

东方百合试管鳞茎膨大的研究^{*}

张延龙, 梁建丽, 牛立新

(西北农林科技大学 园艺学院, 陕西 杨凌 712100)

[摘 要] 以东方百合‘Siberia’试管苗为材料, 研究了激素种类及其质量浓度、蔗糖浓度、大量元素浓度、低温处理对试管鳞茎形成和膨大的影响。结果表明, 低质量浓度NAA 有利于提高结鳞茎率; 90 g/L 蔗糖处理结鳞茎效果最好, 所结鳞茎的平均直径为 1.59 cm, 平均鲜重为 2.09 g, 但与 70 g/L 蔗糖处理差异不显著; 增加大量元素浓度可以促进鳞茎的形成和膨大, 当浓度为 2MS 时, 鳞茎直径最大达 2.06 cm, 平均直径 1.65 cm, 平均鲜重 2.68 g, 较处理前的单芽增加了 12.8 倍; 5℃ 低温处理可使试管苗 100% 结鳞茎, 处理 30 d 对结鳞茎的效果最好, 鳞茎的直径、鲜重平均分别为 1.50 cm, 2.06 g。

[关键词] 东方百合; 试管鳞茎; 组织培养

[中图分类号] S682.204⁺.3

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2006)06-0075-04

百合是世界著名的球根切花。近年来, 随着百合在国内外鲜切花市场的走俏, 百合花生产和消费逐年增加。传统的分球繁殖方法由于存在自身繁殖率低, 易感染病毒造成种球退化等问题, 已经很难满足切花生产的需要。利用组织培养技术能极大地提高繁殖系数, 具有脱毒和迅速更新品种等优点, 在百合中已有许多成功的报道^[1]。但百合试管苗生长势弱, 根叶细长柔软, 移栽过程中成活率低, 已成为我国百合种球工厂化生产中遇到的突出问题。利用试管内结鳞茎, 不但可以促进壮苗、改善试管苗质量、缩短组培苗在大田的生长周期, 提高移栽成活率, 而且有利于种球的贮藏、运输和种质保存。

试管内结鳞茎在球根类花卉的快繁中有很好的应用前景, 在唐菖蒲^[2]、小苍兰^[3]等花卉中已有报道, 在百合中也有应用, 如王爱勤等^[4]对新铁炮 1 号百合进行了研究, 并通过蔗糖 PP₃₃₃ 处理获得试管内结鳞茎的成功; 庄志鸿等^[5]利用 PP₃₃₃ 处理获得东方百合的试管内结鳞茎, 但在百合试管鳞茎诱导过程中鳞茎形成时间长、形成率低、所结鳞茎直径较小。本研究对东方百合‘Siberia’离体培养条件下影响小鳞茎形成和膨大的因素进行了较系统的研究, 旨在探索缩短鳞茎形成时间和促使鳞茎膨大的方法, 为百合种球工厂化生产提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材 料

试验材料为以东方百合‘Siberia’种球的鳞片为外植体诱导形成的丛芽体, 百合种球采自西北农林科技大学园艺场。

1.2 试管鳞茎的形成和膨大

将诱导形成的丛芽体接种于 MS+6-BA 1.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L 继代培养基上进行扩增, 丛芽增殖到所需要的数量后, 在无菌条件下将丛芽分割成单个芽, 剪去上部叶片, 接种于以下不同处理的培养基上, 在 (25±2)℃ 下连续暗培养, 45 d 后观察统计鳞茎的形成和膨大情况, 测定鳞茎的直径和鲜重。

蔗糖处理: 在继代培养基 MS+6-BA 1.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L 中, 分别添加 30 (作为对照), 50, 70, 90, 110 g/L 蔗糖。

NAA 处理: 以 MS+50 g/L 蔗糖为基本培养基, 分别添加 0.2, 0.5, 1.0, 2.0 mg/L NAA。

大量元素浓度处理: 设 1/4 MS, 1/2 MS, MS, 1.5 MS, 2 MS 5 个大量元素浓度梯度, 以标准浓度 MS 为对照, 并附加 0.2 mg/L NAA 和 50 g/L 蔗糖。

低温处理: 供试的试管苗在 5℃ 低温下分别处理 0, 10, 20, 30, 40 d, 然后接种于 MS+6-BA 1.0

* [收稿日期] 2005-11-17

[基金项目] 农业部新技术引进项目 (2005-Z39)

[作者简介] 张延龙 (1964-), 女, 陕西延安人, 副教授, 硕士生导师, 主要从事园林规划设计、园林植物育种研究。

mg/L + NAA 0.2 mg/L + 50 g/L 蔗糖培养基中。芽鲜重。

1.3 测量方法

鳞茎的鲜重: 从培养基中取出诱导的小鳞茎, 剪去叶片和根, 称鲜重。

鳞茎的直径: 用游标卡尺测量小鳞茎的直径。

初始单芽鲜重= 接种单芽后培养基及瓶的总质量- 未接种前的培养基及瓶的总质量。

鳞茎的增大倍数= 最终形成鳞茎鲜重/初始单

2 结果与分析

2.1 蔗糖质量浓度对百合试管鳞茎形成和膨大的影响

蔗糖质量浓度对百合试管鳞茎形成和膨大的影响见表 1。

表 1 蔗糖质量浓度对百合试管鳞茎形成和膨大的影响

Table 1 Effect of sucrose on the bulblet formation and swelling

蔗糖质量 浓度/ (g · L ⁻¹) Sucrose concen- tration	单芽鲜重/g Weight of bud	叶片数 No. of leaf	株高/cm Bud height	根数 No. of root	鳞茎 Bulblet			结鳞茎率/% Rate of bulblet
					直径/cm Diameter	鲜重/g Weight	增大倍数 Multiple bulblet swelling	
30(CK)	0.20	-	1.2	2.2	0.80 dC	0.39 dB	2	20
50	0.23	1.7	3.3	3.5	1.12 dB	0.96 bB	4.2	100
70	0.23	2.3	5.2	6.8	1.56 aA	2.01 aA	8.7	100
90	0.23	2.4	3.7	2.7	1.59 aA	2.09 aA	9.1	100
110	0.22	3.2	4.8	2.2	1.39 bA	1.72 aA	8.4	100

注: 不同大写字母表示差异极显著(P < 0.01), 不同小写字母表示差异显著(P < 0.05)。下表同。

Note: The capitals mean 0.01 significant level, the lower cases mean 0.05 significant level. The same below.

由表 1 可知, 蔗糖质量浓度为 30 g/L 时, 结鳞茎率只有 20%; 蔗糖质量浓度 ≥ 50 g/L 时, 结鳞茎率达 100%, 且随蔗糖质量浓度的增加, 所结鳞茎的直径、鲜重增加。当蔗糖质量浓度为 90 g/L 时, 形成的鳞茎最大, 直径最大达 1.86 cm, 平均直径为 1.59 cm, 平均鲜重为 2.09 g, 为对照直径的 1.99 倍, 鲜重的 5.36 倍, 鲜重较处理前的单芽增大了 9.1 倍, 但与 70 g/L 蔗糖处理差异不显著; 当蔗糖质量浓度 > 90 g/L 时, 鳞茎的直径和鲜重有所下降。因此从成本考虑, 在生产上以 70 g/L 蔗糖为宜。

2.2 NAA 对百合试管鳞茎形成和膨大的影响

由观察结果和表 2 可以看出, 在不同质量浓度 NAA 培养基中, 生根率均为 100%, 根数量多, 并生有许多毛细根, 但较细弱。从结鳞茎的情况看, 0.2 mg/L NAA 时, 结鳞茎率最高, 随 NAA 质量浓度的增加, 结鳞茎率逐渐降低; 在 0.5 mg/L NAA 时, 鳞茎的直径和鲜重均最大, 其增大倍数是处理前的 7.1 倍; NAA 大于 0.5 mg/L 时, 随质量浓度的增加, 鳞茎的直径和鲜重均有所下降, 说明在诱导试管鳞茎形成时, 以较低质量浓度 NAA 为宜。

表 2 不同质量浓度 NAA 对百合试管鳞茎形成和膨大的影响

Table 2 Effect of NAA on the bulblet formation and swelling

NAA/ (g · L ⁻¹)	单芽鲜重/g Weight of bud	结鳞茎率/% Rate of bulblet	鳞茎 Bulblet			生根率/% Rate of rooting
			鲜重/g Weight	直径/cm Diameter	增大倍数 Multiple of bulblet swelling	
0.2	0.16	75	0.94 bC	1.21 aA	5.6	100
0.5	0.15	62	1.08 aA	1.27 aA	7.1	100
1.0	0.18	40	1.05 aAB	1.22 aA	5.8	100
2.0	0.18	35	0.98 bBC	0.97 aA	5.4	100

2.3 大量元素浓度对百合试管鳞茎形成和膨大的影响

由表 3 可见, 大量元素浓度高于标准浓度 MS 时, 有利于鳞茎的形成和膨大, 且随着大量元素浓度的增加, 鳞茎的直径和鲜重增加, 在 2 MS 时形成的鳞茎最大, 最大直径达 2.06 cm, 平均直径为 1.65

cm, 平均鲜重为 2.68 g, 分别是对照的 1.37 和 2.85 倍, 其增大倍数是处理前的 12.8 倍。而大量元素浓度低于标准浓度 MS 时, 规律性不强, 其中 1/2 MS 的效果最差, 1/4 MS 时结鳞茎率为 97%, 但所结鳞茎的直径和鲜重均较对照差, 说明高浓度的大量元素可以促进鳞茎的形成和膨大, 低浓度的大量元素

可以促进鳞茎的形成, 但不利于鳞茎的膨大。

表 3 大量元素浓度对百合试管鳞茎形成和膨大的影响

Table 3 Effect of macroelement on the bulblet formation and swelling

大量元素浓度 Macroelement concentration	单芽鲜重/g Weight of bud	叶片数 No. of leaf	根数 No. of root	株高/cm Bud height	结鳞茎率/% Rate of bulblet	鳞茎 Bulblet		
						直径/cm Diameter	鲜重/g Weight	增大倍数 Multiple of bulblet swelling
1/4MS	0.15	1.0	6.2	3.0	97	0.91 dC	0.58 bB	3.8
1/2MS	0.11	1.6	5.9	3.7	40	0.71 eC	0.37 bB	3.4
MS(CK)	0.17	2.0	4.3	6.4	75	1.21 dB	0.94 bB	5.5
1.5MS	0.19	2.0	11.5	9.4	100	1.47 bA	2.20 aA	11.6
2MS	0.21	1.5	13.2	12.7	100	1.65 aA	2.68 aA	12.8

2.4 低温处理对百合试管鳞茎形成和膨大的影响

观察发现, 低温处理对试管苗根叶的生长有很大影响, 经过低温处理后试管苗培养 10 d 左右即开始长出新根, 长出的新根数量多、根粗壮且根毛发达, 同时有新叶抽出, 叶片宽、生长迅速, 部分植株培养 25 d 左右已达瓶口, 试管苗基部不断膨大, 形成鳞茎。由表 4 可以看出, 经低温处理的试管苗结鳞茎

率均为 100%, 叶片数和根数较未经低温处理的明显增多, 且随低温处理时间的延长, 叶片数和根数有增加趋势; 低温处理 30 d 的结鳞茎效果最好, 鳞茎的平均直径达 1.50 cm, 鲜重 2.06 g, 增大倍数为 10.3 倍。结果表明, 低温处理可以缩短鳞茎形成时间, 有利于小鳞茎的膨大。

表 4 低温处理对百合试管鳞茎形成和膨大的影响

Table 4 Effect of low temperature on bulblet formation and swelling

低温处理 时间/d Treatment time	单芽鲜重/g Weight of bud	叶片数 No. of leaf	根数 No. of root	株高/cm Bud height	结鳞茎率/% Rate of bulblet	鳞茎 Bulblet		
						直径/cm Diameter	鲜重/g Weight	增大倍数 Multiple of bulblet swelling
0	0.23	1.7	3.5	3.3	98	1.13 bB	0.96 dC	4.6
10	0.17	5.1	5.2	3.6	100	1.21 bB	1.24 cC	7.3
20	0.15	5.3	6.8	7.6	100	1.46 aA	1.63 bB	10.2
30	0.20	7.0	6.0	9.2	100	1.50 aA	2.06 aA	10.3
40	0.21	6.5	6.3	9.6	100	1.49 aA	1.99 aA	9.9

3 讨 论

百合试管内结鳞茎是百合种球工厂化生产的一个关键步骤, 影响百合试管鳞茎形成和膨大的因素是多方面的^[6-7], 如外植体来源、激素种类及其质量浓度、蔗糖浓度、大量元素浓度、光照、温度等。本研究结果表明, 通过蔗糖、NAA、大量元素浓度以及低温处理, 大大提高了百合试管结鳞茎率, 鳞茎直径增大, 形成时间缩短。其中蔗糖是百合试管内结鳞茎形成的决定性因素, 直接影响鳞茎形成和直径的大小, 当蔗糖质量浓度 ≥ 50 g/L 时才有利于鳞茎的形成和膨大, 90 g/L 蔗糖的效果最好, 暗培养 45 d 后, 试管苗 100% 结鳞茎, 且平均直径达 1.59 cm, 这与王爱勤等^[4]、黄家福等^[8]的研究结果基本一致; 0.2 mg/L NAA 时结鳞茎率最高, 说明低质量浓度的

NAA 有利于提高结鳞茎率; 高浓度的大量元素有利于试管鳞茎的形成和膨大, 随着大量元素浓度的增加, 鳞茎的直径和鲜重增加, 2MS 时结鳞茎效果最好, 结鳞茎率为 100%, 增大倍数为 12.8。这是因为试管鳞茎在不断膨大过程中需要大量养分, 而加倍的大量元素可以为鳞茎提供足够的营养物质, 从而促进鳞茎的形成和膨大。但这与阮少宁等^[9]的研究结果不尽相同, 可能是由于百合品种不同所致。

本研究还表明, 经过低温处理的试管苗培养 10 d 后即迅速长出新根, 抽出新叶, 而且根叶生长旺盛, 同时基部不断膨大, 100% 形成鳞茎。这可能是由于低温处理刺激试管苗根的生长, 使生成的根多且粗壮、根毛发达, 吸收能力增强, 从而促进了试管苗对养分的吸收, 加快了叶片和鳞茎的生长, 缩短了试管鳞茎的形成时间。

[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] 马国华,张启明 多效唑在唐菖蒲组织培养中的作用[J]. 园艺学报,1994,21(3):288-292.
- [3] 赵东雄 小苍兰脱毒苗的试管成球试验初报[J]. 上海农学院学报,1989,7(3):197-198.
- [4] 王爱勤,周歧伟,何龙飞,等 百合试管结鳞茎的研究[J]. 广西农业大学学报,1998,17(1):71-75.
- [5] 庄志鸿,刘建 试管内形成东方百合鳞茎的组织培养[J]. 植物生理学通讯,2002,38(2):149.
- [6] M-Lian,Debasis Chakrabarty, Kee-Yoeup Paek Growth of oriental hybrid 'Casablanca' bulblet using bioreactor culture[J]. Sci Hort, 2003, 97: 41-48.
- [7] Lin S, Seon J H, Paek K Y, et al Development of pilotscale process for mass production of *Lilium* bulblet *in vitro*[J]. Acta Hort, 1998, 461: 237-241.
- [8] 黄家福,陈振光 百合快速繁殖条件的优化[J]. 福建农业大学学报,1999,28(2):152-156.
- [9] 阮少宁,杨华,梁一池,等 香水百合组织培养的试验研究[J]. 福建林学院学报,2001,21(2):142-145.

Research on the growth of oriental lily bulblet in tube

ZHANG Yan-long, LIANG Jian-li, NIU Lixin

(College of Horticulture, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: The effect of the category and the concentration of hormone, the concentration of sugar and macro element, low temperature on bulblet formation and swelling were researched using plantlet of Oriental lily 'Siberia' in tube. The results showed that lower concentration of NAA can increase the bulblet formation rate. Sucrose can promote bulblet formation and swelling, and the best concentration was 90 g/L, mean diameter of the bulblet 1.59 cm, mean weight 2.09 g. Increasing the concentration of macroelement was favorable for bulblet formation and swelling. When the concentration was at 2 M S, the diameter of the biggest bulblet was 2.06 cm, mean diameter 1.65 cm, mean weight 2.68 g, the bulblet was 12.8 times bigger than the plantlet. 5 treatment can make 100% plantlet form bulblet, and 30 days of treatment was best.

Key words: oriental lily; bulblet in tube; tissue culture