

食用百合种质资源离体保存技术研究

张玉芹¹, 李锡香², 王海平²

(1. 内蒙古民族大学, 内蒙古 通辽 028043; 2. 中国农业科学院 蔬菜花卉研究所, 北京 100081)

摘要:为建立食用百合种质资源离体保存体系, 将试管苗接种到 6 种不同培养基中, 分别在不同温度、光照下保存 6 个月, 观察不同浓度的脱落酸和甘露醇对试管苗生长的影响。结果表明: 2℃和 5℃, 培养基中加入甘露醇和脱落酸均可有效抑制试管苗生长, 保存 6 个月后均正常生长; 10℃和 25℃不同浓度的甘露醇和脱落酸对百合试管苗存活率、株高及鳞茎形成均有影响。甘露醇浓度低对生长抑制效果差, 浓度高对生长势影响严重, 浓度 20 g/L 时保存 6 个月存活率仍达 94.6%, 且利于鳞茎形成, 对百合试管苗保存效果最好; 脱落酸较甘露醇更能抑制试管苗生长, 但随保存时间延长存活率减低, 叶尖枯死, 浓度越高越严重, 不利于鳞茎的形成。

关键词:食用百合; 种质资源; 离体保存

中图分类号:S 644.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2011)02-0149-03

食用百合有很高的营养价值, 其肥厚的鳞片含有丰富的淀粉和蛋白质、脂肪、糖类、果胶质、VB₁ 及胡萝卜素, 还含有钙、磷、锌、铁、硒等 13 种微量元素和 18 种氨基酸, 是菜中珍品^[1-2]。百合栽培中一般采用分球繁殖, 用种量大, 生长周期长, 且鳞片扦插易腐烂, 易受气候、栽培条件和病虫害影响, 成活率低, 容易感染病毒, 造成退化而影响品质^[3]。离体保存植物种质资源保存时间长, 占空间少, 利用时可直接播种入土壤, 简便操作, 节省费用, 且安全、可靠、无病虫害危害, 尤其适用于无性繁殖的作物。该技术已应用于马铃薯、甘薯、木薯、草莓、大蒜等作物^[4-7], 但至今通过常低温保存食用百合种质资源的研究却很少。现以新鲜兰州百合为试材, 通过组织培养技术, 在不同温度下, 探讨不同激素及浓度对百合试管苗缓慢生长的影响, 以期离体保存百合无病种质资源提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

新鲜兰州百合。

1.2 试验方法

扩繁后得到的小芽, 继代培养一段时间, 待长成为

15~25 mm 的幼苗, 进行试管苗保存。保存容器为 BOMEX 公司生产的 100 mL 三角瓶, 每瓶装培养基 60 mL, Parafilm 封口膜封口。接种芽后在(2±1)、(5±1)、(10±1)、(25±1)℃ 4 种温度下保存, (2±1)℃和(5±1)℃为弱光培养; (10±1)℃保存, 光照时间为 8 h/d, 光照强度为 1 080 lx; (25±1)℃保存, 光照时间为 8 h/d, 光照强度为 6 130 lx。保存培养基以 MS 基本培养基(糖浓度为 90 g/L), 添加 ABA 的浓度为 2.5、5.0、10.0 mg/L, 试验代号分别为 AS1、AS2、AS3, 添加 MNT 的浓度为 10、20、30 g/L, 试验代号分别为 NS1、NS2、NS3, 每处理接种 3 瓶, 每瓶 5 株试管苗, 3 次重复。

保存期间, 统计试管苗存活率、测量试管苗的株高, 观察基部是否有鳞茎发生。为防止污染, 试管苗株高是用直尺直接在三角瓶外测定。生长量(cm)=测量时的苗高-前次测量的苗高。

2 结果与分析

2.1 试管苗成活率

由表 1 可知, (2±1)℃和(5±1)℃低温、弱光条件下保存的试管苗, 不论是添加 MNT 还是 ABA 保存 6 个月时存活率都达到了 100%。(10±1)℃下, 保存 3 个月时存活率均达到 100%, 保存 6 个月时, 随 MNT 和 ABA 浓度增加存活率均下降, 添加 MNT 的试管苗存活率较添加 ABA 存活率高。(25±1)℃下, 保存 3 个月时, 除 AS3 外, 存活率为 100%, 保存 6 个月时, 添加 ABA 的试管苗存活率很低, AS3 存活率为 0, 添加 MNT 的试管苗以 NS2 存活率最高, 仍保持在 90%以上。

第一作者简介:张玉芹(1977-), 女, 在读博士, 讲师, 现主要从事无性繁殖蔬菜种质保存研究工作。E-mail: zhyq369@126.com。

收稿日期:2010-11-05

表 1 不同处理保存试管苗平均成活率 %

温度/℃ 保存时间/月	(2±1)			(5±1)			(10±1)			(25±1)		
	1	3	6	1	3	6	1	3	6	1	3	6
NS1	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	11.4
NS2	100	100	100	100	100	100	100	100	84.3	100	100	94.6
NS3	100	100	100	100	100	100	100	100	72.3	100	100	61.1
AS1	100	100	100	100	100	100	100	100	34.6	100	100	11.4
AS2	100	100	100	100	100	100	100	100	12.6	100	100	3.3
AS3	100	100	100	100	100	100	100	100	12.6	100	84.6	0.0

2.2 试管苗株高生长变化

从图 1~4 可知,2℃和 5℃下保存的试管苗生长很缓慢,保存 3 个月各处理株高增加量均不到 1 cm,且均生长正常,未出现苗弱现象。10℃下保存的试管苗保存 3 个月时,株高增量均未超过 1 cm,添加 MNT 与添加 ABA 差异不明显。保存 6 个月时,添加 MNT 的株高增量明显,最高增加 2.43 cm,增量最小的为 NS2 处理,添加 MNT 与添加 ABA 差异明显,添加 ABA 的试管苗株高增量不到 1 cm。25℃下保存的试管苗第 1 个月增量最大,添加

MNT 的试管苗 NS1 增加 1.58 cm,NS2 处理增量最小,为 1.02 cm,添加 ABA 的试管苗增量均未超过 5%。保存 3 个月后,添加 MNT 的试管苗较添加 ABA 的试管苗增长快,仍表现 NS2 处理增量最小,为 1.26 cm,添加 ABA 的试管苗增量未超过 1 cm。保存 6 个月后,添加 MNT 和 ABA 的试管苗增量均很小,添加 MNT 的试管苗生长量大于添加 ABA 的试管苗,仍表现 NS2 生长量最小,添加 ABA 的处理随浓度增加抑制生长明显。

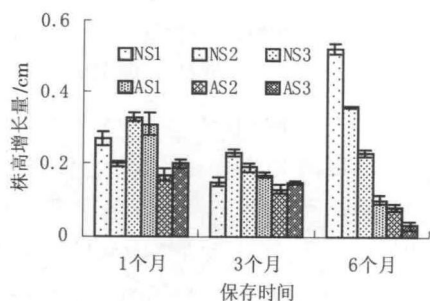


图 1 2℃下不同处理试管苗株高增量

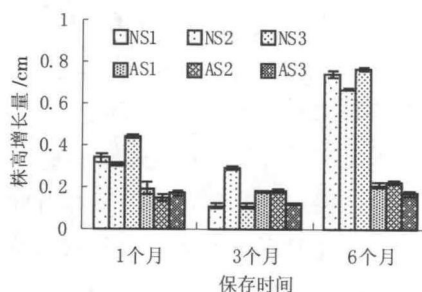


图 2 5℃下不同处理试管苗株高增量

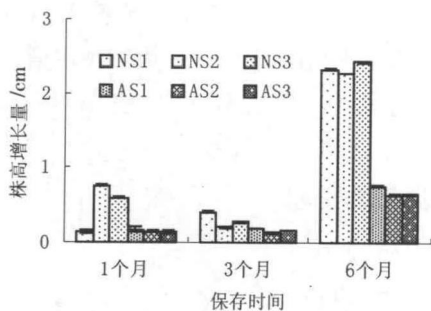


图 3 10℃下不同处理试管苗株高增量

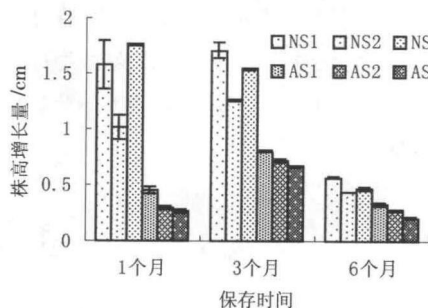


图 4 25℃下不同处理试管苗株高增量

2.3 试管苗微型鳞茎形成状况

(2±1)℃和(5±1)℃低温、弱光条件和 10℃下保存的试管苗,添加 MNT 的培养基,保存 1 个月时没有微型鳞茎的形成,保存 3 个月后,试管苗有微型鳞茎形成,25℃下保存的试管苗保存 1 个月就有微型鳞茎出现。

添加 ABA 的试管苗只有 AS1 处理在 10℃和 25℃下保存 6 个月后有微型试管苗发生,其它处理均未有微型鳞茎发生。说明食用百合试管苗缓慢生长保存时,添加 MNT 较添加 ABA 有利于鳞茎的形成,且鳞茎形成与保存时间有关。

表 2 不同处理保存试管苗微型鳞茎形成状况

温度/℃	(2±1)			(5±1)			(10±1)			(25±1)		
保存时间/月	1	3	6	1	3	6	1	3	6	1	3	6
NS1	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+
NS2	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+
NS3	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+
AS1	-	-	-	-	-	-	-	±	+	-	±	+
AS2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
AS3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

注：-为未膨大，±为中度膨大，+为膨大。

3 结论与讨论

3.1 温度对试管苗保存的影响

降低培养温度是植物组织培养物缓慢生长保存最常用的方法^[8]。百合试管苗在不同温度条件下培养结果表明，2℃和5℃的低温条件下培养6个月试管苗均能维持健康状态，而在10℃和25℃条件下生长3个月后发现叶尖枯死等现象。因此，降低培养温度可显著降低百合试管苗生长速度，减少其继代次数，使其得以较长期的保存。

3.2 生长抑制剂对试管苗保存的影响

甘露醇能延长植株保存期限的原因是，甘露醇减小了细胞膨压，使养分和水分吸收困难，从而抑制了植株生长，减少了养分消耗^[9]。在4℃下保存苹果试管苗，不加甘露醇，保存5个月即开始有死株出现，而加入0.5%~1%的甘露醇，保存8个月才开始出现死株^[10]。猕猴桃试管苗在不加醇的培养基上，常温条件下保存，6个月成活率只有1.0%和2.0%，加入甘露醇5%，保存6个月成活率为47%，保存10个月仍存活13%^[11]。在试验中，25℃下保存的百合试管苗，在加有甘露醇的培养基中，保存6个月的试管苗，转到新鲜培养基上仍能成活，

在浓度20 g/L时效果最好。

脱落酸(ABA)有使植物器官脱落、调节芽的休眠、抑制种子发芽、促进衰老、引导开花、引起气孔关闭、抑制生长等生理作用^[12]。郭延平等发现在室温下，ABA可强烈抑制猕猴桃试管苗的生长，保存8个月，存率在53%以上^[11]。在试验中，加有ABA的培养基中生长的试管苗，在保存中生长非常缓慢，(2±1)℃和(5±1)℃下保存6个月，长势良好，不需继代。在(10±1)℃和(25±1)℃下保存5个月，死亡率较高，ABA浓度越高，死亡率越高。

参考文献

- [1] 卢美娇. 药用百合与食用百合的区别[J]. 时珍国医国药, 2001, 12(9): 806.
- [2] 马云光, 邓成忠. 食用百合高产栽培技术[J]. 中国果菜, 2002(1): 23.
- [3] 岳雷. 浅谈食用百合的应用和栽培技术[J]. 中国果菜, 2005(5): 53.
- [4] Westcott R J. Tissue culture storage of potato germplasm[M]. Minimal growth storage. Potato Research, 1981, 24: 343-352.
- [5] Withers L A. Cryopreservation and gene bank[M]. Blackwell Scientific Publishers. Oxford: Plant Cell Culture Technology, 1986: 96-140.
- [6] 国际植物遗传资源委员会培训班教材汇编, Reed S M. 种质资源的试管离体保存[M]. 北京: 中国农业出版社, 1992: 16-21.
- [7] 徐培文, 曲士松, 刘恒英, 等. 中国大蒜种质资源离体保存初步研究[J]. 中国农业科学, 2002, 35(3): 314-319.
- [8] 徐刚标. 植物种质资源离体保存研究进展[J]. 中南林学院学报, 2000, 20(4): 81-87.
- [9] Dorion N. Effects of temperature and hypoxic atmosphere on preservation and further development of *in vitro* shoot of peach (Armking) and peach × almond hybrid (GF677)[J]. Scientia Horticultures, 1994, 57(3): 201-213.
- [10] 史永忠, 邓秀新, 万蜀渊, 等. 苹果种质资源的离体保存[J]. 作物品种资源, 1996(4): 42-44.
- [11] 郭延平, 李嘉瑞, 吉爱梅. ABA对猕猴桃种质离体保存的生理效应[J]. 西北农业学报, 1994, 4(3): 84-87.
- [12] 汪良驹, 周夔. 高等植物脱落酸的生物合成及调节[J]. 植物生理学通讯, 1989(2): 7-12.

Study on *in vitro* Conservation Technique of Edible Lily

ZHANG Yu-qin¹, LI Xi-xiang², WANG Hai-ping²

(1. College of Agronomy, Inner Mongolia University for Nationalities, Tongliao, Inner Mongolia 028043; 2. Institute of Vegetables and Flowers, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081)

Abstract: In order to establish *in vitro* conservation system of edible lily. The plantlets were cultured on 6 different media and conserved at different temperature for 6 months. The results showed that the growth of the plantlets conserved on media with mannitol or ABA could be restrained at 2℃ or 5℃, and the plantlets were better after 6 months. The difference of mannitol or ABA concentration was prominent to survival, plantlets height and bulb formation. The lower mannitol concentration was not obviously, and the opposite was effected plantlet survival, 20 g/L mannitol was the best media for conserve edible lily plantlets, the survival was maintain 94.6%, and promote bulb formation. The restrain of ABA was stronger than mannitol, but plantlet survival was reduced and the disadvantage of bulb formation, the more serious the higher concentration.

Key words: edible lily; germplasm resources; *in vitro* conservation