

兰州百合组培小鳞茎诱导技术研究

裴怀弟¹, 林玉红¹, 李淑洁¹, 厚毅清¹, 叶春雷¹, 张海林²

(1. 甘肃省农业科学院生物技术研究所, 甘肃 兰州 730070; 2. 榆中县农业技术推广中心, 甘肃 榆中 730100)

摘要: 采用组织培养方法对兰州百合鳞片不同部位芽诱导和试管小鳞茎生根膨大进行研究。结果表明, 兰州百合最佳外植体为鳞片下部, 其次为鳞片中部, 鳞片上部不适于作外植体材料。组培小鳞茎一次膨大和二次膨大分别处理 60、90、120 d 的鲜重和横径均随着处理时间的增加而增大, 且二次膨大比一次膨大效果显著。

关键词: 兰州百合; 组织培养; 诱导; 小鳞茎

中图分类号: S644.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1463(2019)07-0029-04

doi: 10.3969/j.issn.1001-1463.2019.07.007

Induction Technique of Small Bulbs in Tissue Culture of Lanzhou Lily

PEI Huaidi¹, LIN Yuhong¹, LI Shujie¹, HOU Yiqing¹, YE Chunlei¹, ZHANG Hailin²

(1. Institute of Biotechnology, Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou Gansu 730070, China; 2. Yuzhong Agricultural Technology Extension Center, Yuzhong Gansu 730100, China)

Abstract: The method of tissue culture was used to study the bud induction and the rooting and enlargement of small tube bulbs in different parts of *Lilium davidiivar.* The results showed that the best explant of Lanzhou lily is the lower part, followed by the middle part and the upper part is not suitable for explant material. The fresh weight and transversal diameter of the small bulb in tissue culture increased with the increase of the treatment time at 60 d, 90 d and 120 d, respectively. Moreover, the effect of secondary expansion is more significant than that of the primary expansion.

Key words: Lanzhou lily; Tissue culture; Induction; Small bulb

兰州百合 (*Lilium davidiivar. unicolor*) 是百合科 (*Liliaceae*) 百合属 (*Lilium*) 川百合的

收稿日期: 2019-06-10

基金项目: 甘肃省农业科学院中青年基金项目(2017GAAS94); 甘肃省农业科学院科技支撑计划(2017GAAS36); 甘肃省农业科学院中青年基金项目(2017GAAS92); 兰州市人才创新创业项目(2018-RC-130)。

作者简介: 裴怀弟(1979—), 女, 甘肃天水人, 助理研究员, 主要从事生物技术应用及抗旱生理研究工作。Email: phdfeixiang@163.com。

通信作者: 林玉红(1964—), 女, 山东文登人, 研究员, 主要从事作物栽培生理研究工作。Email: 497969681@qq.com。

[6] 成夏岚, 陈红锋, 陈慧桃. 湛江城区行道树的结构特征研究[J]. 风景园林植物, 2017(3): 67-70.

[7] 李博. 生态学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2002.

[8] 高鹏程. 天水市园林树木及其应用研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2013.

[9] 李随文, 宁妍妍. 天水市园林植物应用现状及对策[J]. 中国林副特产, 2011(1): 93-95.

(本文责编: 杨杰)

变种,为多年生鳞茎草本植物,其鳞茎具有营养和滋阴养肺等双重功效,是甘肃省名特优农产品^[1-2],也是二阴山旱区农民的支柱产业。长期以来,兰州百合主要以无性繁殖为主,这种繁殖方式导致兰州百合病毒病日趋严重,种性退化,生长周期长,品质和产量下降等问题出现。茎生小鳞茎繁殖获得的种球质量好,但繁殖系数低,组织培养解决了繁殖系数低的问题,操作方便、且繁殖系数高,是目前种球商品化生产过程中必不可少关键环节。利用组织培养技术,可以在短时间内大批量培育出所需要的植物新个体,还可以防止植物病毒的危害,极大的提高了农业生产效率。尤其是通过组织培养手段获得脱毒的原始材料以后,对进行优质百合种球的培育、生产具有重要的意义。

百合鳞茎是地下茎及其腋芽肥大而形成的变态器官^[3],具有繁殖和营养双重作用,其形成与膨大发育是个复杂的生理过程^[4]。国外近年来对百合小鳞茎发生、发育的离体培养条件进行了系统研究,但关于试管结鳞茎的报道不多^[5-6]。在通常培养过程中,试管结鳞茎时间较长,结鳞茎直径较小,制约了组培快速繁殖率,因此有必要寻找能缩短结鳞茎形成时间和使鳞茎增粗的方法^[7]。我国百合种球生产尚处于攻关阶段,要实现百合种球国产化,必须要解决小鳞茎生理状态无法控制、鳞茎发育周期长等问题^[8]。我们以兰州食用百合为材料,采用组织培养技术,提高百合试管苗的繁殖率,明确兰州百合组培外植体最佳取材部位,探讨组培小鳞茎生根膨大规律。以期促进百合优质母籽繁育技术的研究与应用,为兰州百合种球产业化发展提供技术支撑。

1 材料与方法

1.1 供试材料

试验选用外形饱满、颜色洁白、健壮无

病虫害的3生兰州百合鳞茎。所用试剂均为化学分析纯药品。

1.2 试验方法

将兰州百合的外层鳞片剥去,选取中内层鳞片备用。用来水冲洗干净,做标记,用滤纸吸干水分后在3~5℃低温条件下预处理5~7d备用。用于组培苗芽诱导、生根膨大的外植体在流水下冲洗6~8h,然后在超净工作台上用无菌水冲洗3~5遍,用70%乙醇消毒30~40s,投入0.1%升汞溶液中消毒8~10min,再用无菌水冲洗5~6次,置于垫有滤纸的培养皿中晾干水分,然后用解剖刀分上部、中部、下部三部分,切成0.5cm×0.5cm左右的外植体,接种于芽诱导培养基中培养。

外植体培养30~35d后将诱导出的不定芽切下接种至增殖培养基中扩繁,然后将丛生苗分单株切下接种到生根膨大培养基中培养。接种60瓶(其中30瓶进行一次膨大测定用,其余30瓶1次膨大90d后进行二次膨大处理),每瓶接种5~6个外植体,定期(30、60、90d)采集样品(小鳞茎),测量小鳞茎鲜重和横径。小鳞茎鲜重采用称重法测定,小鳞茎横径用SF2000电子数显游标卡尺测量。

1.3 培养条件

基础培养基为含有3%蔗糖和5%琼脂的MS培养基,附加各种激素,pH为5.8~6.0。在2000~3000Lx连续光照、温度(25±1)℃下培养,光照时间14h/d。

1.4 数据处理

单因素试验数据分析采用Microsoft Excel 2003、SPASS7.0软件处理。

2 结果与分析

2.1 兰州百合不同部位芽点诱导及成苗比较

通过前期试验筛选出了适合于兰州百合受体材料芽诱导的高效培养基,同时明确兰

州百合外植体在培养基中的放置方式以凹面朝上最佳。从表1可以看出,以鳞片不同部位作为外植体,其小鳞茎的发生情况不同。外植体不同取材部位诱导芽点能力由强到弱依次为鳞片中部、鳞片上部、鳞片下部,而成苗数由大到小依次为鳞片下部、鳞片中部、鳞片上部。可以看出,鳞片中部诱导芽点数能力高于鳞片下部和上部,但获得组培苗最多的是鳞片下部,鳞片上部无效芽点较多,成苗很少。由此可以认为兰州百合组培最佳外植体为鳞片下部,其次为鳞片中部,鳞片上部不适于用作外植体材料。

2.2 不同膨大处理对兰州百合试管小鳞茎鲜重的影响

将兰州百合鳞片诱导长出的不定芽接种在生根膨大培养基上进行生根膨大。从表2可以看出,一次膨大处理下小鳞茎单株重量

随着膨大时间的延长呈增加趋势,且膨大处理90 d和120 d小鳞茎平均鲜重与膨大处理60 d的小鳞茎平均鲜重相比差异显著($P < 0.05$)。二次膨大处理下,小鳞茎单株平均重量增加明显,与一次膨大相比,在60、90、120 d的相同处理时间下二次膨大小鳞茎单株平均鲜重分别增加了100%、53.1%、80.2%,其中二次膨大120 d时,小鳞茎单株鲜重最大值为0.529 g,膨大效果显著。

2.3 不同膨大处理对兰州百合试管小鳞茎横径的影响

从表3可以看出,一次膨大和二次膨大试管小鳞茎横径随着处理时间的延长呈增加趋势。小鳞茎横径最大值与最小值之间差值较大,这主要是因为存在生长差异。兰州百合二次膨大处理与一次膨大处理相比,小鳞茎平均横径分别增加了13.2%、13.4%、

表1 兰州百合的不同部位芽点诱导及成苗

鳞片部位	接种数量/个	平均芽点数/个	平均成苗数/个	形态描述
下部	48	15.25±4.63 b	7.90±2.94 a	鳞片凹面形成芽点较早,且芽点明显,无白色圆形凸起状,芽点部位形成小鳞茎明显。
中部	46	27.22±3.02 a	7.30±2.19 a	鳞片凹面形成数个白色凸起物,陆续在白色凸起物上长出芽点,成苗较早,叶片抽出较长。
上部	43	26.22±2.22 a	2.10±0.83 b	鳞片凹、凸面与培养基接触部位形成数个白色凸起状圆点,为无效芽点,成苗少且叶片短。

表2 不同膨大处理兰州百合试管小鳞茎的鲜重

处理方式	测定时间/d	接种数量/个	最大值/(g/粒)	最小值/(g/粒)	平均值/(g/粒)	标准差	标准误差
一次膨大	60	40	0.205	0.135	0.191 b	0.046 5	0.026 9
	90	46	0.285	0.248	0.275 a	0.015 9	0.009 2
	120	60	0.342	0.263	0.292 a	0.043 5	0.025 1
二次膨大	60	69	0.404	0.217	0.382 b	0.020 8	0.012 0
	90	77	0.490	0.286	0.421 ab	0.045 3	0.026 2
	120	46	0.529	0.421	0.474 a	0.028 4	0.016 4

表 3 不同膨大处理兰州百合试管小鳞茎的横径

处理方式	测定时间 /d	接种数量 /个	最大值 /(cm/粒)	最小值 /(cm/粒)	平均值 /(cm/粒)	标准差	标准误差
一次膨大	60	40	0.885	0.469	0.725 a	0.049 5	0.028 6
	90	46	1.081	0.477	0.793 a	0.053 2	0.030 7
	120	60	1.141	0.509	0.795 a	0.008 5	0.049 1
二次膨大	60	69	1.170	0.573	0.821 b	0.045 6	0.026 3
	90	77	1.211	0.697	0.899 a	0.069 4	0.040 4
	120	46	1.328	0.715	0.917 a	0.006 4	0.037 1

15.3%。当二次膨大处理 120 d 时，小鳞茎横径最大值为 1.328 cm，与一次膨大 120 d 时小鳞茎横径最大值相比增加了 50%，说明随着处理时间的增加，试管小鳞茎膨大趋势明显。

3 小结与讨论

研究表明，百合鳞片不同部位作外植体，其小鳞茎的发生情况不相同，外植体不同取材部位诱导芽点能力由强到弱依次为鳞片中部、鳞片上部、鳞片下部；成苗能力由强到弱依次为鳞片下部，鳞片中部、鳞片上部。对兰州百合组培苗进行生根膨大，表明一次膨大和二次膨大分别处理 60、90、120 d 的小鳞茎鲜重和横径均随着处理时间的增加而增大，且试管小鳞茎二次膨大比一次膨大效果显著。

随着科学技术的发展，用先进的组织培养来进行植物脱毒苗繁殖已经成为一种行之有效的办法。利用组织培养技术，可以在短时间内大批量的培育出所需要的植物新个体，还可以防止植物病毒的危害，极大的提高了农业生产效率。针对百合的组织培养方法国内外学者们做了大量的研究，繁殖的效果也较好，解决了繁殖系数低的问题。以百合鳞片作为外植体的研究比较多，但不同部位的鳞片对分化有差异，鳞茎产生芽的能力为下部最强、中部次之、上部最弱^[9]，这与

本文结果一致。

参考文献：

- [1] 白贺兰, 乔德华. 兰州百合产业发展现状及优化升级对策[J]. 甘肃农业科技, 2017(12): 79-82.
- [2] 江 晶, 杨一斐, 张朝巍, 等. 兰州百合优势种植区分布与土壤养分分析[J]. 甘肃农业科技, 2018(7): 45-47.
- [3] 丁伟国, 王常荣. 百合鳞茎的形成及成熟阶段体内干物质的变化[J]. 内蒙古农业科技, 2005(7): 213-219.
- [4] 孙红梅, 汪可心, 王春夏, 等. 百合鳞茎发育过程中可溶性糖含量的变化[J]. 河北农业大学学报, 2008(31): 61-65.
- [5] 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(3): 197-198.
- [6] 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(3): 288-292.
- [7] 王爱勤, 周岐伟, 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): 71-75.
- [8] 孙红梅, 贾子坤, 陆 阳, 等. 百合鳞片扦插繁育的研究进展[J]. 北方园艺, 2009(2): 141-146.
- [9] 王 刚, 杜 捷, 李桂英, 等. 兰州百合和野百合组织培养及快速繁育研究[J]. 西北师范大学学报(自然科学版), 2002(1): 69-71.

(本文责编: 陈 伟)