



百合的组织培养技术

百合属于球根花卉,以其花色清白、清纯、高雅而受到人们的喜爱,是切花中的佳品。百合主要分布在中国、日本、北美和欧洲等温带地区,我国近年来的百合切花生产发展较快,在昆明、上海、深圳已形成三大生产基地。但目前百合生产上存在三个亟待解决的问题:一是用种量大,每667平方米需用种250kg;二是繁殖系数低,每667平方米只能收获1000 kg;三是难以进行有性繁殖。因而采用组织培养方法对百合进行快速无性繁殖很有前途。

百合的组织培养繁殖自20世纪70年代后期开始,日本人以叶片为外植体诱导出大花卷丹的小植株,我国于80年代初由兰州百合的花药、花丝等培育出完整小植株。80年代以后,培养出无病毒的百合种苗和通过胚培养获得远缘杂交的新品种。

一、花器的组织培养

(一)取材和灭菌

采取开花前数日的花蕾。花蕾的表面用酒精灭菌,再在酒精灯上灼烧数秒钟,以后放在无菌培养皿内剥开花蕾,花丝,子房,花柱等分别切取3~5mm长,接种到培养基上。也可用花瓣和萼片培养。

(二)培养基及培养条件

花柱、花梗、茎段等用MS+IAA(1 mg/L)+6-BA(0.2 mg/L)培养基,叶片用MS+NAA(1mg/L)+BA(0.1 mg/L);分化植株时培养基为MS+NAA(2 mg/L)+IBA(0.4mg/L)+KT(0.05 mg/L),培养基内均加蔗糖3%和琼脂0.7%,pH值5.8~6.5。光照强度2000Lx,每天光照15h,温度25℃±2℃。

(三)生长情况

从百合花器不同部位的培养来看,以花丝的部位为好,成活率很高,发芽较多,其次是子房和花柱部分。花器培养可从各部位发芽,形成子球,通常是经过两个途径,一个是切口处先形成愈伤组织,以后再形成芽;另一个是从切口直接产生芽。

二、鳞片组织培养

百合鳞片对于扩大培养材料来源,加快

繁殖速度和培养得到无病毒苗等皆有重要意义。

(一)初代培养 由于百合鳞片材料生长在土中,受土壤微生物的影响,污染率相当高。为此外植体消毒要严加注意,可应用次氯酸钠,高浓度漂白粉过滤液、酒精和中性皂等几种消毒剂并用的方法。取健康的百合鳞片,先用洗涤剂清洗干净,再用75%酒精浸润30秒钟,然后用0.1%升汞消毒30分钟,最后用无菌水冲洗3次。

将消毒后的鳞片切成0.5cm²鳞片小块接入MS+NAA或2,4-D(0.5~1 mg/L)+BA或KT(0.1~1 mg/L)诱导培养基中,置于25±2℃,照光9~10h/d,光强1200Lx条件下培养。接种后的2周内,即有98%左右的鳞片切块在近轴面或边缘上诱导,也有淡黄色的不定芽原基呈环状突起,多数每块上有2~4个,这些不定芽原基继续生长4周后,可形成中间抽出绿色的白色小鳞茎,在小鳞茎基部发生一些粗壮的根。将幼苗切成1.5~2cm长的片断,接种到诱导愈伤组织的培养基上。3周后叶子的基部、叶脉、叶缘上均可诱导出一团团淡黄色的愈伤组织,以叶基部的平均数为多。

(二)继代培养 分化培养时,可用MS+NAA(2 mg/L)+IBA(0.4mg/L)+KT(0.05 mg/L)培养基。将愈伤组织转移到分化培养基上,10周后,愈伤组织逐渐膨大,分化出许多大小不等的鳞茎,并在小鳞茎的基部长出许多粗壮的根。有少数的小鳞茎中间可长出绿芽。将小鳞茎分离出以后,留下的愈伤组织转移到相同的新鲜分化培养基上,一段时间后仍能分化出小鳞茎。

(三)试管苗的诱导

1 由鳞片小切块诱导成苗:鳞片小切块接种后,一般先分化出黄绿色或绿色的球形突起的小芽点,继而芽点逐渐增大成小鳞茎,并可长出小叶片,形成苗丛,生根后即可从试管中取出,移栽于营养钵或大田。也可将小鳞茎继代培养扩大繁殖。

2 由叶片诱导成苗:由鳞片小切块诱导分化出的苗丛,在超净工作台取其无菌叶

片,接种于培养基中,培养半个月后即可分化出带根的小鳞茎。培养两个月后,每个单叶片形成的小鳞茎一般又可分化出带有根系的丛生小鳞茎4~6个。叶片培养可直接插入培养基中,但要注意极性,不可倒置,叶片也可平放于培养基中培养。

3 由愈伤组织诱导成苗:上述外植体在分化成苗的过程中,常常增殖出具有颗粒状似胚性细胞团的愈伤组织。该愈伤组织在连续不断的继代培养中,一方面继续不断地增殖相似的愈伤组织,另一方面又不断地分化成苗。一般每个试管里的愈伤组织可分化成苗20~40个。

4 无菌小鳞片诱导 取试管中的无菌小鳞茎,在超净台上将其小鳞片逐片接种于培养基上,鳞片基部向上或内侧面面向上,培养30d左右即可开始分化,再培养30d左右即可分化出小鳞茎和根系,培养60d后,每个小鳞片一般又可分化出带有根系的丛生小鳞茎4~6个。

(四)生根培养 百合试管苗移栽时首先应把根部的培养基清洗干净,以免受细菌或真菌污染而影响幼苗生长。在试管苗移栽前,放在4~10℃低温条件下锻炼2~3周,这样移栽后的幼苗生长更加健壮。移栽幼苗最好用消毒的腐殖土或泥炭土加蛭石的混合基质,移栽用育苗盆必须清洗消毒。同时,移栽后注意湿度管理,相对湿度控制在80%~90%。同时要防止烈日曝晒,后期幼苗不宜浇水过多,并及时喷洒药剂预防病虫害危害。秋季小鳞茎移栽到盆中的成活率较高,且能继续生长,抽出绿芽。入冬后进入休眠,地上部枯萎。移植前的培养温度及培养基所含的无机盐、激素和蔗糖浓度对新产生子球的发根和休眠有较大的影响,也会影响以后上盆的成活率。

百合的组织培养具有用种量少,繁殖系数高的优点,解决了因持续进行营养繁殖而引起的种球退化现象,使百合种球得到提纯与复壮,因此使百合的组织培养技术在生产上得到了广泛的应用。

湖北襄樊职业技术学院生物工程系

瞿宏杰