

龙芽百合快速繁殖技术

龙芽百合组培快速繁殖及高产栽培技术综述

廖兵辉¹, 刘清波¹, 蒋建雄², 易自力²

(1. 湖南农业大学生物科学与技术学院, 湖南长沙 410128;

2. 湖南农业大学细胞工程重点实验室, 湖南长沙 410128)

摘要:结合国内外有关资料及报道,对20世纪90年代以后的龙芽百合快速繁殖及高产栽培技术进行了综述,包括龙芽百合外植体选择、诱导增殖及生根培养等技术。

关键词:龙芽百合; 快速繁殖; 高产栽培

中图分类号:S644.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1006-060X(2006)01-0073-03

1 龙芽百合快速繁殖技术

1.1 外植体准备

1.1.1 外植体的选择 龙芽百合的许多器官、组织都可作为外植体,如鳞球、鳞片、花梗、叶片、茎尖、腋芽、种子、花瓣、花托、花丝、花药、胚、子房、根尖等,其中采用鳞球作外植体较多。卢其能^[3]在进行龙芽百合组培时还采用了顶芽、茎段和叶片作外植体。一般而言,由于培养策略不同,不同的研究者所选取的外植体也有所不同。

1.1.2 外植体灭菌 常用的灭菌剂有酒精、升汞及漂白粉等。一般程序是先将外植体用自来水冲洗30 min,再对材料进行预灭菌。通常首先采用酒精进行预灭菌,使用浓度为70%或75%^[3-7],灭菌时间为15~30 s。然后再用升汞灭菌,使用浓度一般为0.1%,时间为10 min左右。卢其能^[3]认为进行龙芽百合顶芽和叶片灭菌时,采用10%漂白粉溶液消毒10 min即可。各种外植体灭菌后均要用无菌水反复冲洗多次。

1.2 繁殖中间体的诱导与增殖

利用植物组织培养技术进行龙芽百合快速繁殖时,一般可通过三条途径再生植株:(1)器官型。即通过外植体诱导不定芽产生或腋芽发育,形成丛生芽^[3-4,6,8];(2)器官发生型。即外植体首先诱导愈伤组织形成,然后再分化形成不定芽^[3,7,9];(3)胚状体型。即通过外植体直接诱导胚状体产生或由愈伤

组织形成胚状体^[10]。

1.3 培养基对龙芽百合培养的影响

1.3.1 培养基选择 在龙芽百合培养过程中,大部分使用固体培养基。而在培养基选择方面,几乎都采用MS培养基。卢其能分别使用了MS、B₅和White三种培养基进行研究比较,认为MS培养基对外植体分化效果更好。

1.3.2 培养基激素组合和使用浓度 对于不同的培养目的、不同的外植体,所选用的培养基激素种类和浓度也存在差异(见表1)。刘菊华^[4]等认为,诱导龙芽百合鳞片产生愈伤组织的最佳激素组合是:2,4-D 2.0 mg/L+6-BA 0.2 mg/L。而罗丽萍等认为,诱导龙芽百合小鳞茎形成愈伤组织的最佳激素组合是:2,4-D 4.0 mg/L+6-BA 4.0 mg/L。可见2,4-D与6-BA组合能诱导龙芽百合外植体产生愈伤组织,但不同外植体选择使用的激素浓度有较大差异。同时,适量的NAA对愈伤组织分化成苗有一定的促进作用,常用浓度为0.05~0.5 mg/L^[3-10]。对于龙芽百合鳞片外植体,6-BA浓度在1~3 mg/L、NAA浓度在0.1~0.5 mg/L时有较高的分化芽诱导率,而IAA可诱导龙芽百合茎段产生芽。诱导生根培养激素组合有多种:NAA 2.0 mg/L^[4]、IBA 0.5 mg/L^[6]、IBA 0.2~0.3 mg/L+活性炭^[7-8]、IAA 1.0 mg/L+6-BA 0.2 mg/L^[9]。可见,NAA、IBA、IAA在一定浓度范围内均可诱导生根。

1.4 组培苗移栽

罗丽萍认为,当组培苗长至1 cm时移栽于珍珠岩、蛭石、火土灰的混合基质中易成活。而杭玲认为,试管苗在移栽前要放在自然光照和温度的条件下炼苗20 d左右,且移栽后要用薄膜盖好,并遮阳,

收稿日期:2005-06-09

作者简介:廖兵辉(1976-),女,湖南湘乡市人,在读硕士生,研究方向:植物细胞遗传学。

逐步炼苗,最后移到大田栽培。卢其能为提高龙牙百合的成活率,将直径为5 mm以上的生根小鳞茎进行冷处理,处理温度为6~8℃,处理25 d左右再移栽。

表1 龙牙百合快速繁殖常用外植体及培养基激素组合

培养过程	外植体类型	激素组合(mg/L)
诱导	鳞片	GA ₃ 2.0 + NAA0.5
	鳞片	NAA0.3
	顶芽	BA2.0 + NAA0.2
	叶片	BA2.0 + NAA0.2
	鳞片	BA3.0 + NAA0.1
	鳞片	BA1.0 + NAA0.1
形成愈伤组织	鳞片	NAA0.5 + CH300
	鳞片	2,4-D2.0 + 6-BA0.2
	再生小鳞片	2,4-D4.0 + 6-BA4.0
芽伸长	茎段	IAA0.2
	鳞片	2,4-D1.0 + 2.0 + 6-BA0.5
	再生芽	BA1.0 + NAA0.05
增殖	再生小鳞片	BA1.0 + NAA0.5
	小鳞茎增重	BA1.0 + NAA0.2 + 2,4-D0.5
		BA1.0 + NAA0.5(液体培养基)
	形成丛生芽	BA2.0 + 3.0 + NAA0.1
生根培养		BA2.0 + NAA0.2 + CH500
	小鳞茎	NAA2.0
	小鳞茎	IBA0.5
	小鳞茎	IBA0.3 + 活性炭5 g(1/2MS)
	小鳞茎	IBA0.2 + 活性炭0.1 g(1/2MS)
	小鳞茎	IAA1.0 + 6-BA0.2

2 高产栽培技术

2.1 龙牙百合栽培适宜的环境条件

龙牙百合为秋植多年生宿根草本植物,喜阴湿环境,是百合中既耐寒也较耐热的种类,适宜生长在土质肥沃、排水良好的沙质土壤中。若在排水不良的地方栽种,易发生病害死亡。土壤的pH值也是百合能否正常生长的重要因素。龙牙百合较喜偏酸性环境(喜凉爽、耐荫蔽、喜湿润、怕水涝)。魏正方等^[11]研究结果认为,pH值为5.7~6.3较为适宜。百合应3 a轮作一次,前作以瓜豆类、禾谷类为好,忌与葱蒜轮作^[12]。种植当年可间作菠菜、生菜、十字花科蔬菜等秋冬菜。

2.2 选种

因百合大多采用无性繁殖,培育优质种球和选择良种是百合优质高产的基础。但目前龙牙百合脱毒种球^[13]十分稀少,市场供不应求,解决的方法是选择品质优良、无病虫害的地方性良种。选择方法:一是选地,在龙牙百合种球良繁区进行现场考察,观察其长势情况,选择百合长势旺盛、植株高大、无病

虫害发生的田块留种。二是选株,在已选好的地块中选株,对那些在田间长势差的植株、畸形株、病态株均予淘汰,挖出深埋,保留优良植株留种。三是手选,采收后人工手选,对那些鳞片肉质发黄、鳞茎腐软、根茎基部发黑、虫蛀、机械损伤严重等球茎予以淘汰。

2.3 选地

根据百合的生长习性,应选择土层深厚、富含有机质、排灌方便、呈微酸性的沙质土壤^[14]。丘陵地区宜选择坡度5°以下的缓坡地种植,忌连作。合理轮作换茬可以培肥地力,减少病虫害危害。水旱轮作的稻田2~3 a轮作一次,旱作需4~5 a轮作一次,而且前茬不宜选择葱蒜类作物。

2.4 播种

2.4.1 播种时间 种球采收后有一定的休眠期,故应根据采收后种球的成熟度和种球破休眠的程度来确定播种期。种球成熟好、但未破休眠的于9月中下旬至10月中下旬播种,已破休眠的于11月上旬至12月下旬播种。一般在立秋至白露期间播种。

2.4.2 播种方法 宜采用高畦栽培。栽种前一个月深翻晒垡,整地要平、净、细、碎并施750 kg/hm²生石灰进行土壤消毒。采用开沟条播,双行种植,行距30~35 cm,株距20~25 cm,种植密度为5 000株/667 m²。用种量3 750~5 250 kg/hm²。播种后覆盖土层,以种球顶部离土表8~9 cm为好,过浅鳞茎易分瓣,过深出苗迟、缺株多、生长不良。

2.5 田间管理

2.5.1 中耕除草 百合生长期长,在其生长期应进行3~4次中耕除草。秋播在土中越冬,次年春出土前有一段较长时间,在此期间要松土,中耕除草一次。到生长中期再除草2~3次,但不宜过深。前期只需注意除草,后期进行适度中耕培土,最后一次应在5月上旬进行,并结合大培土12~15 cm,以防地上茎倒伏。中耕时不能伤及“上盘根”,防止鳞茎裸露与鳞片变色。

2.5.2 追肥培土 百合于次年3月上中旬出苗,齐苗后当苗高13~16 cm时可追施苗肥。每次每667 m²用人尿液2 000~3 000 kg或尿素15~20 kg,或用45%含硫复合肥35 kg,或腐熟人畜粪尿1 000 kg+腐熟饼肥25 kg。施肥后要立即培土,每次厚度为2~3 cm。百合现蕾开花前应重施一次肥,667 m²用45%含硫复合肥50 kg。追肥时肥料不可施在茎叶上,必须选择雨天施在株间。最后一次施肥培土后,将稻草薄铺于土面上,667 m²用稻草27 kg,以降低

地温,保持湿度,防止雨水冲刷和杂草生长。

2.5.3 灌溉排水 百合喜干燥、忌涝渍,要求土壤湿度保持在 70%~80%。过干或过涝均不利于其生长。雨季应加强田间清沟排水,遇旱季则应适当浇水。

2.5.4 控制生长 当百合长至 20~25 cm 高时,用 200 mg/kg 多效唑液喷施一次,使百合茎秆粗壮,促地下鳞茎生长。

2.5.5 打顶摘花 春季发芽时保留 1 个壮芽,其余应摘除,以防鳞茎分裂。夏季花蕾出现时应及时摘除,以防止养分大量消耗,影响鳞茎生长和发育。

2.6 病虫害防治

2.6.1 叶枯病 又称灰霉病^[15],是百合植株上最普遍病害之一。严重时造成茎叶枯死、花蕾腐烂,影响鳞茎产量。症状是叶上出现黄褐色和红褐色椭圆形病斑。防治方法:(1)将患病植株叶片集中烧毁;(2)实行 3 a 以上轮作;(3)加强田间管理,合理增施磷钾肥,增强抗病力,注意清沟排水及田间通风透光;(4)用 50% 多菌灵 500 倍液、或 75% 百菌清 500 倍液、或 70% 甲基托布津 500 倍液、或 50% 速克灵 800 倍液、或 50% 扑海因可湿性粉剂 1 500 倍液喷洒,每 10 d 喷洒一次,连续喷 3~5 次。

2.6.2 立枯病 又称根茎基腐病,5~6 月发生。主要危害植株茎基部,影响植株生长,导致死亡。症状为植株茎基部渐变暗褐色,下部叶片先枯萎,随后整株迅速黄枯死亡,鳞茎变褐。该病菌是弱寄生的土壤习居菌,能长期在土壤中腐生。因土壤淹水、粘重、施用未腐熟的有机肥料以及线虫和地下害虫等均可引起该病菌侵染。防治方法:(1)用药剂处理种球;(2)撒石灰粉消毒,并对周围及全园植株用 1 000 倍甲基托布津可湿性粉剂或 50% 多菌灵可湿性粉剂稀释液喷雾或淋苑,或用 75% 百菌灵可湿性粉剂 600 倍液喷雾。

2.6.3 软腐病 鳞茎发生灰褐色不规则水浸状斑时,可喷 47% 加瑞农可湿性粉剂 800 倍液,或 72% 农用硫酸链霉素可溶性粉剂 4 000 倍液进行防治。

2.6.4 病毒病 张于光^[16]认为,致病菌分真菌性病毒和生理性病毒。而沈淑琳^[17]认为,主要病毒有四种:百合无症病毒、黄瓜花叶病毒、郁金香碎锦病毒、百合丛簇病毒。百合受害较普遍,是较难防治的一种病害。大致症状为叶片变黄,或发生黄色斑点(条斑),植株萎缩,花蕾萎黄不开。该病主要是预防:(1)防治蚜虫是防治病毒蔓延的有效途径;(2)防止接触性传染;(3)拔除受害严重的植株并烧毁之。

2.6.5 虫害 百合虫害主要是蚜虫和地下害虫,如蛴螬、根螨、金针虫等。虫害发生后应及时喷施敌敌畏 1 000 倍液,或用 40% 乐果或氧化乐果 1 200 倍液喷洒。对于地下害虫,出苗前可用甲基异柳磷、辛硫磷颗粒剂拌细土撒入土中。苗期可用乙酰甲胺磷、辛硫磷乳剂灌根防治。

2.7 采收与贮藏

7 月下旬~8 月上旬百合植株地上茎叶开始枯黄,植株停止生长^[18],此时鳞茎已充分成熟,可选择晴天采收。为保证种球品质和延长市场新鲜百合供应时间,采收后要随时进行贮藏,防止受风吹。若风吹则鳞片变红,干萎。一般用沙藏法,也可置阴暗的室内或地下室贮藏。

参考文献:

- [1] 马子骏,王蕾才,吴思泉,等.龙牙百合(白雪皇后)生物学特性研究[J].浙江农村技术师范专科学校学报,1998,(1):7-10.
- [2] 吴家林.龙牙百合特征特性及高产栽培技术[J].福建农业科技,2000,(增刊):113-114.
- [3] 卢其能.龙牙百合的组织培养和快速繁殖研究[J].江西农业学报,2002,14(4):43-46.
- [4] 刘菊华,金志强,徐璧玉,等.龙牙百合的植株再生与遗传转化[J].分子植物育种,2003,1(4):465-474.
- [5] 罗丽萍,杨柏云,蔡奇英,等.龙牙百合的组织培养[J].植物生理学通讯,2001,37(6):527-528.
- [6] 杭玲,苏宾,陈丽新,等.龙牙百合组培快繁技术研究[J].广西农业科学,2001,(4):183-184.
- [7] 万勇,毛凌华,黄永萍,等.万载百合组织培养快速繁殖的研究[J].江西农业学报,2000,12(4):26-29.
- [8] 吴森生,梁小敏,陈莲梅.龙牙百合组培芽诱导和试管苗生根试验初报[J].江西园艺,2004,(3):23-24.
- [9] 刘选明,周朴华,何立珍,等.应用细胞工程技术选育四倍体龙牙百合的研究[J].生物工程学报,1996,12(增刊):193-303.
- [10] 刘选明,周朴华,屈姝存,等.百合鳞片叶离体诱导形成不定芽和体细胞胚[J].园艺学报,1997,24(4):353-358.
- [11] 魏正方,陈明明.龙牙百合优质高产栽培技术[J].作物研究,2003,(1):45-46.
- [12] 唐春林,杨柏云,茅英福.龙牙百合高产栽培技术[J].江西农业科技,2003,(4):22-23.
- [13] 徐兴龙.百合种球繁殖生产技术[J].江西农业科技,2003,(4):22-23.
- [14] 高瑾瑜,王志月,徐兴龙.百合种球生产技术[J].陕西农业科学,2004,(4):89-90.
- [15] 湛超贤.百合病害的发生与防治[J].湖南农业科学,2003,(4):57-60.
- [16] 张于光,肖启明.百合的主要病害及其防治[J].植物杂志,2003,(3):16-17.
- [17] 沈淑琳.百合病毒病及其检验[J].植物检验,1996,10(4):223-226.
- [18] 王迪轩,薛华良.龙牙百合优质高产栽培技术[J].蔬菜,2002,(2):13.