

大理百合 (*Lilium taliense* Franch) 为百合科百合属植物, 多年生草本, 为中国特有种。花白色, 有紫色斑点, 花被片反卷。一般百合花顶成总状花序, 通常 1~4 朵, 大理百合单株着花量多达 30~40 朵, 在百合中堪称出类拔萃。大理百合既可食用, 也可观赏, 同时还具有药用价值, 它含多种活性多糖, 具有镇静、消炎、抗疲劳、改善呼吸功能、增强机体免疫功能^[1]。目前, 绝大多数百合以鳞茎繁殖, 不仅繁殖速度慢, 而且影响百合的食用品质和观赏价值。采用百合组织培养快繁技

术, 有利于大理百合的离体保存, 可使其复壮, 脱毒。关于百合的组织培养, 国内外已进行了大量的研究。最早的是 Dobreaux 等 (1950) 用纯白百合花蕾成功诱导出小

第一作者简介: 张艺萍 (1977-), 女, 硕士, 助理研究员, 主要从事组织培养技术和病害控制方面的研究。E-mail: blackfarinj@126.com。

基金项目: 云南省科技计划资助项目 (2006 NG14)。

收稿日期: 2007-03-28

害或突变。确定抗生素在培养基上是否有作用。使用时, 常因需要而多种混合或交替使用。

3.3.2 分生组织培养 主要是针对在植物内部寄主的病原菌。植株顶芽分生组织生长速度较快, 一般没有病原菌的存在。所以由分生组织培养的再生植株可有效避免潜在性污染。

3.3.3 利用培养基中高盐或高糖的浓度 在培养基中有一些高盐或高糖的浓度可抑制微生物生长, 或使用单宁酸也可以达到抑制效果。

3.3.4 利用水浸 在外植体处理过程中, 用流水清洗植株并短时间浸没, 以避免上面污染源的四处扩散。

3.3.5 抽样检测 对培养植株进行定期抽样检测, 将污染严重的个体去除。

4 在组织培养过程各个阶段所应注意事项

先做好一小批产品, 再进入批量生产, 最好每一单位为瓶, 使其各自为独立环境, 在发生污染时所造成的伤害不大。在各培养阶段应注意以下事项。

建立无菌体系: 只要在外植体进瓶阶段, 确保无菌体系的建立, 在培养后期污染的来源就只是来自技术上

大理百合组织培养和快速繁殖

张艺萍, 屈云慧, 吴学尉, 熊 丽

(云南省农业科学院 花卉研究所, 云南 昆明 650205)

摘要: 以大理百合的鳞片切块为外植体, 置于不同激素配比的培养基中培养, 结果表明, 诱导不定芽的培养基为 MS+BA 1.0 mg/L+GA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L, 不定芽增殖的最佳培养基为 MS+BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L, 诱导不定芽结小鳞茎的培养基为 MS+NAA 1.0 mg/L。

关键词: 大理百合; 鳞片; 组织培养; 快速繁殖

中图分类号: S 682.1⁺9 **文献标识码:** A

文章编号: 1001-0009(2007)08-0189-02

鳞茎, 随后 Robb (1957) 进行了两种百合鳞片组培研究。迄今, 国内外组织培养成功的百合种及品种已超过数百个。现以大理百合的鳞片作外植体进行离体培养, 获得了小鳞茎和再生植株^[2]。试验还通过瓶内结球技术, 得到了围径约 3 cm 大小的小鳞茎, 解决了百合试管苗过渡成活率低的问题。通过组织培养技术, 可以加速批量繁殖小鳞茎, 将其培植到适当大小, 部分回到原产地栽植, 还能寻找最适宜该种生长的环境, 建立新的种群基地、保护区, 同时还可对大理百合的开发利用提供一定的基础。

的失误, 容易进行控制。因此在外植体灭菌阶段要将病株去除, 选取幼嫩的组织是较好的选择。

在初期培养过程中, 发现的污染可能会蔓延整瓶培养基, 所以必须及时发现、及时清除。

在继代培养过程中, 及时清除污染的植株, 并重复分生组织的培养。

在每次繁殖操作前需对每瓶培养材料进行仔细观察, 根据污染的发生状况决定操作方法。必要时对培养材料进行取样检查。

5 讨论

在组织培养的过程中, 上流的技术会影响到下流的产量, 污染问题常在整个生产过程中占有较大的比例。污染的有效控制, 与建立一个良好的工作环境, 训练素质优良的员工和无菌体系的建立有直接的联系。

参考文献

- [1] 谭文澄, 戴策刚. 观赏植物组织培养技术 [M]. 北京: 中国林业出版社, 1991: 138.
- [2] 裘向尚. 花卉试管繁殖 [M]. 台湾: 五洲出版社, 1992: 112-116.
- [3] 熊丽, 吴丽芳. 观赏花卉的组织培养与大规模生产 [M]. 北京: 化工出版社, 2003: 92, 120-122.

1 材料与方法

1.1 材料

大理百合鳞茎鳞片。

1.2 方法

1.2.1 外植体消毒 取大理百合鳞片,用自来水冲洗干净后,无菌条件下0.1%升汞溶液浸泡消毒25~30 min,转入次氯酸钠消毒15~20 min,无菌水冲洗3遍。用无菌纸吸干材料上水分。在鳞片切口处去掉2~3 mm后,接入含不同植物激素的培养基中,50 d后统计结果。

1.2.2 不定芽的增殖 将诱导出的不定芽接入不同的培养基中增殖,30 d后统计结果。

1.2.3 不定芽瓶内结小鳞茎 将不定芽接入结球培养基中培养小鳞茎,60 d后统计结果。

1.2.4 培养条件 以MS为基本培养基,附加不同浓度的激素,pH 5.5~5.8(见表1),所有材料均在(25±1)℃下培养,每天光照12 h,光照强度1500~2000Lx。

表1 培养基成分

培养基编号	激素组合/mg·L ⁻¹	糖/%	琼脂/%	活性炭/%
1	BA 1.0+NAA 0.1	3	0.7	
2	BA 1.0+GA 1.0+NAA 0.1	3	0.7	
3	BA 0.5+GA 1.0+NAA 1.0	3	0.7	
4	BA 0.1+KT 0.1+NAA 0.1	3	0.7	
5	BA 0.5+NAA 0.5	3	0.7	
6	NAA 1.0	6	0.7	0.3
7	NAA 0.1	6	0.7	0.3
8	NAA 0.05	6	0.7	0.3
9		6	0.7	0.3

2 结果与分析

2.1 鳞茎鳞片不定芽的诱导和增殖

上述1~5号培养基用于诱导和增殖培养基的筛选,诱导不定芽的结果见表2,从表2中可以看出,2号培养基为最适宜的诱导培养基。鳞片接种在MS+BA 1.0 mg/L+GA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L培养基上,两周左右的鳞茎鳞片颜色由白变绿,约3周时鳞茎鳞片腹面膨胀,鳞片切口处出现单个或排列成数个的白色小突起(新产生不定芽),这些产生不定芽的鳞片可切割,置于MS附加不同浓度的激素培养基上增殖。

表2 不同培养基对鳞片不定芽的诱导效果

培养基编号	接种数	成芽数	诱导率/%
1	15	7	46
2	15	11	73
3	15	4	26
4	15	5	33
5	15	3	20

将鳞茎上的丛生芽切下接入培养基1~5中,结果见表3,从表3中可以看出,1号培养基为最适宜的增殖培养

基。培养了20 d之后,丛生芽迅速伸长增殖,形成丛生苗,25~30 d后,丛生苗增殖2~3倍,苗高2.5~4 cm。

表3 不同培养基对不定芽增殖的影响

培养基编号	接种总芽数	增殖总芽数	增殖倍数
1	20	60	3.00
2	20	41	2.05
3	20	39	1.95
4	20	33	1.65
5	20	28	1.40

2.2 不定芽瓶内结小鳞茎

为解决试管苗过渡成活率低的问题,研究采取了瓶内结球技术,试验了4种结球培养基,结果见表4,从表4中可以看出,8号培养基产生的小鳞茎最少,且围径较小;9号培养基产生的小鳞茎较少,且围径较小,7号培养基虽然产生的小鳞茎最多,但围径较小,且不易分割;6号培养基则为最适宜的结球培养基,小籽球围径在2~4 cm之间,根系发达,且形成的小鳞茎较多。小籽球出瓶包装后经过约3个月的贮藏,便可直接下地栽培,再通过田间种植,形成可作开花的商品鳞茎,大大缩短了种球培育时间。

表4 不同培养基对不定芽形成鳞茎的影响

培养基编号	接种数	鳞茎形成数	鳞茎平均周径/cm
6	15	25	3.0
7	15	31	2.5
8	15	20	1.5
9	15	23	1.7

3 小结与讨论

试验研究了大理百合的离体培养和快速繁殖,其中诱导不定芽的培养基为MS+BA 1.0 mg/L+GA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L,不定芽增殖的最佳培养基为MS+BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L,诱导不定芽结小鳞茎的培养基为MS+NAA 1.0 mg/L。

用鳞茎繁殖百合,周期长,一般长出小鳞茎需要3 a,由小鳞茎长成商品百合则需5~6 a。不仅速度慢,而且过冬鳞茎不易保存。用组织培养法,不受季节限制,可全年培养,高速繁殖^[3]。大理百合既可食用,又具有药用价值和观赏价值,在育种上也有其应用价值,研究筛选出了大理百合的最佳诱导培养基、增殖培养基和结球培养基,对大理百合的保存和开发利用具有一定的意义。

参考文献

- [1] 周静华,李芬,汪祖芳. 大理百合中多糖的提取与总糖含量的测定[J]. 临床和实验医学杂志,2006(5):735.
- [2] 穆鼎. 观赏百合-生理、栽培、种球生产与育种[M]. 北京:中国农业出版社,2005:89.
- [3] 吴旭红. 毛百合的组织培养和快速繁殖[J]. 生物学杂志,2003,20(6):47.