

淡黄花百合离体快繁技术研究

李 黛 (遵义师范学院生命科学院,贵州遵义 563002)

摘要 采用正交试验方法,以珠芽为外植体,在 MS 固体培养基上研究不同浓度蔗糖、6-BA、NAA 及 KT 对淡黄花百合芽增殖生长的影响。结果表明,芽增殖的最佳培养基为 MS + 1.5 mg/L 6-BA + 0.05 ~ 0.10 mg/LNAA + 0.2 mg/L KT + 20 ~ 30 g/L 蔗糖。
关键词 淡黄花百合;芽增殖;珠芽;正交试验
中图分类号 S604+.3 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2015)32-209-02

Study on *in vitro* Rapid Propagation of *Lilium sulphureum* Baker
LI Dai (School of Life Sciences, Zunyi Normal College, Zunyi, Guizhou 563002)
Abstract Using the method of orthogonal experiment, with bulbil as explant, the influence of different density of sucrose, 6-BA and NAA on the bud growth of *Lilium sulphureum* Baker in MS solid medium was studied. The result shows that the best medium of bud proliferation is MS + 1.5 mg/L 6-BA + 0.05-0.10 mg/L NAA + 0.2 mg/L KT + 30 g/L sucrose.
Key words *Lilium sulphureum* Baker; Bud proliferation; Bulbil; Orthogonal experiment

淡黄花百合(*Lilium sulphureum* Baker)为百合科百合属多年生球根花卉,是我国卫生部审批通过的首批药食两用植物^[1]。目前,淡黄花百合的繁殖一般采用分球繁殖法,该法繁殖系数低,繁殖速度较慢,每株百合一年仅能得到1~3个子球,且需要培育2~3年才能达到开花年龄,因此生产成本高。在生产中也可以采用鳞片扦插法进行繁殖,但扦插条件较难控制,若湿度小成活率较低,湿度过大又易腐烂,并且长期扦插繁殖极易导致病毒积累,严重影响百合的生长和品质^[2]。笔者曾经也进行过鳞片扦插繁殖试验,增值倍数也不高^[3]。组织培养技术则可以解决以上问题,但目前有关淡黄花百合组织培养快繁技术的研究多以鳞片为外植体^[4-9],以珠芽为外植体的研究较少,张文娥等^[10]用珠芽繁殖取得了较好的效果。笔者用正交试验的方法探讨了植物激素和蔗糖浓度对珠芽诱导形成的不定芽增殖培养的影响,旨在筛选出其不定芽增殖培养的最佳培养基。

1 材料与方法

1.1 材料 以贵州务川野生淡黄花百合的珠芽为试材。野生淡黄花百合(*Lilium sulphureum* Baker)采自贵州务川县山坡疏林地,种植于遵义师范学院生命科学院苗圃内,于2014年10月从生长健壮的淡黄花百合植株上剥取珠芽,流水冲洗30 min,于超净工作台上用75%乙醇消毒30 s后,再用0.1%的氯化汞消毒15 min,无菌水清洗5次以上,剥去外层鳞片后接种到1/2MS+0.1 mg/L IBA 培养基上培养60 d,转接到MS+1.0 mg/L 6-BA+0.1 mg/L NAA 培养基上培养至苗高2 cm左右备用。培养基pH 5.8,培养温度25℃左右,光照时间12 h/d,光强1 200 lx。

1.2 方法 采用正交试验筛选不定芽增殖的最佳培养基,研究激素和蔗糖浓度对淡黄花百合珠芽诱导形成不定芽增殖的影响。所用基本培养基均为MS培养基,正交试验采用 $L_9(3^4)$ 正交试验表,6-BA、NAA、KT、蔗糖浓度4因素3水平

试验设计见表1。

表 1 $L_9(3^4)$ 正交试验				
水平	因子			
	A(6-BA) mg/L	B(NAA) mg/L	C(KT) mg/L	D(蔗糖) g/L
1	0.5	0.05	0	20
2	1.0	0.10	0.1	30
3	1.5	0.20	0.2	40

将上述珠芽诱导形成的不定芽接种到上述9组培养基中,每瓶1株,接10瓶,重复3次,培养60 d后统计不定芽的数量和生长情况,并进行方差分析。芽增殖正交试验的培养条件与珠芽诱导不定芽的培养条件相同。

2 结果与分析

将珠芽诱导形成的不定芽接种到上述正交试验的9组培养基上,60 d后进行观察,绝大部分不定芽基部形成了大量的愈伤组织,部分不定芽产生了数量不多但较为粗壮的不定根。第1、5、7组培养基中不定芽的生长情况见图1~3。

2.1 激素浓度对芽增殖的影响 由表2可知,在试验浓度范围内,6-BA和NAA的浓度对不定芽增殖倍数的影响:随着浓度的升高增值倍数降低,即分别是0.5 mg/L > 1.0 mg/L > 1.5 mg/L和0.05 mg/L > 0.10 mg/L > 0.20 mg/L,但6-BA的影响未达显著水平,NAA的影响达到极显著水平。KT对不定芽增殖倍数的影响在试验浓度范围内则是0.2 mg/L最高,但当浓度低于0.1 mg/L后,增值倍数明显降低,影响达极显著水平。不定芽诱导率则是在6-BA和NAA浓度均较低的第1组培养基和KT浓度较高(0.2 mg/L)的第5组和第7组培养基中较高,分别是90%、90%和100%。愈伤组织诱导率除在第9组培养基和不定芽增殖倍数较高的第1、第5组培养基中稍低(分别为80%、90%和91%)外,其余均为100%。

2.2 蔗糖浓度对芽增殖的影响 由表2可知,蔗糖浓度对不定芽增殖倍数的影响:试验浓度范围内表现出一定的规律,即20 g/L > 30 g/L > 40 g/L,其影响达极显著水平;对愈

伤组织形成的影响则表现为在蔗糖浓度为 20 g/L 的第 1 组、第 5 组和第 9 组培养基中,诱导率均稍低,分别为 90%、91%



图 1 第 1 组培养基中增殖的芽



图 2 第 5 组培养基中增殖的芽



图 3 第 7 组培养基中增殖的芽

表 2 芽增殖 $L_9(3^4)$ 正交试验结果

组号	因子				不定芽 诱导率 %	不定芽 总个数	增殖 倍数	愈伤组 织诱导 率//%
	A	B	C	D				
1	1	1	1	1	90	119	3.97	90
2	1	2	2	2	40	82	2.73	100
3	1	3	3	3	60	79	2.63	100
4	2	1	2	3	90	93	3.10	100
5	2	2	3	1	90	111	3.70	91
6	2	3	1	2	60	73	2.43	100
7	3	1	3	2	100	122	4.07	100
8	3	2	1	3	50	76	2.53	100
9	3	3	2	1	50	67	2.23	80
K_1	10	23	-2	27				
K_2	7	-1	-8	7				
K_3	-5	-57	42	-22				

3 讨论

该研究表明,当培养基中未添加 KT 时,较低浓度的 6-BA(0.5 mg/L)和 NAA(0.05 mg/L)有利于不定芽的增殖(第 1 组试验),当添加 0.2 mg/L 的 KT 后,适当增加 6-BA 和 NAA 的浓度仍能获得较好的增殖倍数(第 5 组和第 7 组试验),其中第 7 组试验中 6-BA 浓度达到 1.5 mg/L 仍有较高的增殖倍数,可能是因为 6-BA 浓度对不定芽增殖的影响并未达到显著水平。而第 3 组试验虽然 KT 的浓度也达到 0.2 mg/L,但增殖系数仍不高,可能是因为 NAA 的浓度过高, NAA 浓度对不定芽增殖的影响达到极显著水平,所以 NAA 浓度的增加对不定芽增殖的影响较大,当达到 0.2 mg/L 时,对不定芽增殖的抑制作用较明显。

此外,在 6-BA 浓度为 1.5 mg/L 的第 7 组、第 8 组和第 9 组试验中,未见玻璃化现象,其余几组试验都不同程度地出

和 80%,在蔗糖浓度为 30 g/L 和 40 g/L 的培养基中则均达到 100%;但对不定芽诱导率的影响未表现出一定的规律。

现玻璃化现象,如何克服玻璃化现象有待进一步研究;除不含 KT 的第 1 组、第 6 组和第 8 组极少或没有形成不定根外,其余几组试验都或多或少形成了一定数量的不定根,说明附加 KT 后,有利于不定根的分化。

综上所述,利用淡黄花百合珠芽诱导形成的不定芽进行扩繁,在试验范围内不加 KT 时,6-BA 和 NAA 浓度分别以 0.5 mg/L 和 0.05 mg/L 为最佳,添加 KT 后,6-BA 浓度可提高至 1.5 mg/L, NAA 浓度可提高至 0.10 mg/L,考虑到玻璃化现象,以及在蔗糖浓度为 30 g/L 的第 7 组培养基中仍能获得较好的增殖倍数,笔者认为不定芽增殖的最佳培养基应为:MS+1.5 mg/L 6-BA+0.05~0.10 mg/L NAA+0.2 mg/L KT+20~30 g/L 蔗糖。

参考文献

- [1] 杨林莎,孙艳红,方晓艳. 中药百合的研究进展[J]. 河南中医药学刊, 2002,17(1):74-75.
- [2] 包满珠. 花卉学[M]. 北京:中国农业出版社,2003.
- [3] 李黛,张仁波. 野生淡黄花百合鳞片的扦插繁殖技术研究[J]. 贵州农业科学,2012,40(7):173-175.
- [4] 邱宁宏,罗林会,王勤,等. 淡黄花百合的组织培养与快速繁殖[J]. 中国野生植物资源,2004,23(2):64-65.
- [5] 杨雪清,王淑芳,杨蕊,等. 淡黄花百合丛生小鳞茎的诱导及快速繁殖[J]. 河南农业科学,2007(3):98-100.
- [6] 李黛,谈锋,祝顺琴. 淡黄花百合的组织培养[J]. 种子,2005,24(9):27-29.
- [7] 李黛,张仁波,曾燕玲. 务川几种野生百合的组织培养[J]. 种子,2011,30(9):52-55.
- [8] 周洪英,张著林,孙超. 淡黄花百合无性繁殖技术研究[J]. 种子,2007,26(11):104-105.
- [9] 邱宁宏,罗林会,王勤,等. 淡黄花百合的组织培养与快速繁殖[J]. 中国野生植物资源,2004,23(2):64-65.
- [10] 张文娥,潘学军,胥青青,等. 贵州野生淡黄花百合离体快繁研究[J]. 安徽农业科学,2008,36(14):5770-5772, 5827.