

## 百合鳞片组织培养生产操作规程

Technical regulation for the production of lily scale tissue culture

(草稿)

2025.01

2025-XX-XX 发布

2025-XX-XX 实施

## 前 言

本文件按照 GB/T 1.1-2020《标准化工作导则 第 1 部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由辽宁省农业农村厅提出并归口。

本文件起草单位：辽宁省农业科学院，辽宁省农业发展服务中心。

本文件主要起草人：杨迎东，胡新颖，宋国柱，贾慧群，周俐宏，李雪艳，白一光，王丽静，李伟，王伟东，张睿琪，李世娟，程海龙，张玉明，董岩。

本文件发布实施后，任何单位和个人如有问题和意见建议，均可以通过来电和来函等方式进行反馈，我们将及时答复并认真处理，根据实际情况依法进行评估及复审。

归口管理部门联系方式：辽宁省农业农村厅（沈阳市和平区太原北街 2 号），联系电话：024-23447862。

文件起草单位联系方式：辽宁省农业科学院（沈阳市东陵路 84 号），联系电话：024-31025677。

# 百合鳞片组织培养生产技术规程

## 1 范围

本标准规定了以百合鳞片为外植体进行组织培养过程中的外植体选择、消毒、接种方式，基本培养基选择，初代诱导培养、结球培养、增殖扩繁、生根培养中添加植物生长调节剂种类与浓度，培养条件，出库变温处理及炼苗移栽等技术内容。

本文件适用于以百合鳞片为外植体进行离体培养与扩繁的组培小鳞茎工厂化生产。

## 2 规范性引用文件

本文件没有规范性引用文件。

## 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

### 3.1

**植物组织培养** plant tissue culture

在无菌条件下，将离体的植物器官、组织、细胞或原生质体，培养在人工配制的培养基上，人为控制培养条件，使其生长、分化、增殖，发育成完整植株或生产次生代谢物质的过程和技术。

### 3.2

**外植体** explant

用于离体培养的细胞、组织或器官（茎、叶、花器官等）统称为外植体。

### 3.3

**培养基** culture medium

提供植物生长发育所需各种养分的介质，主要包括水、无机盐、有机物、凝固剂以及植物生长调节物质等组成。

### 3.4

**初代诱导培养** primary culture

外植体初次接种到培养基中，诱导分化出不定芽、愈伤组织、不定根、小鳞茎等的培养过程。

### 3.5

**结球培养** bulblet expand culture

初代培养获得的小鳞茎转接到添加特定物质的培养基中，促进小鳞茎膨大生长，形成大规格鳞茎的过程。

### 3.6

#### 增殖扩繁 multiplication and propagation

将试管小鳞茎转接到增殖培养基中，促进试管苗数量扩增，加速繁殖的过程。

### 3.7

#### 生根培养 rooting culture

培养材料达到一定数量，大小符合移栽规格要求时，转接到生根培养基中诱导生根，培养生根苗的过程。

### 3.8

#### 变温处理 poikilothermic treatment

生根的试管小鳞茎移栽前，需经过常温-低温-常温的变温处理过程，使其打破休眠和更好的适应外界环境变化。

### 3.9

#### 炼苗移栽 acclimatization and transplant

在条件可控的保护设施中，采取逐步通风、控温、遮光、保湿等措施，使幼苗逐步适应外界环境，将小鳞茎从瓶中取出，经过清洗、消毒、沥干水份等操作栽植于培养基质中的过程。

## 4 外植体的选择与消毒

### 4.1 外植体的选择

国外进口经病毒检测无毒的百合种球，种球周径大于 12cm，选取健康、无机械损伤和病虫害鳞茎的中、外层鳞片为外植体。

### 4.2 外植体消毒

洗净鳞片表面泥土等污物，洗衣粉水浸泡20 min~30 min，流水冲洗至少30 min，将鳞片放入无菌培养瓶中盖严盖子，放置到超净工作台上。取无菌烧杯，用酒精灯灼烧杯口和瓶身消毒，将鳞片倒入烧杯中，加入75%酒精，没过鳞片，匀速晃动消毒30 s~45 s（时间根据鳞片大小确定）。倒掉酒精，加入2%次氯酸钠，没过鳞片，匀速晃动消毒15 min~20 min（时间根据鳞片大小确定），倒掉次氯酸钠溶液，加入无菌水，没过鳞片，匀速晃动清洗3 min，倒掉废液，反复清洗3次~6次。

## 5 基本培养基和培养条件

### 5.1 基本培养基

以 MS 固体培养基为基本培养基，pH 值 5.8，121 °C 高压灭菌 20 min。

## 5.2 培养条件

培养温度 (25±1) °C，24 h 全黑暗闭光培养。

## 6 外植体接种

接种前将镊子、接种刀在酒精灯上灼烧消毒，晾凉备用。将鳞片置于接种盘上，周边组织切去 0.2 cm，切成 1.0 cm×1.0 cm 的小块。打开培养瓶前先用酒精灯烧烤瓶盖 3 s~5 s，打开瓶盖，灼烧瓶口 3 s~5 s，然后将鳞片切块用消毒过的镊子夹取放入培养基中，凹面向上放置，切块与培养基充分接触。

## 7 初代诱导培养

以 MS 培养基为基本培养基，添加不同种类和浓度的植物生长调节剂，直接诱导小鳞茎。根据百合不同品种，培养基内添加的 NAA、BA、2,4-D、KT 等植物生长调节剂种类和浓度有所不同。

## 8 结球培养

诱导形成的小鳞茎长至直径约 0.3 cm~0.5 cm 时，转接到结球培养基中培养，200 ml 的果酱瓶每瓶放 6 个小鳞茎为宜。结球培养基以 MS 培养基为基本培养基，添加 90 g·L<sup>-1</sup> 蔗糖，其他培养条件不变。以 60 d~90 d 为一个培养周期，继代培养 2 次~3 次，小鳞茎直径达到 1 cm 进入增殖扩繁培养。

## 9 增殖扩繁

将结球培养得到的大鳞茎中外层鳞片剥下 3~4 片，凹面向上，接种到初代诱导培养基中，每瓶 3~5 片，待诱导形成小鳞茎后同样重复结球培养、增殖扩繁操作，实现组培小鳞茎工厂化周年繁育。

## 10 生根培养

小鳞茎周径达到 1 cm，数量满足生产需求时开始生根培养阶段。生根培养基以 1/2 MS 培养基为基本培养基，根据百合不同品种，添加 IBA、NAA 等植物生长调节剂的种类和浓度有所不同。将小鳞茎老根切去，转接到生根培养基中，其他培养条件不变，转接 20 d 后新根长到 1.5 cm~2.0 cm 即可出库进行变温处理。

## 11 变温处理

将生根的小鳞茎瓶苗由培养室转移到15℃条件下1w，再转移到2℃~5℃低温条件下2个~3个月打破休眠，定植前7 d将瓶盖打开，在15℃条件下炼苗。

## 12 炼苗移栽

15℃条件下炼苗7天后，将小鳞茎从瓶中取出，洗净根部附着的琼脂，在50%咪鲜胺锰盐1000倍液+1%申嗪霉素1000倍液中浸泡30 min，栽植于草炭+蛭石+珍珠岩（体积比为6:2:1）的混合基质中，定植容器内先装入基质15 cm，然后将小鳞茎均匀摆放在基质上，上面覆盖基质5 cm~8 cm，用木板将表面压平，种植箱置于连栋温室或日光温室内的育苗床上，浇透水。

## 13 数据记录

从外植体接种到小鳞茎移栽再到田间定植，每一步操作都需详细记录相关信息，形成《百合组培小鳞茎培养记录表》（表A.1）和百合组培小鳞茎出库炼苗移栽记录表（表A.2），建立组培小鳞茎溯源管理体系，负责人定期收回表格存档，信息录入电脑，形成纸质档案和电子档案。

## 附 录 A

(资料性)

## 百合组培小鳞茎培养信息表

对百合鳞片组织培养繁殖小鳞茎过程中，小鳞茎培养记录按表 A.1 内容记录。

表 A.1 百合组培小鳞茎培养记录表

品种	接种日期	诱导培养基	继代日期	继代培养基	生根日期	生根培养基	记录人

百合组培小鳞茎出库炼苗移栽按表 A.2 内容记录。

表 A.2 百合组培小鳞茎出库炼苗移栽记录表

品种	接种日期	出库日期	出库数量(瓶)	变温处理时间	炼苗日期	定植日期	定植后标牌信息	记录人