

新铁炮百合花器官组织培养研究

钟海丰^{1,2}, 黄宇翔^{1,2}, 钟淮钦^{1,2}, 叶秀仙^{1,2}, 黄敏玲^{1,2}

(1. 福建省农业科学院作物研究所, 福建 福州 350013; 2. 福建省特色花卉工程技术研究中心, 福建 福州 350013)

摘要: 以新铁炮百合的花梗、花托、花瓣、花丝和花柱(去除柱头)为外植体, 进行离体培养及快速繁殖研究。结果表明, 5种花器官均能直接诱导产生不定芽, 其诱导能力大小为花托>花梗>花丝>花瓣、花柱。诱导不定芽的适宜培养基为: MS+2.0 mg·L⁻¹ 6-BA+0.2 mg·L⁻¹ NAA; 不定芽增殖的适宜培养基为MS+2.0 mg·L⁻¹ 6-BA+1.0 mg·L⁻¹ KT+0.2 mg·L⁻¹ NAA; 生根的适宜培养基为1/2MS+0.03 mg·L⁻¹ NAA; 适合新铁炮百合小鳞茎种植的基质为1/4园土+1/4泥炭土+1/2锯末。

关键词: 新铁炮百合; 花器官; 组织培养

中图分类号: S 682.2+9

文献标识码: A

Organ tissue culture of *Lilium formolongi*

ZHONG Hai-feng^{1,2}, HUANG Yu-xiang^{1,2}, ZHONG Hua-qin^{1,2}, YE Xiu-xian^{1,2}, HUANG Min-ling^{1,2}

(1. Crop Institute, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou, Fujian 350013, China;

2. Fujian Engineering Research Center for Characteristic Floriculture, Fuzhou, Fujian 350013, China)

Abstract: The floral organ culture and rapid propagation of *Lilium formolongi* was studied by using its pedicel, receptacle, petal, filament and style for explants. The results showed that (a) adventitious buds could be induced directly from all of the 5 floral organs; (b) the appropriate medium was formulated with MS+2.0 mg 6-BA·L⁻¹+0.2 mg NAA·L⁻¹; (c) the order of inducing ability of the organs was: receptacle>pedicel>filament>petal or style; (d) the optimum medium formulation for adventitious buds proliferation was: MS+2.0 mg 6-BA·L⁻¹+1.0mg KT·L⁻¹+0.2 mg NAA·L⁻¹; (e) the appropriate medium for in vitro root and bulb formations was: 1/2 MS+0.03 mg NAA·L⁻¹; and (f) the most efficient and low-cost medium for transplantation was: 1/4 (v/V) garden mould+1/4 (v/V) peat mould+1/2 (v/V) saw dust.

Key words: *Lilium formolongi*; floral organ; tissue culture

新铁炮百合(*Lilium formolongi*)是铁炮百合与高砂百合的杂交种^[1], 其花大瓣厚, 花型特别, 花朵朝天怒放, 花期较长, 特别适宜作切花, 具有较高的商品价值。种子繁殖当年即可开花, 但种子繁殖仅限于F₁代, 并且价格昂贵。改变这种局面的主要办法是繁育大量的优质种球, 利用组织培养诱导大量的商品小鳞茎是一种快速而有效的途径^[2-4]。

在新铁炮百合的组织培养中, 有利用鳞茎片和叶片作为外植体的^[5], 也有利用萌发种子, 获得F₁植株作为外植体的^[6], 很少有利用新铁炮百合的花器官作为外植体的。本试验以新铁炮百合的花梗、花托、花瓣、花丝和花柱作为外植体, 进行离体培养。

同时, 针对不同的培养阶段设置不同的培养基配方, 研究不同的培养基配方对新铁炮百合花器官不定芽诱导、增殖、生根的影响, 探索新铁炮百合快速繁育新技术, 为大量繁殖保持F₁代优良种性的植株和为新铁炮百合种球工厂化生产提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

试验于2009年3~9月在福建省农科院作物研究所花卉栽培示范基地清流县鸿翔农庄农业发展有限公司技术研发中心进行。供试材料为新铁炮百合的花蕾(包括花梗), 取自清流县鸿翔农庄农业发

收稿日期: 2010-01-02 初稿; 2010-03-29 修改稿

作者简介: 钟海丰(1982-), 男, 硕士, 研究实习员, 从事花卉栽培、组培及育种工作

通讯作者: 黄宇翔(1972-), 男, 硕士, 副研究员, 从事花卉栽培、组培技术研究开发工作(E-mail: yuxianggh2000@yahoo.com.cn)

基金项目: 福建省科技计划重点项目(2008N0071); 福建省星火科技计划项目(2009S0107); 福建省林业科技重大专项(2006NZ0001-3); 国家科技支撑计划项目(2007BAD07B03)

展有限公司花卉生产示范基地。

1.2 方法

取即将开放的新铁炮百合花蕾，先在自来水下冲洗 30 min，然后在超净工作台上用 70% 酒精消毒 20 s，无菌水冲洗 3 次，再用 0.1% 升汞消毒 5 min，最后用无菌水冲洗 6~7 次。在超净工作台上用手术刀切取花梗、花托、花瓣、花丝和花柱接种于芽诱导培养基中，其中花梗为花托以下 2~3 cm，其他外植体材料均未进行切分。

诱导基本培养基为 MS，附加不同浓度的 6-BA、KT、NAA、2, 4-D；继代增殖培养基为 MS，附加不同浓度的 6-BA、KT 和 NAA；生根培养基为 1/2MS，附加不同浓度的 NAA，蔗糖浓度 9%，暗培养。除生根培养基外，其余培养基蔗糖浓度为 3%，培养条件为先暗培养 1 周，然后每日光照 14 h，光强 1 500~2 000 lx，温度 25℃。以上配方琼脂浓度均为 0.7%，pH 5.8。每个处理均为 60 个外植体（或不定芽）材料，每瓶接种 3 个，共 20 瓶，重复 3 次。

设计两个基质配方用于新铁炮百合的移栽，即 A：1/2 园土 + 1/4 泥炭土 + 1/4 锯末；B：1/4 园土 + 1/4 泥炭土 + 1/2 锯末。常规水肥管理，保持适宜空气湿度。

1.3 数据分析

数据采用新复极差法进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 不定芽的诱导

新铁炮百合花器官诱导培养结果（表 1）显示，4 种诱导培养基均能诱导新铁炮百合不同花器官不定芽的产生，但诱导时间及诱导率存在差异。接种 1 周后，不同花器官均有一定程度的膨大。在 2 号诱导培养基中，从第 12 d 起首先发现花托基部和花梗生长出黄白色突起，逐渐发育成不定芽；随着培养时间的延长，花瓣、花丝和花柱也分化出不定芽。花丝、花瓣较薄的地方出现干枯现象，不定芽的诱导部位大部分集中在外植体基部。1 号、3 号和 4 号培养基中的花梗、花托、花瓣、花丝和花柱也分化出不定芽，但诱导速度及数量不及 2 号培养基。统计分析结果表明，5 种外植体在 2 号诱导培养基中不定芽的诱导率显著高于 1 号、3 号和 4 号培养基 ($P < 0.05$)，1 号培养基和 3 号培养基差异不显著 ($P > 0.05$)，4 号培养基的不定芽诱导率显著低于其他培养基 ($P < 0.05$)。不同外植体之间的诱导率不同，花托>花梗>花丝>花瓣、花柱 ($P < 0.05$)，花瓣和花柱的诱导率差异不显著 ($P > 0.05$)。因此 2 号培养基 $MS + 2.0 \text{ mg} \cdot L^{-1}$ 6-BA + $0.2 \text{ mg} \cdot L^{-1}$ NAA 最适于新铁炮百合花器官不定芽的诱导培养（图 1）。

表 1 不同培养基对新铁炮百合花器官不定芽诱导的影响

Table 1 Effect of culture media on induction of adventitious buds from floral organs of *L. formolongi*

培养基编号	6-BA ($\text{mg} \cdot L^{-1}$)	KT ($\text{mg} \cdot L^{-1}$)	NAA ($\text{mg} \cdot L^{-1}$)	2, 4-D ($\text{mg} \cdot L^{-1}$)	诱导率 (%)					
					花梗	花托	花瓣	花丝	花柱	平均
1	1.0	1.0	0.2		84.1	90.2	55.6	68.7	49.8	69.68 b
2	2.0		0.2		90.8	98.7	63.9	78.6	63.1	79.02 a
3	2.0			0.2	85.8	89.0	53.6	70.2	51.7	70.06 b
4	0.2		1.0		75.3	81.3	42.3	53.9	38.2	58.20 c
平均					84.00 b	89.80 a	53.85 d	67.85 c	50.70 d	

注：同一列数据后不同小写字母表示在 0.05 水平差异显著，下表同。

2.2 不定芽的增殖

将不同花器官分化出来的不定芽切块分别转入 3 种继代增殖培养基中，结果显示，1 号培养基和 2 号培养基的增殖效果显著优于 3 号培养基 ($P < 0.05$)，1 号培养基和 2 号培养基之间的增殖系数差异不显著 ($P > 0.05$)，但是 1 号培养基的试管苗长势旺盛，叶色浓绿，而 2 号培养基的试管苗则长势较弱，叶色浅绿色。因此在新铁炮百合增殖方

面，6-BA 的效果要优于 KT，但较高浓度的 6-BA 也导致植株长势弱和玻璃化的现象。试验结果表明，6-BA 与 KT 的结合使用既保证了试管苗的增殖效果，也有利于试管苗的生长。从不同花器官外植体诱导出来的不定芽的增殖效果来看，5 种花器官外植体诱导出来的不定芽的增殖系数差异不显著 ($P > 0.05$)（图 2）。因此 1 号培养基 $MS + 2.0 \text{ mg} \cdot L^{-1}$ 6-BA + $1.0 \text{ mg} \cdot L^{-1}$ KT + $0.2 \text{ mg} \cdot L^{-1}$

NAA 最适于新铁炮百合花器官不定芽的增殖培养。

2.3 生根培养

将无根新铁炮百合试管苗切分成单芽转接至 1/2MS 培养基, 附加 $0.03 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $0.10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $0.30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA, 其生根结果存在

一定差异。由表 3 可见, 随着 NAA 浓度增加, 生根时间逐步延长, 根数减少, 根变短变粗, 根毛变少, 结鳞茎率降低。试验结果表明低浓度的 NAA 有利于新铁炮百合的生根及结鳞茎。因此, 1 号培养基 $1/2\text{MS} + 0.03 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA 对新铁炮百合不定芽生根诱导效果最佳 (图 3)。

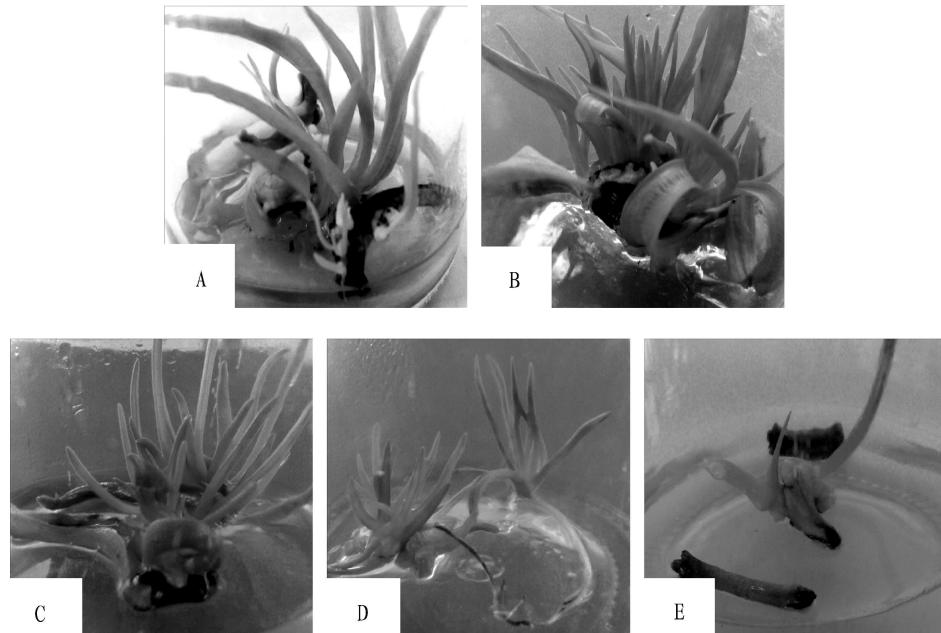


图 1 新铁炮百合不同花器官的诱导

Fig 1 Induction from various floral organs of *L. formolongi*

注: A- 花梗; B- 花托; C- 花瓣; D- 花丝; E- 花柱

表 2 不同培养基对新铁炮百合花器官不定芽的增殖的影响

Table 2 Effect of culture media on proliferation of adventitious buds from floral organs of *L. formolongi*

培养基编号	6-BA ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	KT ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	NAA ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	诱导率 (%)					
				花梗	花托	花瓣	花丝	花柱	平均
1	2.0	1.0	0.2	4.7	4.9	4.7	4.6	4.7	4.72a
2	3.0		0.2	4.8	5.0	5.0	4.8	4.8	4.88a
3		3.0	0.2	4.0	4.0	3.6	3.5	3.8	3.80b
平均				4.50a	4.63a	4.43a	4.30a	4.43a	

表 3 不同培养基对新铁炮百合花器官不定芽生根的影响

Table 3 Effect of culture media on root formation of adventitious buds from floral organs of *L. formolongi*

编号	NAA ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	生根天数 (d)	根数	根长 (cm)	结鳞茎率 (%)	根毛情况	生根率 (%)
1	0.03	17	12	6.3	100	多	100
2	0.10	23	7	4.6	97	较少	100
3	0.30	26	3	3.8	93	少	100

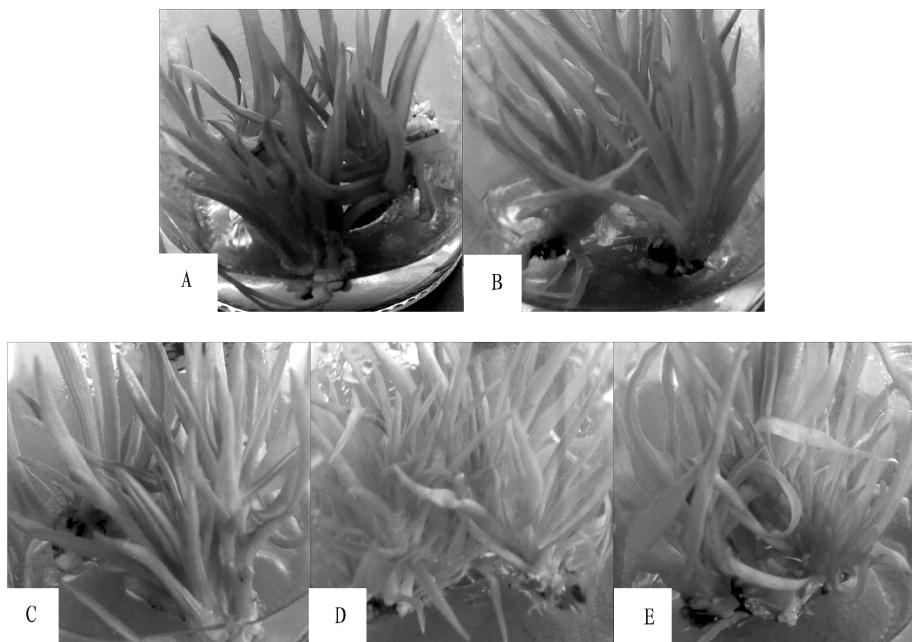


图 2 新铁炮百合不同花器官不定芽的增殖

Fig. 2 Proliferation of adventitious buds from various floral organs of *L. formolongi*

注: A- 花梗; B- 花托; C- 花瓣; D- 花丝; E- 花柱

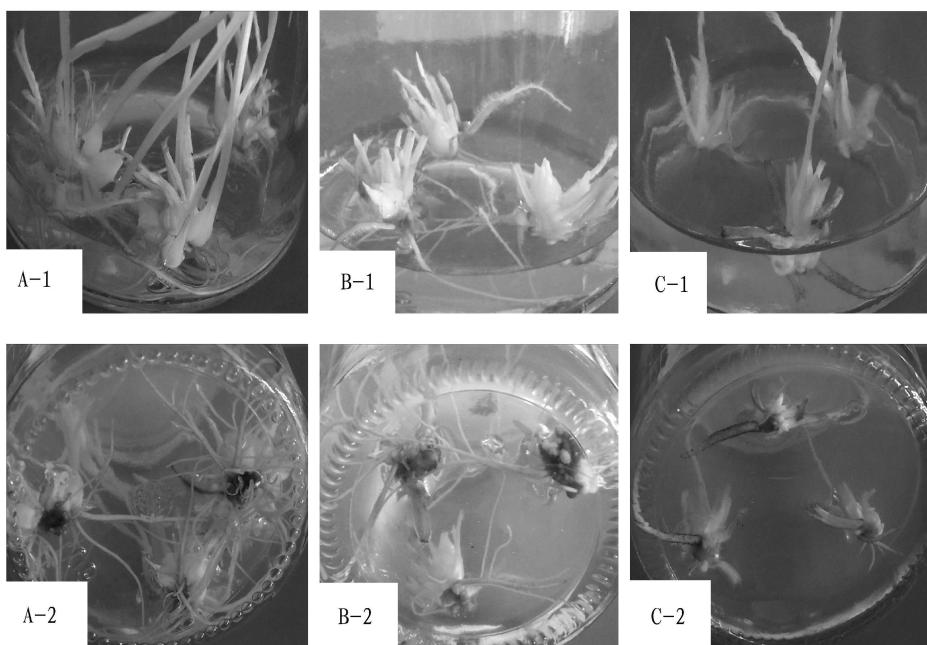


图 3 新铁炮百合不同处理的生根情况

Fig. 3 Root formation of *L. formolongi* under different treatments

注: A- 生根培养基 1; B- 生根培养基 2; C- 生根培养基 3

2.4 炼苗及移栽

新铁炮百合组培苗经过 45~60 d 的生根培养就可以转入基质 A 和基质 B 进行定植。由于经过生根培养阶段后, 新铁炮百合种苗大部分已形成小鳞茎, 洗净新铁炮百合小鳞茎根系上的琼脂, 以防

霉菌污染, 影响根系生长。试验结果表明, 两种基质均适合新铁炮百合小鳞茎的生长, 经过 15~20 d 即可抽出新芽。考虑到基质 B 的成本更低, 因此选择基质 B 作为新铁炮百合小鳞茎移栽的基质。



图4 新铁炮百合小鳞茎移栽

Fig 4 Transplantation of *L. formolongi* bulbs

3 讨 论

在植物组织培养中, 外植体的来源是影响植物快速繁殖能否成功的重要因素之一。百合的许多器官和组织都可进行组织培养诱导成苗, 常用作外植体的主要有鳞片、叶片、茎尖、珠芽、花丝、花瓣等, 其中以鳞片最常见^[3-4, 7-8]。Arzate 等^[10]以麝香百合 (*L. longiflorum*) 的花丝为外植体, 通过诱导愈伤组织再分化再生植株, 未发现遗传变异^[9]。Nhut 等^[10]用百合的花梗、花托、花瓣、花柱等外植体进行离体培养, 结果表明花托最易成活, 芽诱导率最高。

在本试验中, 新铁炮百合的花梗、花托、花瓣、花丝和花柱(去除柱头)等不同花器官分化不定芽的能力不同, 其难易次序依次为花瓣、花柱<花丝<花梗<花托, 花托的分化能力最强, 这与Nhut 等^[10]在百合花器官培养中发现花托最易成活、芽诱导率最高的研究结果相一致。研究结果还显示, 新铁炮百合的花托、花瓣、花丝和花柱等花器官不定芽的分化往往发生在外植体基部, 这与百合鳞片基部的再生诱导能力强的研究结果^[11]具有相似性。

适量的细胞分裂素可以促进较多不定芽的分化, 而生长素类物质的浓度则与不定芽长度有一定相关关系, 这与阮少宁等^[12]的结果较为一致。培养基中生长素的种类与浓度配比对百合鳞片的诱导

和增殖影响很大, 是百合组培快繁技术的核心。试验中诱导培养基的 6-BA 浓度以 $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 较适合, 6-BA 低于 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时诱导率均很低。继代培养过程中发现, 较高浓度的 6-BA ($2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 结合适宜浓度的 KT ($1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 更有利于新铁炮百合不定芽的增殖和生长, 这与王凤兰^[13]的试验结果 ($6\text{-BA } 2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 有相似之处。

新铁炮百合的生根试验结果表明, 低浓度的生长素有利于提高不定芽生根率和结鳞茎率, 增加根系数量和根毛, 增长根系长度, 有利于移栽后种球的成活率, $1/4$ 土壤 + $1/4$ 泥炭土 + $1/2$ 锯末的基质配方可宜作为新铁炮百合小鳞茎的栽培基质。

参考文献:

- [1] 丁兰, 刘国安, 田卫东, 等. 新铁炮百合组织培养和快速繁殖研究 [J]. 西北师范大学学报, 2001, 37 (1): 80- 83.
- [2] 王丽艳, 梁鲁国. 百合的离体培养及再生植株的快速繁殖 [J]. 贵州农业科学, 2003, 31 (6): 19- 21.
- [3] 张延龙, 徐炎, 王洁纯, 等. 东方百合叶片组织培养研究 [J]. 西北农林科技大学学报, 2004, 32 (1): 47- 50.
- [4] 唐东芹, 黄丹枫, 唐克轩, 等. 东方百合鳞片的组织培养 [J]. 植物生理学通讯, 2003, 39 (5): 450- 452.
- [5] 王俐, 李枝林, 赵燕, 等. 百合的组织培养及快繁技术 [J]. 云南农业大学学报, 2001, 16 (4): 304- 307.
- [6] 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.
- [7] 赵祥云, 程廉, 刑尤美, 等. 百合珠芽组培及脱毒研究 [J]. 园艺学报, 1993, 20 (3): 284- 288.
- [8] 徐品三, 栾雨时, 刘纪文, 等. 百合不定芽培养脱毒种球生产的研究 [J]. 植物学通报, 2003, 20 (3): 313- 318.
- [9] ARZATE FAM, NAKAZAKIT, OKUMOTOY, et al. Efficient callus induction and plant regeneration from filaments with anther in lily (*Lilium longiflorum* Thunb.) [J]. Plant Cell Rep, 1997, 16 (12): 836- 840.
- [10] NHUT D T. Shoot induction and plant regeneration from receptacle tissues of *Lilium longiflorum* [J]. Sci Hort, 2001, 87: 131- 138.
- [11] 谭文澄, 戴策刚. 观赏植物组织培养 [M]. 北京: 中国林业出版社, 1991: 124- 125.
- [12] 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.
- [13] 王凤兰, 周厚高, 黄子锋, 等. 亚洲百合组培快繁技术研究 [J]. 安徽农业科学, 2005, 33 (5): 820- 821.

(责任编辑: 柯文辉)