

张悦,张正海,李爱民,等. 优质观赏百合品种“索邦”愈伤组织培养研究[J]. 江苏农业科学,2015,43(8):49-51.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.08.015

优质观赏百合品种“索邦”愈伤组织培养研究

张悦,张正海,李爱民,陈晓丹,赵伟伟

(中国农业科学院特产研究所,吉林长春 130112)

摘要:以观赏百合优质品种“索邦”鳞茎为材料进行愈伤组织培养研究,并成功获得再生植株。结果表明:最佳灭菌方法为75%乙醇30 s+0.1% HgCl₂ 15 min,污染率仅为30.00%;最佳再生培养基为1/2 MS+2.0 mg/L 2,4-D,平均再生苗数为10.3;再生苗最佳生根培养基为B₅+0.10 mg/L NAA,平均生根数为22.7条。

关键词:观赏百合;索邦;愈伤培养;再生培养基;生根培养基;配方

中图分类号:S682.2⁺65.04⁺3 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2015)08-0049-02

百合是百合科(Liliaceae)百合属(*Lilium*)植物的总称,因其“数十片相累,状如白莲花,百叶合成”而得名^[1]。百合是最受欢迎鲜切花之一,在世界各地广为栽培,在世界鲜切花市场占有率有十分重要的地位。百合靠常规的小鳞茎分株方法繁殖,繁殖系数较低,有些种类可用鳞片扦插繁殖,但往往容易腐烂。百合长期靠营养繁殖,容易感染病毒病,而影响百合品质。组织培养快速繁殖技术,能够迅速去除病毒和更新品种,具有较高的经济价值和开发潜力。近年来,中国农业科学院特产研究所引进了一批优质观赏百合品种(木门、索邦、西伯利亚、小太阳、粉冠军、橙色年代等),为适应市场需求,笔者以“索邦”为试材开展了组织培养研究,取得了积极成果。

1 材料与方 法

1.1 材 料

观赏百合“索邦”引自北京绿尔农业科技开发有限公司,栽植于中国农业科学院特产研究所左家实验基地。试验时选取生长健康、无病虫害的“索邦”种球鳞片为试验材料。

1.2 试验方 法

1.2.1 外植体消毒 用流动水将鳞茎外泥土冲去后用洗衣粉溶液仔细刷洗剥分后的鳞片,洗净后再用流动水冲洗过夜。接种前用75%乙醇溶液浸洗30 s,无菌水冲洗4~5次后,再用0.1% HgCl₂溶液浸洗8、10、15、20 min或用30% 84消毒液消毒8、10、15、20 min,最后用无菌水再次冲洗鳞片4~5次。在清洗过程中需要不断震荡摇晃,以确保溶液能充分浸润并充分冲洗材料。将消毒后的百合鳞片放置于1/2 MS+0.1 mg/L 2,4-D培养基中培养观察。

1.2.2 培养条件 将消毒灭菌后的鳞片接种于1/2MS固体培养基上,设定培养温度(24±2)℃、培养湿度50%~60%、光照强度2 000 lx,在光照时长为12 h/d的条件下培养。培

养间定期用乳酸灭菌法消毒。

1.2.3 愈伤诱导培养基的选择 将鳞片切去四边,切成0.5 cm×0.5 cm的方块,在生物洁净工作台中分别接种到不添加激素的1/2 MS、MS和B₅培养基中。

1.2.4 诱导激素的选择

1.2.4.1 不同浓度2,4-D对愈伤诱导的影响 在“1.2.3”节的试验基础上,将经过处理后的百合鳞片内侧向上放置于添加不同浓度2,4-D的1/2MS培养基上。2,4-D浓度梯度为0、0.1、0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、8.0、10.0 mg/L,每瓶培养基放入1片鳞片,每组处理30瓶,观察并记录愈伤出现时间,60 d后统计诱导率。

1.2.4.2 不同浓度毒莠定对愈伤诱导的影响 在“1.2.3”节的试验基础上,将经过处理后的百合鳞片内侧向上放置于添加不同浓度毒莠定的1/2MS培养基上。毒莠定浓度为1 mg/L和2 mg/L,每瓶培养基放入3片鳞片,每组处理20瓶,并与“1.2.4.1”中最佳结果进行对比。

1.2.5 生根培养基的选择 以B₅作为基础培养基,添加不同浓度NAA(0、0.01、0.05、0.10 mg/L),每个浓度处理30瓶,40 d后观察生根情况并计算平均生根数。

2 结果与分析

2.1 “索邦”百合鳞片消毒方法的筛选

随着消毒时间的延长,百合鳞片染菌率下降,但消毒时间过长则外植体鳞片成活率降低,愈伤诱导率同时下降。试验结果表明,最佳消毒方法为75%乙醇30 s+0.1% HgCl₂ 15 min,染菌率为30.00%,诱导率高达63.33%(表1)。

表1 百合鳞片消毒方法对染菌及愈伤诱导率的影响

编号	75%乙醇	0.1% HgCl ₂	30% 84消毒液	接种数 (瓶)	染菌率 (%)	诱导率 (%)
1	30 s	8 min		30	63.33	30.00
2	30 s	10 min		30	53.33	40.00
3	30 s	15 min		30	30.00	63.33
4	30 s	20 min		30	6.67	6.67
5	30 s		8 min	30	100.00	
6	30 s		10 min	30	73.33	23.33
7	30 s		15 min	30	43.33	46.67
8	30 s		20 min	30	20.00	36.67

收稿日期:2014-07-24

基金项目:国家农业科技成果转化资金(编号:SQ2012EC3260017)。

作者简介:张悦(1983—),女,山东平度人,硕士,研究实习员,从事药用和园艺作物学研究。E-mail:745638193@qq.com。

通信作者:李爱民,硕士,研究员,从事园艺植物与果树栽培研究。

E-mail:zuojialam@163.com。

2.2 诱导培养基的筛选

在表2所示3种培养基中分别接入30个经过消毒处理的鳞片,30d后观察结果,根据愈伤诱导率和愈伤质量,确定最佳诱导培养基为1/2MS。

表2 不同培养基对愈伤诱导的影响

培养基类型	接种数(瓶)	诱导率(%)	愈伤形态
1/2MS + 0.1 mg/L 2,4-D	30	66.67	生长旺盛,颜色黄绿
MS + 0.1 mg/L 2,4-D	30	46.67	生长一般,颜色鹅黄
B ₅ + 0.1 mg/L 2,4-D	30	53.33	生长一般,颜色深绿

2.3 不同激素水平对愈伤诱导的影响

2.3.1 不同浓度2,4-D对愈伤诱导的影响 在“2.2”节研究结果基础上,以1/2MS作为基础培养基,添加不同浓度2,4-D,观察并记录愈伤出现时间和诱导数量。由表3可知,在不同浓度2,4-D影响下,愈伤组织形态明显不同。当2,4-D浓度在1.0~2.0 mg/L范围时,诱导出的愈伤生长疏松,体积大且颜色为黄绿色,诱导时间较短且诱导数目最高。

2.3.2 不同浓度毒莠定对愈伤诱导的影响 在1/2MS培养基中分别加入1,2 mg/L毒莠定,观察到毒莠定诱导愈伤组织出现时间在20d左右,与添加2.0 mg/L 2,4-D相比大概延后1周。30d后观察添加1 mg/L毒莠定诱导出的愈伤组织颜色为鹅黄色,生长状态良好,诱导率70.00%;添加2 mg/L毒莠定培养基诱导出的愈伤组织颜色为棕黄色,生长状态良好,诱导率63.33%。40d后添加1 mg/L毒莠定培养基中观

察到愈伤组织中分化出再生苗,此时分化率为6.7%。

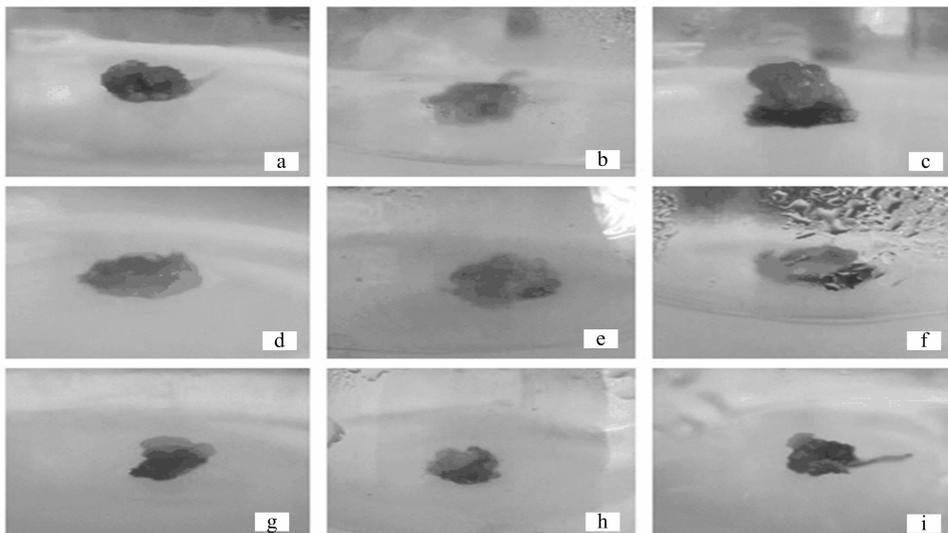
2.3.3 植株再生培养基激素浓度的筛选 结合“2.3.1”节和“2.3.2”节试验结果,计算培养基添加3种不同激素在90d后分化出的平均再生苗数(表4)。如表4所知,3组平均再生苗数目相近,无明显差异;但第3组分化出再生苗的时间远远提前于添加不同浓度毒莠定的第1,2组。诱导愈伤及再生植株见图1、图2。

表3 不同浓度2,4-D对鳞片愈伤组织诱导的影响

编号	激素浓度(mg/L)	接种数(瓶)	诱导愈伤		愈伤形态		
			数目(个)	出现时间(d)	大小	颜色	质地
1	0	30	14	13	中	绿色	致密
2	0.1	30	17	12	中	浅绿色	致密
3	0.5	30	16	10	偏大	翠绿色	致密
4	1.0	30	19	13	大	黄绿色	疏松
5	2.0	30	21	10	大	松黄色	疏松
6	3.0	30	16	14	小	红黄色	疏松
7	4.0	30	16	14	小	红黄色	疏松
8	5.0	30	17	13	小	红黄色	疏松
9	8.0	30	14	10	小	浅红色	疏松
10	10.0	30	15	16	极小	褐色	

表4 不同激素浓度对植株再生的影响

组别	植物激素	分化时间(d)	平均再生苗数
1	1/2MS + 1.0 mg/L 毒莠定	40	11.2
2	1/2MS + 2.0 mg/L 毒莠定	61	12.6
3	1/2MS + 2.0 mg/L 2,4-D	26	10.3



a—0.1 mg/L; b—0.5 mg/L; c—1.0 mg/L; d—2.0 mg/L; e—3.0 mg/L; f—4.0 mg/L; g—5.0 mg/L; h—8.0 mg/L; i—10.0 mg/L

图1 不同浓度2,4-D对鳞片愈伤组织诱导的影响



图2 愈伤组织诱导出的再生植株

2.4 不同浓度茶乙酸对再生苗生根的影响

由表5可知,在附加0.10 mg/L NAA的B₅培养基上根

表5 不同浓度茶乙酸对再生苗生根的影响

培养基	平均生根数(条)	生根情况
B ₅ + 0.00 mg/L NAA	5.1	根长 < 1 cm; 颜色暗白
B ₅ + 0.01 mg/L NAA	9.6	根长不一致,在0~2 cm间; 颜色暗白
B ₅ + 0.05 mg/L NAA	14.3	根长 > 2 cm; 颜色翠绿
B ₅ + 0.10 mg/L NAA	22.7	根长 > 2 cm; 颜色翠绿

丁宁,胡琳,周荣山.金娃娃萱草组培苗耐盐性研究[J].江苏农业科学,2015,43(8):51-52.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.08.016

金娃娃萱草组培苗耐盐性研究

丁宁¹,胡琳¹,周荣山²

(1.南通农业职业技术学院,江苏南通 226000;2.如皋金阳现代农业生态园,江苏如皋 226000)

摘要:以金娃娃萱草茎段诱导出的愈伤组织和丛生苗为外植体,在不同 NaCl 浓度的培养基上进行增殖和生根培养,观察盐胁迫对其影响。结果表明:不同盐浓度对外植体根系生长发育的影响大于对地上部分的影响;外植体在盐胁迫下多代转接后,耐盐性均得到提高,这说明盐胁迫下的多代转接是一条获得优良耐盐突变体的有效途径。

关键词:金娃娃萱草;组培苗;耐盐性

中图分类号:S682.1*90.4*3 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2015)08-0051-02

金娃娃萱草(*Hemerocallis fulva* 'Golden Doll')系百合科萱草属多年生草本宿生花卉,是萱草人工栽培的园艺品种,其花期长、花径大、适应性强,在城市绿化中应用广泛^[1]。而城市绿化特别是在沿海城市,土壤盐渍化是绿化中遇到的严重问题,耐盐植物是解决这一问题的关键,而金娃娃萱草作为适应性强的地被植物,其耐盐性研究具有重大的意义,是解决盐渍化土壤绿化的有效途径之一。采用常规育种方法培育耐盐植物,在短期内不易获得成效。近年来植物组织快繁技术的发展为培育耐盐植物提供了一个新的途径^[2-3],特别是把愈伤组织转在加有高浓度盐分的培养基上培养,有可能筛选出耐盐的细胞系^[4-5]。因此,研究金娃娃萱草对环境胁迫的响应通过组培快繁技术则更为精细、更具可控性。本研究以金娃娃萱草为试验材料,研究了盐胁迫对其组培快繁效果的影响。

1 材料与与方法

1.1 外植体来源

收稿日期 2014-08-14

基金项目:江苏省挂县强农富民工程(编号:HL2013035);南通沿海地域盐土绿化问题研究。

作者简介:丁宁(1981—),女,江苏如皋人,硕士,讲师,主要从事园林设计、观赏植物引种及组培方面的研究。E-mail:weichen822@vip.sina.com。

系诱导率最高,平均生根 22.7 条;在 0.00~0.10 mg/L NAA 范围内,随浓度增加根系诱导率升高,根长且粗壮。

3 结论与讨论

本研究利用索邦百合的鳞茎为外植体诱导愈伤,确定了索邦百合鳞茎诱导愈伤培养基为 1/2MS + 0.1 mg/L 2,4-D,诱导率为 66.67%;最佳消毒方法为 75% 乙醇 30 s + 0.1% HgCl₂ 15 min,污染率仅为 30.00%;最佳再生培养基为 1/2MS + 2.0 mg/L 2,4-D,平均再生苗数为 10.3 株且分化时间短;再生苗最佳生根培养基为 B₅ + 0.10 mg/L NAA,平均生根数为 22.7 条,颜色翠绿,根长均匀,大于 2 cm。

东方百合“索邦”是百合科百合属多年生球根类花卉,花

本试验采用金娃娃萱草的茎段为外植体诱导愈伤组织,再分化出丛生苗,进而诱导生根,驯化移栽。盐胁迫主要以愈伤组织和分化出的丛生苗为试验材料,研究盐胁迫对金娃娃萱草的分化增殖和生根阶段的影响。

1.2 试验方法

1.2.1 不同盐浓度对金娃娃萱草增殖培养的影响 将愈伤组织接种到分化增殖培养基,增殖扩繁培养 30 d(初代培养)后,转接至同样培养基上,增殖扩繁 3 代(继代培养)后分别统计成活率和增殖系数,测量苗高。

1.2.2 不同盐浓度对金娃娃萱草生根培养的影响 将 30 mmol/L NaCl 胁迫下金娃娃萱草愈伤组织分化出的丛生苗接种至生根培养基,生根培养 30 d 后,统计成活率、生根率、生根数量,测量苗高等生长量指标。成活率、生根率、增殖系数分别按下面的公式计算:

成活率 = 成活外植体个数/接种外植体个数 × 100%;

生根率 = 生根外植体个数/接种外植体个数 × 100%;

增殖系数 = 新增丛生苗(高度 > 0.5 cm)数/所接种外植体个数 × 100%。

经过多次试验对比,金娃娃萱草的组织培养已得出各阶段最佳培养基配方,分别为分化增殖培养基:MS + 1.5 mg/L 6-BA + 0.2 mg/L IBA;生根培养基:1/2MS + 0.5 mg/L IBA, 2.5% 蔗糖,6 g/L 琼脂,pH 值为 5.8^[6]。在培养基中加入 NaCl,浓度设 3 种处理:30、60、90 mmol/L,并设 1 组对照

大而美,粉色艳丽,叶片长椭圆形,墨绿互生。索邦百合是目前市场畅销品种,深受消费者欢迎,繁殖主要靠鳞茎分株进行^[2],繁殖量小且易造成种性退化。目前索邦百合的快繁研究一直侧重于外植体诱导丛生芽建立再生体系,而对诱导愈伤组织分化再生植株的研究未见报道。本研究成果为建立索邦百合和其他优质观赏百合品种快繁技术体系提供技术支持和参考。

参考文献:

- [1]梁云,冯慧颖,徐雷锋,等.“百合”植物名称及原植物考证[J].北京林业大学学报:社会科学版,2013,12(2):69-72.
- [2]李卫锋,王丹,黄海涛.荷兰百合新品种索邦的快繁技术研究[J].北方园艺,2007(9):191-192.