

【生物技术】

6-BA 对麝香百合组培继代苗的影响

林贵美, 李小泉, 李朝生, 韦华芳, 邹瑜, 陈霞, 张进忠

(广西植物组培苗有限公司, 南宁 530007; 广西农业科学院, 南宁 530007)

摘要:在保种培养基基础上, 改变植物激素 6-BA 浓度配制不同的培养基, 对麝香百合继代苗进行继代培养; 通过对继代苗生长情况的统计学分析, 显示了高浓度 6-BA 对小鳞片分化、对小鳞茎外围次生小鳞片的形成都有抑制作用, 特别是对小鳞茎植株的生长高度有严重抑制作用。

关键词:麝香百合; 6-苄基腺嘌呤; 组培苗

中图分类号:S482.8 **文献标识码:**A **文章编号:**1008-0864(2007)02-0066-03

Effects of 6-BA on growth in tissue culture seedlings of *Lilium longiflorum*

LIN Gui-mei, LI Xiao-quan, LI Chao-sheng, WEI Hua-fang,

ZOU Yu, CHEN Xia, ZHANG Jin-zhong

(Guangxi Plant Tissue Culture Co., Nanning 530007, China; Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning 530007, China)

Abstract: This paper studied the effects of different levels of 6-BA on the growth of tissue culture seedlings of *Lilium longiflorum*. By the statistic analyses, the results shows that the high level of 6-BA restrained the development of bulb scale segments of *Lilium longiflorum*, especially, the height of plant of bulb.

Key words: *Lilium longiflorum*, 6-Benzylaminopurine, Tissue culture seedlings

麝香百合 (*Lilium longiflorum*) 为百合科百合属植物, 属多年生鳞茎类球根花卉; 叶散生, 披针形, 花单生或 2~3 朵, 喇叭形, 极香, 含有芳香油, 可作香料; 常用于盆栽和庭院栽培供观赏。自 Robb 首次报道百合的组织培养后^[1], 国内已有不少学者对百合组培进行研究, 其外植体的选择也多样化, 在对百合叶片诱导与分化的研究中, 据报道, 一定浓度范围内 6-BA 有利于百合叶片直接形成小鳞茎状突起, 进一步形成不定芽^[2-4]。以麝香百合茎段水培法形成的珠芽为外植体, 添加 6-BA 的初始培养基能诱导出丛生芽^[5]。以百合鳞片作为外植体, 添加 1.0 mg/L 的 6-BA 启动培养基能有效地诱导鳞茎芽的形成^[6]。虞泓^[7]在研究大百合的离体快繁和鳞茎诱导也有类似的结果, 但在其增殖继代培养基中附加的 6-BA 激素浓度减小, 在两种外植体法高频再生麝香百合系统中^[8], 当启动培养基 6-BA 浓度达到 1.8 mg/L 时, 鳞片诱导分化芽开始

受到抑制, 随浓度增加, 诱导率急剧下降。本试验应用添加 6-BA 的培养基对麝香百合保种继代苗进行生长培养, 旨在探讨经过启动培养基培养出来的麝香百合是否由于外源激素的积累而使之在其继代培养中不必再增添外源激素, 此也为寻找工厂化育苗节约成本的有效方法, 同时, 也为减少麝香百合外源激素积累, 为其走入国际市场奠定科学依据。

1 材料与方法

供试材料: 麝香百合来自广西植物组培苗有限公司保种培养组培苗。

在原有保种培养基成分上改变 6-BA 的浓度, 配制成培养麝香百合继代苗的不同培养基; 原培养基为 MS₁; MS + 6-BA 0.3 mg/L (单位下同) + 白糖 30 g/L + 琼脂 4 g/L, 小鳞茎和小鳞片分化培养

收稿日期: 2007-01-18; 修回日期: 2007-02-25。

作者简介: 林贵美 (1953—), 男, 副研究员; 从事植物组织培养研究。E-mail: jzhang@scbg.ac.cn

通讯作者: 张进忠, E-mail: jzhang@scbg.ac.cn

基定为:(1) CK:MS₁, (2) MS₁ + 6 - BA 0.5, (3) MS₁ + 6 - BA 1.0, (4) MS₁ + 6 - BA 2.0;以上培养基各加白糖 30 g/L、琼脂 4g/L;pH 值 5.8,121℃高温灭菌 20 min;培养温度为(25~27)℃,光照强度 30~40 μmolm⁻²s⁻¹,光照时间 12 h/d。

在无菌条件下,将继代苗小鳞茎上的小鳞片分下来,直接接种到(1)~(4)号培养基,共设 4 个处理,重复 2 次;中心芽也直接接种到(1)~(4)号培养基,每处理 2 个重复。

应用 SPSS 统计软件对小鳞片形成的小鳞茎块数、诱导系数、中心芽节间伸长的长度、中心芽外围形成的次生小鳞片数等进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 观察结果

培养 10 d 后观察,小鳞片保持活性,基部以上无明显形状变化,其基部出现大小不等的白色小突起,未见生根现象。中心芽抽出新芽生长,节间明显伸长、变绿,未见生根。

培养 30 d 后观察,小鳞片仍然保持活性,与接种时无明显形状变化,基部生长的小突起(次生小鳞茎)明显增大,有的次生小鳞茎生长出嫩芽(最长为 3 cm);不同培养基中已长出嫩芽的次生小鳞茎数排列顺序为:(1) > (2) > (3) > (4)号培养基。中心芽抽出的新芽生长为叶片,明显变长、变绿,未见生根,不形成次生小鳞茎;中心芽发育生长的植株其粗壮度和高度随培养基的变化明显不同,其大小顺序为(1) > (2) > (3) > (4)号培养基;形成的次生小鳞片数以(1)号培养基生长最多,其他培养基生长的无明显差别。

2.2 不同培养基生长的小鳞片分化影响

表 1 为培养 30 d 后小鳞片生长情况的观察结果。从表 1 中可看出,小鳞片分化率随培养基 6-BA 浓度增加而逐渐降低。以 SPSS 统计软件工具进行显著性检验,结果显示,培养基间方差为 35.792,培养基内方差为 4.652, $F = 7.739$, $F > F_{0.01} = 5.29$,说明不同培养基对小鳞片的次生小鳞茎分化率差异是极显著的。

采用最小显著极差法(LSR法)中的新复极差检验(SSR)进行不同 6-BA 浓度培养基对小鳞片分化影响的差异显著性分析。

表 1 小鳞片在不同培养基中分化情况

Table 1 Effects of different culture mediums on induction of shoots from bulb scales

培养基 Culture medium	次生小鳞茎数 Secondary bulb(个)	分化率 Proliferation rate(%)	平均分化率 Average of proliferation rate(%)
T1	24	4.8	4.6aA
	22	4.4	
T2	21	4.2	3.7bB
	16	3.2	
T3	17	3.4	3.2cBC
	15	3.0	
T4	14	2.8	2.6dC
	12	2.4	

注:T1~T4 代表(1)~(4)号培养基;小写、大写字母分别代表在 $P = 0.05$ 、 $P = 0.01$ 的差异显著性和差异极显著性。

Note:T1 to T4 represents NO 1 to NO 4 culture medium. Lowercase and capital letter represent differences and significant differences at $P = 0.05$ and $P = 0.01$ by SSR multiple range test respectively.

表 1 显示了在 $\alpha = 0.05$ 水平,4 种不同 6-BA 浓度的培养基培养效果差异是显著的,在 $\alpha = 0.01$ 水平,未添加 6-BA 的培养基与其他添加 6-BA 的 3 种培养基差异达到极显著, T_2 与 T_4 也达到极显著水平, T_2 与 T_3 、 T_3 与 T_4 无显著差异。

2.3 不同培养基培养的小鳞茎生长影响

表 2 显示了麝香百合组培苗生长高度随培养基 6-BA 浓度的增加而逐渐下降,特别是 T_1 培养的组培苗,其高度将近是最高浓度 6-BA 培养基(T_4)生长的 2 倍;次生小鳞片以 T_1 最多,其他 3 种差异不明显;对小鳞茎生长高度统计分析, $F = 32.036 > F_{0.01}$,说明不同 6-BA 含量的培养基培养的小鳞茎生长高度差异达到极显著水平。图 1 展示了不同培养基培养的麝香百合,从左至右依次为 $T_1 \sim T_4$ 培养的效果,未添加 6-BA 的 T_1 其苗生长状况最佳,苗表现粗壮、高大,随 6-BA 浓度增加,生长的苗逐渐变细、变矮。表明高浓度 6-BA 可能对继代麝香百合组培苗的生长有抑制作用,同时也影响其次生小鳞片的形成。

多重比较分析表明: T_1 与 T_2 、 T_3 和 T_4 培养效果差异极显著, T_2 与 T_3 、 T_3 与 T_4 不显著, T_2 与 T_4 也达到极显著水平(表 2)。

表2 小鳞茎在不同培养基中生长情况

Table 2 Effects of different culture mediums on growth of bulb

培养基 Culture medium	次生小鳞片 总数和 Sum of secondary bulb	植株高度 总和 (cm) Sum of height	平均高度 Average height
T1	31	42.0	8.22aA
	27	40.2	
T2	24	31.4	5.96bB
	21	28.2	
T3	21	26.4	4.97bcBC
	20	23.3	
T4	24	22.6	4.12cC
	22	18.6	

注: T1 ~ T4 代表(1) ~ (4)号培养基; 小写、大写字母分别代表在 $P=0.05$ 、 $P=0.01$ 的差异显著性和差异极显著性。

Note: T1 to T4 represent NO 1 to NO 4 culture medium. Lowercase and capital letter represent differences and significant differences at $P=0.05$ and $P=0.01$ by SSR multiple range test respectively.

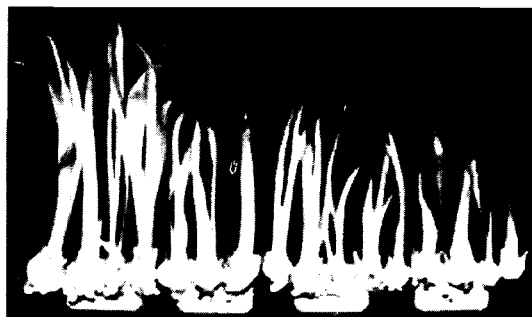


图1 继代百合苗在不同6-BA浓度培养基中生长变化情况

Fig. 1 Effects of 6-BA concentration on growth of tissue culture seedlings of *Lilium longiflorum*

3 小结

试验研究表明, 高浓度的6-BA对麝香百合继代苗的培养是不利的, 降低了小鳞片分化率、

减少了小鳞茎的次生小鳞片形成, 严重影响小鳞茎植株的生长。6-BA是一种细胞分裂素, 其作用主要是促进细胞分裂和细胞体积扩大, 可能由于继代培养苗内长期积累及难以利用6-BA及其代谢中间物, 对植株各项生理参数表现出恶化趋势, 谢绍萍在研究甜菊愈伤组织生长分化发现6-BA在0.1~2.0 mg/L能有效地诱导芽的发生, 但高浓度则抑制芽的发生^[9]。从植物生理学角度及分子水平研究外源6-BA是如何负面影响植物生长, 目前文献存在不同的观点, 其机理有待进一步研究。本试验结果认为: 在培养麝香百合继代苗应该尽量少用或不用6-BA。

参 考 文 献

- [1] ROBB S M. The culture of excised tissue from bulb scales of *Lilium speciosum* [J]. *Thun J Exp Bot*, 1957, 8:348~352
- [2] 袁芳亭, 陈龙清. 麝香百合的叶片离体培养及植株再生 [J]. *湖北农业科学*, 2001, 3:50~51
- [3] 王月芳, 奚元龄, 陆维忠, 等. 兰州百合体细胞组织培养的培养基成分 [J]. *江苏农业学报*, 1987, 3(2):18~23
- [4] 陆春霞, 岑秀芬, 黄燕芬, 等. 不同激素对比对百合叶片诱导与分化的影响 [J]. *广西农业生物科学*, 2005, 24(4):331~334
- [5] 李睿. 麝香百合的组织培养与快速繁殖 [J]. *甘肃林业科技*, 2003, 28(2):13~14
- [6] 张文种. 不同激素对比对麝香百合鳞茎芽诱导的影响 [J]. *亚热带植物科学*, 2002, 31(1):21~24
- [7] 虞泓, 陆永武, 程治英. 大百合的离体快繁和鳞茎的诱导 [J]. *植物生理学通讯*, 2005, 41(2):192
- [8] 刘菊华, 金志强, 韦带莲, 等. 两步外植体法高频再生麝香百合 [J]. *热带亚热带植物学报*, 2006, 14(3):246~250
- [9] 谢绍萍, 欧阳学智, 洪维廉, 等. 甜菊愈伤组织生长、分化与甜菊苷积累的关系 [J]. *热带亚热带植物学报*, 1998, 6(1):8~4

(责任编辑 程俊源)