

白色西伯利亚百合的组培快繁

刘凤民

(广东惠州农校, 516023)

中图分类号: S682.2⁺9 文献标识码: A
文章编号: 1001-0009(2006)04-0163-01

百合(*Lilium tenuifolium* Fisch)是百合科(Liliaceae)百合属(*Lilium*)植物的统称,百合是世界著名的观赏花卉。西伯利亚(*Siberia*)属于东方百合杂种系(The Oriental Hybrids),为百合中的名贵品种群,由于其花色纯白、花形奇特、芳香宜人而深受人们的喜爱,成为近年国内外市场热销的花卉种类之一,东方百合是通过杂交育种选育出来的,种子高度败育,常采用传统的鳞茎球繁殖方法,繁殖速度缓慢,在短期内难以满足市场需求,目前国内主要通过进口种球进行生产,为了降低生产成本,实现种球的自主繁育,进行组织培养与快速繁殖已十分必要,并且在百合的优良品种快速繁殖、脱毒复壮、新品种培育以及应用生物技术进行分子育种中,组织培养都是比较适合的方法,百合许多器官和组织都可进行组织培养诱导成苗,如花丝、花托、子房等花器官进行离体培养,但花器官作外植体取材易受开花期的限制,不能常年进行组培生产,而鳞茎球却不受此制约,可连年取材进行组培生产。而这种西伯利亚百合是东方百合中热销的品种,具有良好的观赏和经济价值,因此其快繁方法有重要意义。

1 百合鳞茎球外植体的灭菌

将白色西伯利亚百合鳞茎球,先经自来水流水冲洗40min后,用毛刷刷去泥土冲洗干净,把鳞茎球中的鳞片叶剥下后,剔出病残者,挑选靠近鳞茎盘基部的幼嫩鳞片叶,用刀修整,剔除菌斑及瑕疵,放入培养皿中待用。在超净工作台上,用75%酒精浸泡30s,用无菌水漂洗后再放入0.1%AgCl₂中浸泡8~10min,用无菌水漂洗5次后,放入无菌的培养皿中用灭菌的滤纸吸干水分,切成4mm×4mm的小块作外植体备用。

2 百合组培的培养基和培养条件

包括基本培养基附加不同激素组合,具体各阶段培养基

如下:基本培养基:选用MS培养基或1/2MS培养基,以上培养基均加入0.55%琼脂,3%蔗糖,pH5.8,培养温度25~28℃,光照度2200~2500Lx,光照10h/d;①诱导培养基:MS+2.4-D1.5+BA0.2;②增殖培养基:MS+BA0.5+NAA0.2;③生根培养基:1/2MS+NAA0.2mg/L。

3 百合鳞片愈伤的诱导、继代增殖及生根

在超净工作台上,将消毒处理的外植体小块背面朝下放在诱导培养基①中,在组织培养室中暗培养一周后进行光照培养,20d左右时鳞片表面及切口处出现浅绿色突起,1个半月后在突起中诱导出芽丛,同时基部淡黄绿色愈伤组织长大。培养至2个半月愈伤组织中一部分发出芽丛,还有一部分继续增殖长大,培养至3个半月时将高度生长至4~5cm以上并生出鳞茎球的小苗移至生根培养基中生根,其它在诱导培养基中的愈伤组织部分可经切割后移至增殖培养基中继续诱导,继代产生大量的愈伤和芽丛。继代培养每隔一个半月进行一次,每次继代芽的增殖达到了约3倍,愈伤的增殖达到了约4倍,增殖循环不断进行下去就达到B扩繁的目的。在组织培养室培养期间注意观察,随时剔除污染的材料,以免交叉感染。

4 炼苗及移栽

移入生根培养基中的苗经一个半月生长出大量根系,并且苗基部的鳞茎球发育至直径达2~3mm,就可敞开瓶口在培养室中炼苗。一周后,用流动水清洗干净根系上的培养基,移入事先喷洒过0.2%百菌清的基质(沙:花肥:椰糠为2:1:1)中,放入培养箱中培养,温度为25℃,平均光照强度2500Lx,每日光照12h。每隔2d浇水,培养15d后再移入花盆或大田中生长。

该项研究可达到接种无菌率72%,存活率63%以上。建立了百合组培苗的快速繁殖途径。百合经诱导培养后生出无菌的小苗,而每个新生的无菌小苗在生长过程中,很快生长出新的小鳞茎片,这种无菌的小鳞茎片可继续进行以上的增殖培养。技术简单,操作方便,而且所用的试剂均为常规化工产品,成本低廉,有利于大规模的工厂化生产。每隔1个半月继代1次的频率,1个普通大小的鳞茎球在一年时间内,可繁殖出百合组培大苗1.5万~2万株,第二年可达到约50万株。组培快繁方法繁殖百合具有繁殖速度快,占地面积小,新出苗整齐且无菌的特点。

球茎球状体所需时间较长,生长很缓慢;温度过高,又容易造成污染并且易褐变。通过研究认为采用适宜的培养温度可以降低褐变程度(见表5)。

表5 不同培养温度对洋兰原球茎褐变的影响

培养温度(℃)	生长情况	褐变程度(%)
18	很慢	4.8
24	正常	5.0
30	正常	24.3

注:试材为大花蕙兰。

3 结语

兰科植物在外植体诱导和原球茎分化培养时,都存在褐变死亡的问题。因而减轻或控制褐变发生是兰科植物组织培养研究的重要内容。褐变的主要机理是组织细胞受到伤害后,使得其还原性物质被空气中的氧气氧化为醌类物质,

后者具有细胞毒性。本试验表明,在培养基中添加活性炭,对于发生褐变的材料适时切除褐变部位并及时更换新鲜培养基,使用添加椰子水的培养基促进生长,采用适宜的培养温度,均能较好的防止褐变死亡的发生。在实际操作中还采取了其他一些措施,如外植体采集后用流水冲洗30min以上,在接种前先将外植体在无菌水中浸泡处理、控制光温条件、避免过高温度等,对降低褐化死亡率均有一定的作用。

采用大花蕙兰幼嫩花梗做外植体,在诱导培养基中添加NAA,有利于防止外植体褐化,降低外植体的褐变率。关于这点先未见报导将进一步探讨。

参考文献:

[1] 谭文澄,戴策刚,观赏植物组织培养技术[M].中国林业出版社1997:238-277.
[2] 祝骥,姚汝华.苦丁茶愈伤组织的诱导与褐变抑制[J].热带亚热带植物学报2000,8(4):319-323.