

东方百合组培快繁及试管苗健化栽培技术研究^{*}

李爱华⁽¹⁾ 杨 柳⁽¹⁾ 陈慧玲⁽¹⁾ 李凤莲⁽²⁾

(1. 湖北省林业科学研究院 武汉 430079; 2. 湖北省武当山旅游经济特区林业局 十堰 442714)

摘 要:以东方百合中市场占有率高的3个优良品种的鳞茎作为外植体进行组培快繁,对组织材料快速繁殖条件优化的研究表明,生长调节剂组合对百合愈伤组织分化和小鳞茎增殖有较大的影响,东方百合鳞茎基部近基盘处是进行芽诱导培养的极好外植体。东方百合试管苗出瓶后必须进行试管苗健化栽培,这个阶段是百合商品球能否达标的关键。以东方百合品种西伯利亚为材料,从试管苗出瓶后栽培基质、水分管理、施肥方式等关键因素入手,探索了东方百合试管苗健化期最佳的管理模式,使其成活率达到了98%以上。

关键词:东方百合;组培快繁;试管苗;健化

Study on Cultivation Technique in Fast Propagation of Tissue Culture and Test-tube Seedling Exuberance for Eastern *Lilium Brownii*

Li Aihua⁽¹⁾ Yang Liu⁽¹⁾ Chen Huiling⁽¹⁾ Li Fenglian⁽²⁾

(1. Hubei Academy of Forestry Wuhan 430079;

2. Wudangshan Tour Economic Zone Forestry Bureau in Hubei Province Shiyan 442714)

Abstract: Take bulb of three excellent varieties occupying high ratio in market of eastern *Lilium brownii* as test material. The research on optimum condition of the fast propagation of culture material shows that the combination of growth regulator had larger effect for differentiation of callus of *Lilium brownii* and proliferation of small bulb. The basic bulb of eastern *Lilium brownii* near the basic tray was a better ex-plant to carry out the induced culture of primary bud. The exuberance cultivation of the test-tube seedling of eastern *Lilium brownii* must be made after the seedling come out from bottle, this stage was a key point for the commercial ball of *Lilium brownii* that can reach the standard or not. Take variety of eastern *Lilium brownii* of Siberia as materials, explores the optimum management model during the exuberance stage in breeding the seedling that the survival rate reaches over 98% after the seedling lifts from the bottle by taking key measures in cultural medium, water management and fertilizer etc.

Key words: eastern *Lilium brownii*; fast propagation of tissue culture; test-tube seedling; exuberance

百合 *Lilium brownii* 是百合科百合属著名的多年生球根花卉,是全球花卉市场最主要的珍贵切花材料之一。在我国民间常取“百事合心”之意作为礼品相馈赠。东方百合是百合花中最具市场优势的切花品系,包括天香百合、鹿子百合、日本百合衍生的品种以及它们与湖北百合的杂交种。开放

的花朵为碗形花,是百合中花朵最大的。东方百合花色丰富,以红、粉红、白色为主,花具浓郁的芳香气味^[1]。为扩大东方百合优良品种的繁殖系数,探索东方百合规模化生产的有效途径,我们应用组织培养技术对3个品种的东方百合西伯利亚、索邦、马可波罗进行了组培快繁以及试管苗健化期各项

管理技术的研究。

1 材料与方法

1.1 东方百合组培快繁技术研究

1.1.1 实验材料

取东方百合西伯利亚、索邦、马可波罗 3 个品种的鳞茎,用清水洗净,剥下鳞片以及由鳞茎盘抽生的顶芽作为外植体备用。

1.1.2 实验方法

(1)消毒:挑选无病斑、健壮的东方百合 3 个品种鳞茎,在洗涤水中用软毛刷刷净,流水冲洗 1~2 h。用 75% 乙醇消毒 30~50 s,投入 0.1% 的升汞消毒液(滴加 2~3 滴吐温-80)中消毒 10~12 min。用无菌水冲洗数次即可接种。

(2)接种:在超净工作台上将灭菌好了的鳞片切割成上、中、下三部分约 0.8~1.0 cm 见方的小块,平放在已配制好培养基的培养瓶内,并置于培养室中培养。顶芽培养的处理方法与之相同。

(3)培养基配方:以 MS 为基本培养基,用 7 g/L 琼脂作固化剂,以 3% 的食用白糖代替蔗糖作为碳源,以自来水代替蒸馏水,并分别添加 0.5, 1.5, 2.0 mg/L 的 6-BA 和 0.1, 0.3 mg/L 的 NAA, 培养基 pH 值 5.8~6.0。此种培养基在保证培养效果的同时,可明显降低生产成本。

(4)培养条件:培养室温度冬季为 20~22 ℃,夏季为 22~24 ℃,春秋季节为常温;光照强度为 1 500~1 800 lx,光照时间为 11~12 h/d。每组 7~10 个处理。

1.2 东方百合试管苗健化栽培管理技术研究

东方百合试管苗健化栽培是培养高商品附加值的东方百合种球的基础,是百合产业化生产过程中非常重要的一环。试管苗从 1 个人工控制的全营养、高湿度、最适的温度和光照的环境中移栽到 1 个开放的自然环境中,必须有 1 个生长适应的过程,这就是试管苗的健化期。在这个时期,由于在移栽时小苗根系难免受到损伤,栽下后新根又不能马上长出,植株生长、叶面蒸腾所需的水分、养分在此期间很难从根系获得。如果管理养护不当,出现基质渍水、干旱或植株营养缺乏等问题,极易造成移栽试管苗植株生长瘦弱、感染病虫害甚至死

亡。试管苗健化期的各项管理技术决定着苗木移栽的成活率,决定着最后商品球的质量和数量。因此,我们对东方百合的试管苗健化栽培技术进行了必要的研究与探索,主要从栽培基质、水分管理、施肥方式等影响东方百合试管苗成活的关键因素入手探索此期最佳的管理模式。

1.2.1 移栽基质的选择

东方百合性喜疏松,富含有机质,排水良好的培养基质。珍珠岩、椰丝、泥炭、沙等培养基质具有疏松透气的特性,对移栽苗新根的生长非常有利。选用珍珠岩、泥炭、沙、椰丝 4 种成分按不同的比例混合,作为东方百合试管苗健化期栽培基质,进行试管苗移栽,根据最终小苗成活率筛选出健化期最佳栽培基质。

(1)试验材料:东方百合西伯利亚。

(2)试验方法:准备好以上 4 种栽培基质,用 0.5% 的高锰酸钾或 800 倍的土菌灵进行喷洒消毒,以防治地下害虫和病菌对移栽小苗的侵害。将清洗掉根部琼脂的东方百合组培苗用多菌灵浸泡消毒后,以株行距 5 cm×5 cm 的距离进行试管苗移栽,并补足水,生长过程按要求精心管理。每组基质移栽试管苗 500 株,重复 3 次,20 d 后统计小苗成活率。

1.2.2 水分管理

试管苗健化期间,根系生长弱,吸水能力差,如果栽培基质湿度过大,小苗易腐烂,甚至死亡。因此在小苗种植前,先将栽培基质浸透水,栽下苗后只需稍微进行喷水或向空中喷雾即可,以后视移栽季节和干湿情况适当补水。若是在 5~8 月份,还需在栽培容器上罩上薄膜,以维持小苗生长所需水分和保持一定的空气湿度。尤其是在小苗栽下后的前 3 d,最好保证湿度在 85% 以上,否则小苗会因为蒸发量大而补水不足,影响成活。

1.2.3 施肥

刚移栽的小苗,根系还未恢复生长,不能吸收基质中的肥料,小苗缺乏营养会影响其缓苗期的长短甚至成活。在小苗栽下的第 2 天,就采用叶面喷肥的方式补足养分。所用肥料为 MS 培养基中的母液 1,以后每隔 3 d 喷 1 次,直至小苗完全成活,恢复生长。

1.2.4 光照控制

百合小苗喜光,但小苗生长弱,尤其是健化期

间的小苗,光照强度会引起叶面萎焉,因此在此期间,应适当遮荫。健化期头3 d,春秋季节,10:00~14:00 均应遮去50%的阳光;而在夏季,9:00~16:00 均要遮去70%的阳光,以后逐渐增加光照强度和光照时间。

1.2.5 温度控制

温度是百合试管苗健化期的最关键的因子。据试验观察,20~25℃的温度对百合移栽成活最有利。因此选在春秋两季的自然环境中移栽试管苗最适合。而冬季只有适当搭棚罩膜,夏季利用湿帘降温、喷雾遮光或者具备空调设备才能满足小苗生长所需的温度,但由此会增加小苗移栽成本。

1.2.6 病虫害防治

百合组培苗由于是在1个无菌的人工环境中培养的,小苗本身带有很少菌源虫源,移栽时栽培基质均经过严格的消毒,因此小苗不易感染病虫害。但由于大气中各种有害微生物无处不在,加之如果小苗水肥管理不当,基质过湿不透气,也易遭受病菌侵染。所以在小苗移栽后的第3天,就要喷1次800~1 000 倍的甲基托布津或百菌清,预防病害发生。

2 结果与分析

2.1 东方百合组培快繁技术研究

表1 初代培养基中不同激素水平对鳞片产生芽的影响

培养基编号	激素/(mg·L ⁻¹)		芽诱导率/%	每个外植体平均芽数/个	生长状况
	BA	NAA			
1	0.5	0.1	35	2.0	好,无根
2	1.5	0.1	65	5.5	好,有根
3	2.0	0.1	67	4.5	好,有根
4	0.5	0.3	55	4.0	好,无根
5	1.5	0.3	61	4.5	好,有根
6	2.0	0.3	68	3.0	好,无根

表2 东方百合不同培养部位对不同激素水平敏感性比较

培养基编号	分化率/%								
	西伯利亚			索邦			马可波罗		
	顶芽	鳞片基部	鳞片中段	顶芽	鳞片基部	鳞片中段	顶芽	鳞片基部	鳞片中段
1	96.4	92.5	45.5	100.0	94.3	45.0	96.1	90.2	35.2
2	94.2	66.7	16.7	100.0	68.4	16.7	95.6	65.4	54.5
3	82.0	53.2	5.9	80.0	51.2	5.0	83.5	57.0	4.7
4	95.3	80.5	31.8	100.0	82.1	31.8	95.6	87.2	31.8
5	90.6	84.8	23.1	94.1	86.8	23.1	91.6	80.8	29.9
6	97.0	94.1	54.2	100.0	91.1	49.5	94.4	91.3	40.2

2.1.1 鳞茎及抽生顶芽培养

将东方百合3个品种抽生的顶芽、鳞片(切割成上、中、下三部分),接种在表1所列培养基上,7~10 d后多数鳞片开始变绿,10~18 d后多数鳞片凹面出现白色突起,15~30 d后突起分化成小芽或愈伤组织。

诱导培养:鳞片接种30 d后统计试验结果后表明:BA浓度为1.5 mg/L,NAA浓度为0.1 mg/L时对鳞片的芽诱导效果最好。鳞片接种在培养基上10 d后,在鳞片边缘就出现白色小突起,15 d后长出3~4个绿色小芽,外植体芽诱导率为65%,平均每个外植体上可诱导出5个以上的小芽;BA浓度低于1.5 mg/L时,鳞茎芽的诱导率不高,且每个外植体上新生芽数少。BA浓度高于1.5 h时,尽管诱导率较高,芽平均数也不低,但通过连续的培养观察表明,随着BA浓度的升高,芽的生长受到的抑制。表现为后期的鳞茎数增多但芽的形态呈矮胖状,不长高。因此,2号培养基是最佳的诱导培养基,不但诱导率高,而且每个外植体新增芽数多,诱导产生的小芽数也多。诱导产生的小芽基部有2~5个白色的小根,可1次成苗。这个过程的完成也就建立了百合组培的无菌系。

由鳞茎分化的小芽,长大后形成完整的植株,并具有丰富的根毛。但是百合鳞茎不同部位作外植体对激素的敏感性不同。从观察结果(表 2)来看,由鳞茎抽生的顶芽因其本身固有的特性,生长萌动性强,具最高的芽诱导能力,是东方百合最佳组培外植体;鳞片产生芽的能力从强到弱顺序为:鳞片基部、中部。因此,东方百合抽生顶芽和鳞茎基部近基盘处均是进行芽诱导培养的极好外植体。

2.1.2 增殖培养

将已开始分化的外植体转接到诱导培养基中(见表 1),10 d 后对鳞片凹面出现白色突起的外植体开始记录,30 d 后统计实验结果,其后将在诱导培养基中产生的 2.0~4.0 cm 小芽分别移入增殖培养基中(见表 3),15 d 后部分材料的芽基部出现芽丛时开始观察记录,30 d 后统计试验结果,筛选出最佳增殖培养基配方;最后将增殖培养基中长至 5 cm 以上的丛芽切离成单芽后移入生根培养基中(见表 4),15 d 后观察记录小芽的生根情况,新增小芽平均数为 30 d 后统计结果。

从诱导培养可知,BA 浓度过高,可抑制芽的生长,从继代培养开始,我们适当降低了 BA 浓度,提高了 NAA 的浓度。表 3 的试验结果表明:适当降低 BA 与 NAA 浓度的比例,更利于芽的增殖。5 号增殖培养基是最好的芽增殖培养基。观察表明,随着 BA 浓度的增高,丛生矮化明显;当 NAA

的相对浓度越接近 BA 时,丛芽基部出现异常粗壮的根。当 BA 浓度达到 1.0 时,丛芽基部出现大量的愈伤组织。另外,观察发现低于 2.0 cm 或高于 5.0 cm 的芽移入继代培养基中,生长迟缓,不产生新芽,而芽高为 2.0~4.0 cm 的芽生长旺盛,产生丛生芽多,为较好的继代材料^[2]。

表 3 增殖培养基中不同激素水平对芽增殖的影响

培养基 编 号	激素/(mg·L ⁻¹)		新增芽平 均数/个	生长状况
	BA	NAA		
1	0.5	0.3	2.2	好
2	0.5	0.5	2.7	有根长出
3	0.5	1.0	3.6	有根长出
4	1.5	0.3	2.6	好
5	1.5	0.5	5.8	好
6	1.5	1.0	1.5	好

2.1.3 生根培养

从生根培养 15 d 的试验结果来看,1~6 号培养基对根的形成均有诱导作用,其中 2、5、6 号生根培养基生根效果较好,其生根平均数达到 8~13 条,尤其是 6 号,在生根培养的同时,生根苗基部可新增出带根的小鳞茎,平均芽数可达 3.0 个,可 1 次性成苗。既简化了培养步骤,使用激素的种类和数量均最少,又降低了培养成本。所以 6 号生根培养基是东方百合最佳生根培养基。

表 4 生根培养基中不同激素水平对芽丛生根的影响

培养基编号	激素/(mg·L ⁻¹)		生根率/%	生根平均数/个	新增小芽平均数/个
	BA	NAA			
1	0.2	0.05	28	4.0	1.5
2	0.2	0.50	72	8.0	2.0
3	0.2	0.30	56	5.0	2.1
4	—	0.05	32	3.0	0.0
5	—	0.50	97	9.5	1.0
6	—	0.30	100	13.0	3.0

2.2 试管苗健化栽培技术研究

2.2.1 移栽基质试验(见表 5)

表 5 不同移栽基质对东方百合试管苗健化成活率的影响

移栽基质编号	移栽基质成分	移栽小苗数/株	成活株数/株	成活率/%
1	泥炭:珍珠岩=1:1	500	492	98.4
2	沙:珍珠岩=1:1	500	356	71.2
3	椰丝:珍珠岩=1:1	500	433	86.6

试验结果表明:1 号基质(泥炭:珍珠岩=1:1)表现最佳,移栽的试管苗成活率平均可达 98%

以上。3 号基质(椰丝:珍珠岩=1:1)次之,2 号基质(沙:珍珠岩=1:1)在试管苗移栽成活率上

表现得不理想。2号基质不利于东方百合试管苗移栽,很大程度上是由于沙易板结,影响滤水,部分小苗因渍水死亡。而3号基质疏松透气,但由于粘性较差,同时也缺乏营养,因此小苗成活率也只有86.6%,而1号基质因珍珠岩良好的滤水性和泥炭良好的粘着性及丰富营养,非常适合小苗根系的生长,所以小苗成活率可达98.0%以上^[3]。

2.2.2 水、肥、光、温控制对移栽苗成活的影响(见表6)

表6 水肥光温控制对移栽苗成活的影响

管理措施	处理方法	试管苗成活率/%
湿度控制	罩膜	96.3
	对照	57.0
肥料管理	叶面喷肥	叶绿
	对照	叶渐黄
光照控制	遮光50%~70%	90.5
	对照	78.2
温度控制	20~25℃	94.8
	<18℃或>28℃	65.4

注:处理方法为栽后前3d的管理。

试验结果表明:试管苗健化关键时期的水、肥等栽培条件的控制对于提高小苗成活率来说很重要。移栽后前3d的罩膜、叶面喷肥、遮光、控温处理能有效提高试管苗分健化期的成活率。

3 结论

3.1 东方百合组培快繁

以东方百合顶芽、鳞茎基部为组培快繁最好的

外植体;MS+BA1.5+NAA0.1为最佳诱导培养基;MS+BA1.5+NAA0.5为最佳增殖培养基;1/2MS+NAA0.3为最佳生根培养基。

3.2 东方百合试管苗健化栽培

珍珠岩+泥炭等份混合是试管苗健化最佳栽培基质。

移栽后前3d采取罩膜、喷施叶面肥、遮光及控温等措施,能使组培苗成活率达98%以上。

从东方百合的外植体接种到形成1株完整的小植株,约需要2.0个月,组培苗从出瓶经过1个生长期约5.5个月,其鳞茎周径就可达到9~10cm,与百合常规的种球繁殖相比,有很大的优势^[4]。也就是说,应用组织培养这项生物技术繁殖东方百合,能够在较短时间内获得大量优质健康种苗和切花种球,而且这项技术具备可操作性和可重复性。

参考文献

- [1]陈金政,龙雅宜.大百合的生物多样性及其引种观察.园艺学报,2002,29(5):462~466.
- [2]赵祥云,程廉.百合珠芽组培及脱毒研究.园艺学报,1993,20(3):284~288.
- [3]刘青林,原雅玲.百合品种一致性、稳定性和特异性研究.北京林业大学学报,2002,24(1):35~40.
- [4]王锦霞.利用冷凉气候进行百合种球复壮的研究.沈阳农业大学学报,2002,33(1):27~29.

神农架发现15种生物危及森林资源安全

神农架发现15种生物危及森林资源安全,其中危害较大的有8种。其中:外来有害生物1种——板栗疫病;本土有害生物7种——板栗大蚜、光肩星天牛、华山松大小蠹、栗瘿蜂、杨树炭疽病、竹丛枝病和槲寄生植物。另外,还有7种生物也构成了林区森林资源危害,它们是白杨叶甲、银杏大蚕蛾、棕掌舟蛾、黄连尺蠖、梨锈病、泡桐丛枝病、葛藤。神农架林管区野生动植物保护站已把这15种生物定为有害生物。

经过神农架林管局野生动植物保护站近两年多来的调查研究,调查森林总面积63.0万hm²,调查代表面积8.8万hm²,占有林地面积的59%。其中:调查天然林代表面

积7.3万hm²,占天然林面积10.1万hm²的71%;调查人工林代表面积1.5万hm²,占人工林面积2.3万hm²的62%。调查中发现:在国家林业局首次发布的233种林业危险性有害生物名单中,神农架林区就有板栗大蚜、日本龟蜡蚧、星天牛、光肩星天牛、桑天牛、云斑天牛、栗山天牛、山杨卷叶象、栗实象、核桃横沟象、臭椿沟眶象、华山松大小蠹、十二齿小蠹、杉肤小蠹、纵坑切梢小蠹、栗瘿蜂、杨树炭疽病、竹丛枝病、板栗疫病、黄花蒿、狗尾草、车前草、苍耳、无根藤、桑寄生植物、槲寄生植物等26种。在26种有害生物中,真正危及林区森林安全的只有以上15种。

(魏家锋)