

文章编号:1001-1498(2004)03-0346-06

西洋百合“卢浮宫”的组培技术研究

宋建英

(福建林业职业技术学院科学研究科,福建 南平 353000)

摘要:以鳞片为外植体,MS为基本培养基,以不同激素成分及不同质量浓度水平下诱导西洋百合“卢浮宫”的小鳞茎状突起,进行组培试验。结果表明:“卢浮宫”百合的诱导以取其完整的鳞片为外植体,并以鳞片背部突起处紧贴于MS+6-BA 2.0 mg L⁻¹+NAA 0.2 mg L⁻¹的培养基上诱导效果为最好。“卢浮宫”百合的诱导是由外植体(鳞片)产生小鳞茎状突起而分化成苗的,并未经愈伤组织分化产生。筛选出的最佳继代增殖培养基为MS+6-BA 0.7mg L⁻¹+IBA 0.3 mg L⁻¹,生根培养基为1/2MS+6-BA 0.3 mg L⁻¹+IBA 0.7 mg L⁻¹。移植基质选择河泥和珍珠岩(体积比7:3)混合,成活率达98%。

关键词:“卢浮宫”百合;组织培养;鳞片;激素处理

中图分类号:S682 **文献标识码:**A

百合是百合科(Liliaceae)百合属(*Lilium* L.)的多年生草本植物,靠鳞茎宿存。近年来从国外引进不少优良的观赏品种,但因百合常规繁殖方法为分植小鳞茎数量有限;用鳞片扦插,往往易于腐烂而不常用。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方面组织培养都是很有用的方法^[1~3]。作者从2000年3月起,以引种的“卢浮宫”的鳞茎为材料,进行西洋百合的组织培养技术研究,探讨其快速繁殖的方法。目前未见西洋百合“卢浮宫”组培快速繁殖研究的报道,本研究旨在为其工厂化育苗提供科学依据。

1 材料与方方法

1.1 材料来源

西洋百合“卢浮宫”(*Lilium japonicum* Thunberg ex Huttuyn cv. ‘Louvre’)是福建省南平市林委1999年从荷兰引进,福建省南平市延平区大横镇栽培的。2000年初陆续开花,且作为鲜切花投放到市场。作者2000年3月从该栽培基地选取生长健壮、直立、叶绿的单株,去除茎叶,剥离出鳞茎作为外植体,进行组培试验。

1.2 研究方法^[4~7]

1.2.1 外植体的处理 将采回的鳞茎先用自来水冲洗干净后,去除外部老鳞片,露出内部白色鳞茎时,将其剥成鳞片,用自来水继续冲洗60 min。在超净工作台上用体积分数为75%酒精浸摇30 s后,转入质量浓度为1 g L⁻¹的汞水中30 min,用无菌水冲洗5~6次。用手术刀在接

收稿日期:2003-09-29

基金项目:福建省林业厅科技推广项目[1998—2002年第一期林木种苗工程重点项目3(4)]

作者简介:宋建英(1954—)女,福建莆田人,高级讲师,博士生;主要研究方向:植物组织培养(E-mail:songnp@so-

hu.com)

种盘上将各鳞片的基部切除不用。

1.2.2 培养基 诱导培养基以 MS 为基本配方,外加适量 $0.1 \sim 0.5 \text{ mg L}^{-1}$ 6-BA 和 0.2 mg L^{-1} NAA, 30 g L^{-1} 白砂糖和 7 g L^{-1} 琼脂条。继代培养基配方以诱导培养基为基础,外加激素为 6-BA $0.1 \sim 1.0 \text{ mg L}^{-1}$ 和 NAA 0.3 mg L^{-1} 。生根培养基以 1/2MS 培养基为基础,激素的浓度进行适当的调整。

1.2.3 鳞片各处理方法及接种方式 外植体(鳞片)做不切开、切成 2 块、切成 4 块 3 种处理,6-BA 取 $0.1, 0.5, 1.0, 2.0, 5.0 \text{ mg L}^{-1}$ 5 个水平, NAA 均为 0.2 mg L^{-1} 。每种处理、每个水平接种 10 瓶,每瓶接 3 块(每块指的是:不切开的整个鳞片为 1 块,切开的则以切开的每一小块为 1 块。下同)。

外植体鳞片在培养基中放置的方式对诱导的影响试验,采用培养基为 MS + 6-BA 2.0 mg L^{-1} + NAA 0.2 mg L^{-1} ,分别以鳞片背部紧贴培养基、以鳞片基部斜插入培养基和以鳞片腹面接触培养基 3 种方式接种,并辅以鳞片不切开、切成 2 块、切成 4 块处理,每个处理接 10 瓶,每瓶 1 块。

继代培养时,6-BA 取 $0.1, 0.2, 0.3, 0.5, 0.7, 1.0 \text{ mg L}^{-1}$ 6 个水平,IBA 均采用 0.3 mg L^{-1} ,每个水平接种 10 瓶,每瓶接 5 个小鳞茎。

生根培养时,IBA 取 $0.1, 0.3, 0.7, 1.0, 2.0 \text{ mg L}^{-1}$ 5 个水平,6-BA 均采用 0.3 mg L^{-1} ,并以 IBA 为 0.7 mg L^{-1} 、6-BA 为 0 作对照。每个水平接种 10 瓶,每瓶接 5 个小鳞茎。

1.2.4 培养条件 培养温度为 25°C 恒温,日光灯照射 2500 lx ,每天 12 h 照明,培养基 pH 值 5.8。

2 结果与分析

2.1 鳞片的不同切分处理和不同 6-BA 质量浓度对诱导小鳞茎的影响

切除靠近根部的鳞片基部不用,将鳞片剩余部分横竖切开成 4 小块、纵向切开成 2 块和不切开整块使用 3 种处理,分别以鳞片背面紧贴于不同培养基上。7 d 后,原为白色的鳞片转成淡绿色。20 d 后,鳞片继续转为深绿色,此时鳞片上不产生任何愈伤组织,而是从鳞片的腹面内陷处或在边缘直接诱导产生出小鳞茎状突起。接种 30 d 后的观察统计结果表明(表 1):鳞片的不同切片处理,对诱导小鳞茎状突起是有影响的,把整块鳞片不切开处理直接作为诱导材料,最易产生小鳞茎状突起,且产生的数量为最多(图版)。在以 MS 为基本培养基,外加 6-BA $0.1 \sim 5.0 \text{ mg L}^{-1}$ 和 NAA 0.2 mg L^{-1} 的共同作用下,随 6-BA 质量浓度的增高,诱导的小

表 1 鳞片的不同处理及不同 6-BA 质量浓度对诱导小鳞茎状突起的影响

激素/(mg L^{-1})		外植体数/个			小鳞茎状突起分化数/个			平均诱导分化系数		
6-BA	NAA	不切开	对半切开	切成 4 小块	不切开	对半切开	切成 4 小块	不切开	对半切开	切成 4 小块
0.1	0.2	30	30	30	40	24	18	1.3	0.8	0.6
0.5	0.2	30	30	30	62	31	25	2.1	1.0	0.8
1.0	0.2	30	30	30	81	39	31	2.7	1.3	1.0
2.0	0.2	30	30	30	102	45	42	3.4	1.5	1.4
5.0	0.2	30	30	30	153	76	53	5.1	2.5	1.8

注:表中的外植体个数指的是:不切开的整个鳞片为 1 个,切开的则以切开的每一小块为 1 个。

小鳞茎状突起有显著增加的趋势。当 6-BA 质量浓度增加到 5.0 mg L^{-1} 时,虽然分化出的小鳞茎状突起为最多,但很细弱,最终为玻璃化的无效苗。试验观察表明,在 6-BA 质量浓度为 2.0 mg L^{-1} 时,小鳞茎分化系数较高,为 3.4,小鳞茎形态正常,且粗壮。

2.2 鳞片不同接种方式处理对诱导小鳞茎状突起的影响

将外植体分别以鳞片背部紧贴培养基、以鳞片基部斜插入培养基和以鳞片腹面接触培养基 3 种方式接种,采用 $\text{MS} + 6\text{-BA } 2.0 \text{ mg L}^{-1} + \text{NAA } 0.2 \text{ mg L}^{-1}$ 培养基,并辅以鳞片不切开、切成 2 块、切成 4 块处理。接种 30 d 后,统计数据表明(表 2):在添加 6-BA 2.0 mg L^{-1} 和 NAA 0.2 mg L^{-1} 的 MS 培养基上,不管鳞片是采用不切开、对半切开或切成 4 块处理,将鳞片背面紧贴培养基的接种方式比以鳞片基部斜插入培养基内和以腹面插入培养基效果好,其诱导小鳞茎的分化频率最高;而以腹面插入培养基的接种方式诱导,接种的百合鳞片虽会转绿,但诱导不出小鳞茎状突起,这可能与百合鳞片的不定芽生长点位于鳞片腹面,具有极性,背面无法产生小鳞茎状突起有关。

表 2 鳞片不同接种方式对诱导小鳞茎状突起的影响

鳞片接种方式	外植体处理/个			分化率/%		
	不切开	切成 2 块	切成 4 块	不切开	切成 2 块	切成 4 块
背贴培养基	10	10	10	100	80	60
斜插入培养基	10	10	10	80	60	40
腹面插入培养基	10	10	10	0	0	0

注:表中的个指的是:不切开的整个鳞片为 1 个,切开的则以切开的每一小块为 1 个。

2.3 不同质量浓度的 6-BA 对百合继代增殖的影响

当外植体诱导出的小鳞茎长到 0.5 cm 高、直径为 0.4 cm 时,用解剖刀将其与外植体分开,单个小鳞茎接种于不同质量浓度 6-BA 的培养基中,继代培养 45 d 后,调查其生长情况,表 3 表明:在 IBA 质量浓度为 0.3 mg L^{-1} 的 MS 培养基上,随 6-BA 质量浓度从 0.1 mg L^{-1} 到 1.0 mg L^{-1} 递增,小鳞茎的周边增殖分化出新的小鳞茎状突起也增多。当 6-BA 质量浓度达到 1.0 mg L^{-1} 时,虽然增殖倍数达到最

表 3 不同质量浓度的 6-BA 对小鳞茎继代增殖的影响

激素浓度/ (mg L^{-1})		接种数/个	再生小鳞茎数/个	平均增殖系数
6-BA	IBA			
0.1	0.3	50	102	2.0
0.2	0.3	50	248	4.8
0.3	0.3	50	316	6.3
0.5	0.3	50	524	10.5
0.7	0.3	50	692	13.8
1.0	0.3	50	1 203	24.1

高,但形成的鳞茎小,且玻璃化严重,明显地为无效苗;而当 6-BA 为 0.7 mg L^{-1} 时,增殖系数虽比 6-BA 为 1.0 mg L^{-1} 的小,但分化的小鳞茎形态正常且健壮。因此,作者在用 6-BA 0.7 mg L^{-1} 、IBA 0.3 mg L^{-1} 激素浓度对“卢浮宫”继代培养 45 d 后,选用生长健壮、叶色浓绿、小鳞茎直径为 0.6 cm,芽条长为 1.5 cm 的小鳞茎转入生根培养基,效果良好。

2.4 不同质量浓度激素对根形成的影响

将上述小鳞茎转入 1/2MS,辅以 6-BA 0.3 mg L^{-1} 、IBA $0.1 \sim 2.0 \text{ mg L}^{-1}$ 的生根培养基中,并以 1/2MS 不加 6-BA、辅以 IBA 0.7 mg L^{-1} 培养基作为对照。培养 45 d 后观察调查,表 4 表明:在 6-BA 质量浓度为 0.3 mg L^{-1} 的 1/2MS 培养条件下,随 IBA 质量浓度的增高,百合的根条数

增加,当 IBA 为 0.7 mg L^{-1} 时,根条数达 8.1,生根率为 100%,根相对较粗壮且短,有利于移植;而在 IBA 为 0.7 mg L^{-1} 、不加 6-BA 的培养基上,根条数相对较少,为 4.2 条,生根率为 85%,效果不如加了 6-BA 的好。当 IBA 达到 1.0 mg L^{-1} 和 2.0 mg L^{-1} 时,根条数虽多,但长得细弱且长,不利于移植。因此,本实验室采用 6-BA 0.3 mg L^{-1} 、IBA 0.7 mg L^{-1} 的 1/2 MS 培养基对“卢浮宫”进行生根培养,效果理想(图版)。

2.5 试管苗移植

当“卢浮宫”生根培养 45 d,小苗高 4.5 cm、叶色浓绿、小鳞茎直径为 0.8 cm、根系发达粗壮时进行移植。先将生根试管苗在自然条件下炼苗 5~7 d 后,洗净培养基,用质量分数为 50% 多菌灵 800 倍液进行消毒处理,移植于装有体积比为 70% 河泥、30% 珍珠岩培养料的塑料穴盘中。在移植后的 7~10 d 内应用塑料薄膜对小苗进行覆盖,以保证较高的湿度。用这种方法,移植试管苗的成活率可达 98%。

3 结论与讨论

(1)“卢浮宫”百合的诱导以取其完整的鳞片为外植体、并以鳞片背部突起紧贴于 MS + 6-BA 2.0 mg L^{-1} + NAA 0.2 mg L^{-1} 的诱导培养基上培养效果为最好。

(2)“卢浮宫”百合的诱导是由外植体(鳞片)产生小鳞茎状突起而分化成苗的,并未经脱分化产生愈伤组织再分化形成。

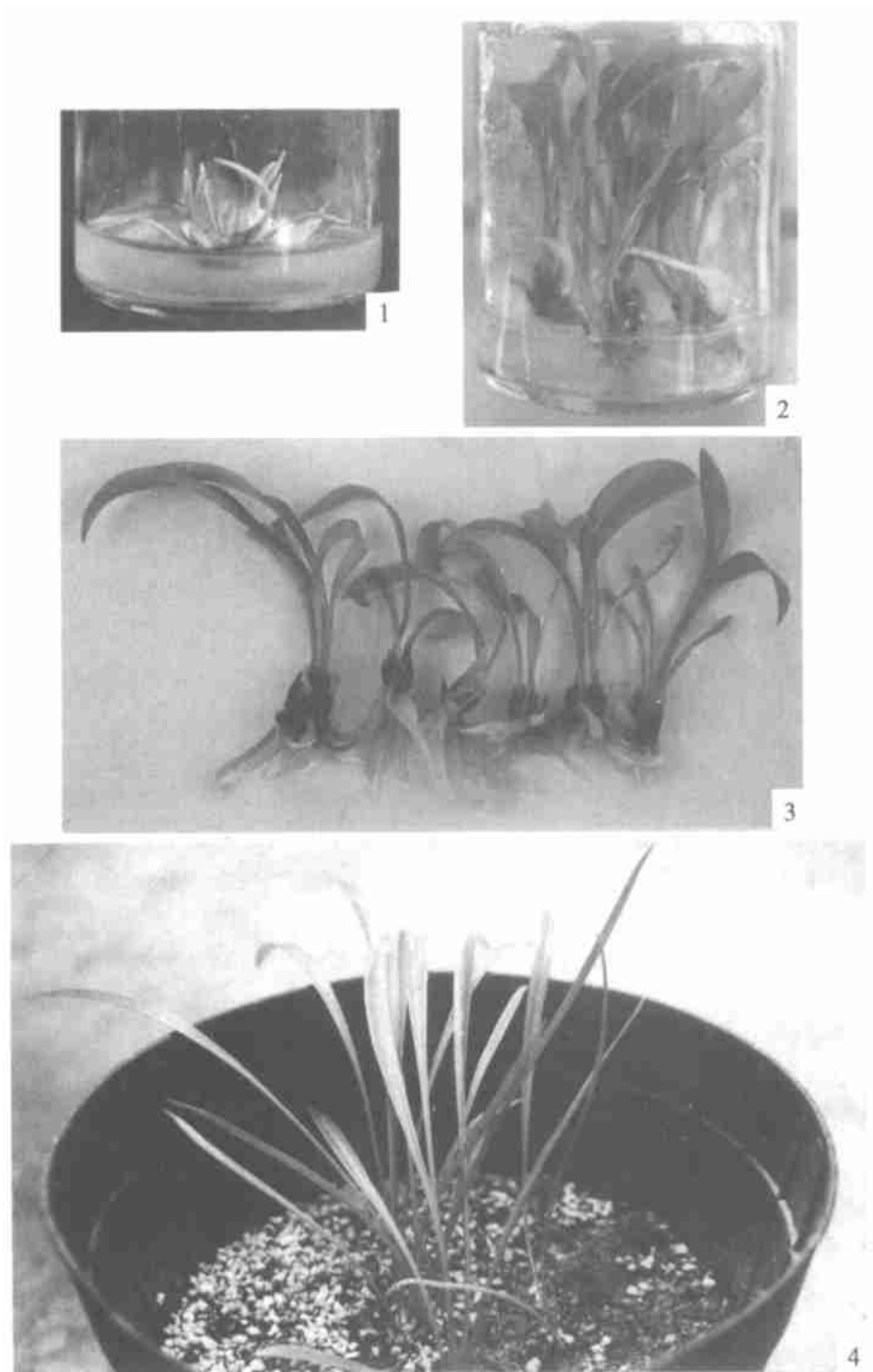
(3)“卢浮宫”百合的继代培养基为 MS + 6-BA 0.7 mg L^{-1} + IBA 0.3 mg L^{-1} ,生根培养基为 1/2MS + 6-BA 0.3 mg L^{-1} + IBA 0.7 mg L^{-1} 。

(4)“卢浮宫”的生根苗应用质量分数为 50% 多菌灵 800 倍液进行消毒处理,移植于体积比为 70% 的河泥和 30% 珍珠岩的培养料中培养,成活率可达 98%。

综合上述影响百合试管苗鳞茎增殖的各项因素,本着既要提高鳞茎增殖率,又要尽量减少投入,降低生产成本的基本原则,建议在西洋百合“卢浮宫”试管鳞茎增殖快繁工作中采取如下综合处理措施:(1)诱导小鳞茎时应采用完整的鳞片作为外植体接种,并以背部紧贴在培养基上,该法诱导系数高。虽然鳞片切块接种可以减少所需外植体的数量,但切块后,所分化出的外植体数量少,诱导系数低,且诱导所需时间长,在工厂化生产中不宜使用。(2)可用普通白糖代替蔗糖,用琼脂条代替琼脂粉。采取上述措施,不但可以保证最佳试管鳞茎增殖率,而且可以减少糖和琼脂的投入,降低生产成本,有利于提高工厂化生产的经济效益。

表4 不同质量浓度激素对百合根形成的影响

激素浓度/(mg L^{-1})		接种数/个	生根率/%	平均生根数/条
IBA	6-BA			
0.7	0.0	50	85	4.2
0.1	0.3	50	76	1.6
0.3	0.3	50	87	3.3
0.7	0.3	50	100	8.1
1.0	0.3	50	100	9.8
2.0	0.3	50	100	12.1



图版 “卢浮宫”百合的组培繁殖

1. 整块鳞片诱导产生的小鳞；
2. 生根试管苗；
3. 即收移植的生根试管苗；
4. 盆栽成活的百合组培苗(基质:70%河泥+30%珍珠岩)

参考文献:

- [1] 谭文澄,戴策刚. 观赏植物组织培养技术[M]. 北京:中国林业出版社,1991. 290~297
- [2] 黄惠英. 东方百合的离体培养[J]. 甘肃农业大学学报,2000,35(4):450~453
- [3] 罗凤霞,徐桂华,金丽丽,等. 新铁炮百合微繁的研究[J]. 沈阳农业大学学报,2000,31(3):254~257
- [4] 孙君社,方晓华. 植物激素对百合鳞片愈伤组织生长的影响[J]. 中国农业大学学报,2001,6(2):58~61
- [5] 傅玉兰,何风群. 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
- [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] 席梦利,施季森. 非洲菊的离体培养及快速繁殖[J]. 南京林业大学学报,2003,27(2):33~36

Study on Tissue Culture of *Lilium japonicum* cv. 'Louvre'

SONG Jian-ying

(Scientific Research Department, Fujian Forestry Polytechnic, Nanping 353000, Fujian, China)

Abstract: Using bulb scale as the explant and MS as the basic media, the bulbous projection of *Lilium japonicum* cv. 'Louvre' was induced and cultured with different hormones in different concentration levels. The result revealed that the best way to induce 'Louvre' was to use its whole scale, whose back was stuck on the medium that contains 2.0 mg L^{-1} of 6-BA, 0.2 mg L^{-1} of NAA and MS as the explant. The induction of 'Louvre' scale was to produce the bulbous projection which differentiated into seedlings, but not to produce it from callus induction. MS containing 0.7 mg L^{-1} of 6-BA and 0.3 mg L^{-1} of IBA was optimized as the best medium for shoot-tip culture and subculture, and 1/2MS containing 0.3 mg L^{-1} of 6-BA and 0.7 mg L^{-1} of IBA was optimized as the best medium for rooting culture. The material for transplanting was the combination of river mud and pearly rock (cubic comparison is 7:3). The survival rate of *Lilium* shoots could reach 98%.

Key words: *Lilium japonicum* cv. 'Louvre'; tissue culture; bulb scale; harmonic treatment