, 接种 60 d 后的观察结果, 培养基均采用 MS+6-BA 2.0+IAA 1.0。结果表明: 芽的形成与鳞片不同部位有关。鳞茎中部的鳞片诱导出芽的能力最强, 外部鳞片次之, 内部鳞片几乎不能形成幼芽。由于外部鳞片易受细菌侵染, 增加了灭菌难度, 故一般不采用外部鳞片。利用中部鳞片进行组培, 既能提高芽的诱导率, 又能降低组培苗污染^[8]。

2.4 不同激素浓度对百合丛生芽增殖的影响

表 4 不同激素浓度对芽增殖效果

处理培养基接种外植诱导的代号/Mg·L ⁻¹	瓶数	外植体	芽苗数	生长势
(1) MS+6-BA0.5+IAA0.2	10	30	104	+
(2) MS+6-BA1.0+IAA0.2	10	30	113	+++
(3) MS+6-BA1.5+IAA0.2	10	30	124	+++
(4) MS+6-BA2.0+IAA0.2	10	30	107	++
(5) MS+6-BA0.1+IAA0.4	10	30	193	++
(6) MS+6-BA1.0+IAA0.4	10	30	111	++
(7) MS+6-BA1.5+IAA0.4	10	30	143	+++
(8) MS+6-BA2.0+IAA0.4	10	30	109	++

结果表明: 低浓度的 6-BA 和 IAA 对芽增殖有较好的效果, 其中以(6)号培养基对芽增殖效果最好。将诱导出的芽转接到增殖培养基中后, 20 d 后, 芽基部膨大并分化出 4~5 个小芽, 形成芽丛。待芽长出嫩绿叶片, 长至 1.5~2.0 cm 时可转到增殖培养基上继代培养, 也可转接到生根培养基上使其生根。30~40 d 继代培养 1 次。

2.5 生根与移栽

将从生试管芽切成单株, 接种在 1/2 MS+IAA 0.5 的生根培养基上, 10 d 后芽基部长出 3~5 条辐射状白色小根, 25 d 后可全部生根。移栽前将试管苗从培养室中移出开瓶练苗 3~5 d, 移栽时, 将苗从培养瓶中取出, 洗去附着在苗上的培养基, 栽于草炭+蛭石(2:1)的基质中, 保温保湿, 待小苗长出侧根后可栽入大田。

3 小结

利用植物组织培养技术进行百合快速繁殖, 常通过 5 种途径诱导分化产生小植株^[9]。试验通过鳞茎诱导、腋芽发育和不定芽的产生, 形成丛生芽块的过程。百合快速繁殖使用的基本培养基有 MS、LS、SH、N₆、B₅、Hyponex 等, 其中最常用的是 MS 培养基。在百合的快速繁殖中, 应用的激素有: BA、KT、TDZ、IAA、NAA、IBA、BR、2,4-D^[10], 荷兰百合培养, 选用高 6-BA 与低 IAA 配比的培养基较合适, 选用鳞茎内部组织效果最好; 继代增殖培养继代培养, 降低 6-BA 和 IAA 浓度效果较好; 生根时单独使用 IAA 较好。

参考文献

[1] 胥京宜. 百合的开发与利用[J]. 湖北农业科学, 1999(4): 44.
[2] ROBB SM. The culture of excised tissue from bulb scales of *Lilium speciosum* [J]. JExp Bot, 1957(8): 348-352.
[3] 洪波. 百合花卉的综述研究[J]. 东北林业大学学报, 2000, 28(2): 68-70.
[4] 赵丽辉, 王艳秋, 李详, 等. 荷兰百合引种的初步研究[J]. 吉林农业大学学报, 2000, 22(3): 37-38, 46.
[5] 冷肖荀, 王青华. 外植体和培养因子对百合不定芽诱导的影响[J]. 河北林业科技, 2000(1): 1-2.
[6] 谭文澄. 观赏植物组织培养技术[M]. 北京: 中国林业出版社, 1991.
[7] 罗丽萍, 杨柏云, 章敏华, 等. 百合的组织培养[J]. 中草药, 2001, 32(7): 640-642.
[8] 张淑娟, 刘与明. 组织培养法快速繁殖新铁炮百合 F1 植株[J]. 植物生理学通讯, 1998, 34(5): 364.
[9] 蒋细旺, 司怀军. 百合的组织培养技术综述[J]. 湖北农业科学, 2004(1): 78-79.
[10] 陆美莲, 许新萍. 生物技术在百合上的应用[J]. 仲恺农业技术学院学报, 2002, 15(4): 69-76.
[11] 卢其能. 龙牙百合的组织培养和快速繁殖研究[J]. 江西农业学报, 2002, 14(4): 43-46.
[12] 傅玉兰, 何凤群. 影响百合试管鳞茎增殖因素的研究. 安徽农业大学学报[J]. 2001, 28(2): 179-181.
[13] 龙春林, 程治英, 王俐, 等. 兰州百合器官离体培养外植体位置效应观察[J]. 云南植物研究, 2004, 26(2): 221-225.

Study on Tissue Culture and Propagation of Holland Lily in Vitro

LI Weifeng, WANG Dan, HUANG Hai-tao

(Life Science and Engineering College, Southwest University of Science and Technology, Mianyang Sichuan 621002, China)

Abstract: The experiment selects Holland Lily variety Sorbonne bulb, the terminal bud, the stem section, the leaf and so on, as is best, by MS+6-BA 2.0 mg/L+IAA 1.0 mg/L culture medium induction grows thickly, the bud effect to be best, its inductivity is 96.7%, and in the scales induction, The central section displays the big organogenesis potential. The lily continues the generation of multiplication raise by MS+BA 1.0 mg/L+IAA 0.4 mg/L for is suitable, the tissue culture plant in MS+IAA 0.5 mg/L is easy to take root, about 25 days.

Key words: Lily; Sorbonne; Tissue culture