

# 河北峨眉蕨孢子组织培养与繁殖技术研究

付伟<sup>1</sup>, 叶嘉<sup>1</sup>, 焦云红<sup>1</sup>, 王福明<sup>2</sup>, 张慧敏<sup>2</sup>

(1. 邯郸学院 生物科学系 河北 邯郸 056005; 2. 邯郸市园林局 河北 邯郸 056002)

**摘要:**以野生观赏植物河北峨眉蕨的孢子为材料,建立组培快繁体系。结果表明:河北峨眉蕨孢子萌发的最适培养基为1/2MS,原叶体增殖最适培养基为MS+6-BA 0.2 mg/L+NAA 0.2 mg/L,孢子体诱导最适培养基为MS+IAA 1.0 mg/L,最适生根培养基为MS+IBA 1.0 mg/L。

**关键词:**河北峨眉蕨;组织培养;孢子繁殖

**中图分类号:**S 682.35 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2010)10-0178-03

河北峨眉蕨(*Lunathyrium vegetius* (Kitag.) Ching) 属蹄盖蕨科(Athyriaceae)峨眉蕨属(*Lunathyrium* Koidz)植物。株高60~80 cm,根状茎短而直立<sup>[1]</sup>。叶簇生,柄长约20 cm,禾秆色或深禾秆色;叶片狭卵状披针形,二回羽状深裂,先端渐尖,沿叶轴、羽轴与中脉疏生短毛;中部羽片长约9 cm,宽1~1.5 cm,下部3~4对羽片略缩短;裂片全缘或仅顶部有数个小圆钝齿。孢子囊群长圆形,囊群盖新月形。分布于河北、河南、陕西等省。株型美观,叶色青翠,可做盆栽,或种植于荫坡,是具有开发潜力的园林绿化植物。由于野生资源日益减少,利用其孢子采用细胞培养的方法进行繁殖,建立快繁体系不仅对于保护野生资源有重要意义,而且对于河北峨眉蕨的园林应用具有广泛的开发利用价值。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

试验所用孢子于2007年8月中旬采自邯郸市西部山区的武安梁沟地区。选取孢子囊呈浅褐色的叶片剪下,装入牛皮纸袋中带回,自然风干,待孢子脱落后收集于硫酸纸袋内。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 无菌材料的获得** 将孢子用滤纸包好,放于超净工作台上,用无菌水冲洗2遍,再用75%酒精消毒10 s,用无菌水冲洗1~2次,最后用0.1%升汞浸泡10 min后用无菌水冲洗3~5次。

**1.2.2 原叶体的诱导和增殖培养** 打开滤纸将滤纸上的孢子用少量无菌蒸馏水冲入小烧杯中,混合均匀后立即用灭菌滴管吸取4滴,均匀滴于孢子萌发培养基上。

### 1.3 培养条件

孢子萌发培养基分别以MS、1/2MS、1/4MS为基本培养基;球状体增殖、丛生苗诱导、生根培养以MS为基本培养基,附加不同浓度的6-BA、IAA、NAA等激素。以上基本培养基均添加蔗糖(30 g/L)和琼脂(7 g/L),pH 5.8。培养温度(25±1)℃,光照时间为14 h/d,光强800~1 500 lx。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同培养基对孢子萌发的影响

将处理后的孢子接种于MS、1/2MS、1/4MS培养基上,不同培养基均可使孢子萌发,其中1/2MS培养基上的孢子萌发时间最短为21 d,MS和1/4MS培养基上的孢子萌发时间为30 d和41 d,说明无机盐浓度适中的培养基有利于孢子的萌发,无机盐浓度过低或过高均会延长孢子的萌发时间。这与徐艳等对白玉凤尾蕨孢子萌发的研究结果相似<sup>[2]</sup>。因此,河北峨眉蕨孢子萌发的最适培养基为1/2MS。1/2MS培养基上的孢子在21 d后观察到有绿色小点出现,35 d在培养基表面出现被有大量白色针毛的绿色球状体。将球状体放于解剖镜下观察,发现由多个原叶体聚集在一起形成。球状体上不断形成新的原叶体,使球状体的体积逐渐增大,但增大速度缓慢。

### 2.2 球状原叶体增殖

当球状体直径为5 mm左右时,将其转接于增殖培养基中(图1,表1)。球状体在增殖培养基中生长迅速,由表1可见,球状体在添加不同浓度培养基上培养40 d后的生长情况。当6-BA浓度为0.2 mg/L时,添加浓度为0.1~1.0 mg/L的NAA均可使球状体增大5~6倍,其中以NAA 0.2 mg/L效果最好。因此,球状体增殖的最适培养基为MS+6-BA 0.2 mg/L+NAA 0.2 mg/L。当球状体直径为15 mm左右时,可将其切割成4~5个5 mm×5 mm的小立方块转入最适培养基中进行增殖培养,增殖的原叶体均生长良好,颜色翠绿,未出现褐化

**第一作者简介:**付伟(1978-),女,硕士,讲师,现主要从事野生植物引种驯化的研究工作。E-mail:fwximei@126.com。

**基金项目:**邯郸市科学技术研究与发展规划资助项目(200610102)。

**收稿日期:**2010-03-01

现象。通过 40 d 的培养可获得大量球状体, 实现原叶体的快速繁殖。

表 1 不同浓度配比激素对河北峨眉蕨增殖的影响

激素浓度		接种原叶体数/个	原叶体平均直径/mm
6 BA/ mg · L <sup>-1</sup>	NAA/ mg · L <sup>-1</sup>		
0.2	0.1	100	15.1
0.2	0.2	100	19.4
0.2	0.5	100	18.3
0.2	1.0	100	17.3

2.3 孢子体的诱导

将球状原叶体切割成直径 7 mm 左右的小块, 转接于孢子体诱导培养基中, 同时要使培养环境的湿度保持在 60% 以上, 以促进孢子体的形成。20 d 天后可见球状体上长出拳卷幼叶, 30 d 后统计丛生苗诱导情况。



图1 增殖培养基



图2 丛生苗长势

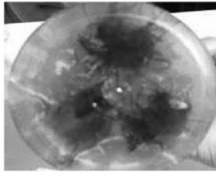


图3 生根培养

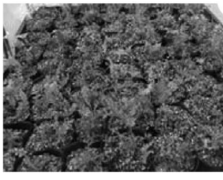


图4 混合基质中移栽植株



图5 单株

2.4 生根培养

将丛生苗移至生根培养基 4 中(3 块/瓶, 共 34 瓶), 培养观察并记录。20 d 后可见幼根生出, 30 d 后不同浓度激素对生根的影响见表 3。由表 3 可知, MS+IAA 1.0 mg/L 培养基比较适合于丛生苗的生根培养。丛生苗萌发出许多根, 且叶片也迅速生长, 当根长至 3 cm 左右时即可移栽练苗(图 3)。

表 3 不同浓度 IBA 对河北峨眉蕨生根的影响

IBA 浓度/ mg · L <sup>-1</sup>	接种丛生苗数/株	生根数/条	生根率/%
0.5	102	64	63
1.0	102	79	88
1.5	102	80	78
2.0	102	66	65
2.5	102	50	49

3 试管苗移栽与管理

当丛生苗高 2~4 cm, 生根数为 10~20 条, 根长约 3 cm 时, 即可移栽。移栽前将棉塞去掉在培养间放置 2 d, 此时空气湿度应保持在 85% 左右。用镊子将苗小心取出, 用清水洗净根部的培养基。将由 1 个球状体形成的丛生苗分割成 3~5 组, 栽于含有蛭石基质的小花盆中, 其上覆盖塑料薄膜遮荫, 保证温度在 20℃ 左右

表 2 不同浓度 IAA 对河北峨眉蕨孢子体诱导的影响

序号	IAA 浓度 / mg · L <sup>-1</sup>	接种球状体数 / 个	出叶数	苗分化率 / %
1	0.2	102	76	75
2	0.5	102	89	87
3	1.0	102	96	94
4	1.5	102	68	67
5	2.0	102	56	55

由表 2 可知, IAA 浓度为 0.2~0.5 mg/L 时孢子体诱导率不如 1.0 mg/L 时高。当超过 1.0 mg/L 时, 诱导率反而会降低。因此 MS+IAA 1.0 mg/L 培养基为诱导孢子体产生的最适培养基。在最适培养基中丛生苗长势旺盛, 颜色翠绿(图 2)。

(图 4)。若在秋冬较干燥的季节要每天喷水使其环境湿度保持在 80% 左右。15 d 后即可移入蛭石、田园土、泥炭土 1:1:1 的混合基质中, 此时仍要注意遮荫保湿。30 d 后可移到苗圃进行常规管理。此种方法移栽的试管苗成活率在 95% 以上(图 5)。

4 结论与讨论

河北峨眉蕨孢子萌发的最适培养基为 1/2MS, 原叶体增殖最适培养基 MS+6-BA 0.2 mg/L+NAA 0.2 mg/L, 孢子体诱导最适培养基为 MS+IAA 1.0 mg/L; 最适生根培养基为 MS+IBA 1.0 mg/L。河北峨眉蕨组培苗在含有蛭石的基质中长势良好, 成活率可达 95% 以上。此方法可满足生产上对种苗的大量需求, 为河北峨眉蕨工厂化生产和种质资源保存提供了技术保障, 同时为其生理生态的研究奠定了基础。

参考文献

[ 1 ] 河北植物志编辑委员会. 河北植物志[ M ]. 石家庄: 河北科学技术出版社 1986.  
[ 2 ] 徐艳, 石雷, 刘燕, 等. 白玉凤尾蕨孢子繁殖技术的研究[ J ]. 园艺学报, 2005, 32(4): 658-662.

Tissue Culture of Spores and Rapid Propagation of *Lunathyrium vegetius* (Kitag.) Ching.

FU Wei<sup>1</sup>, YE Jia<sup>1</sup>, JIAO Yun-hong<sup>1</sup>, WANG Fu-ming<sup>2</sup>, ZHANG Hui-min<sup>2</sup>

(1. Department of Biology Science, Handan College, Handan, Hebei 056005; 2. Bureau of Parks and Woods, Handan, Hebei 056002)

# 索尔邦百合试管鳞茎的诱导

祁宏英, 徐洪国, 张 志

(齐齐哈尔大学 生命科学与农林学院 黑龙江 齐齐哈尔 161006)

**摘 要:**以东方百合‘索尔邦’鳞片为外植体,研究了不同因子对百合试管鳞茎的诱导及快速繁殖的影响。结果表明:鳞片不同部位对分化率影响的大小依次为:外层下部>外层中部>中层下部>外层上部>中层中部>内层下部>中层上部>内层中部>内层上部,分化率最高的部位为外层下部;百合鳞片诱导分化的最佳培养基为MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 1.0 mg/L+蔗糖 30 g/L,最适 pH 5.8,分化率为 88.3%。

**关键词:**组织培养;鳞茎;百合;索尔邦

**中图分类号:**S 682.2<sup>+</sup>9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2010)10-0180-02

百合(*Lilium* spp.)为百合科(Liliaceae)百合属(*Lilium*)多年生鳞茎类球根花卉,百合花大芳香,花型优美、色彩丰富,是目前世界上最受欢迎的高档花卉之一<sup>[1-2]</sup>,常采用传统的鳞茎球繁殖,繁殖速度缓慢<sup>[3-4]</sup>,在短期内难以满足市场需求,而且这种繁殖方法会导致鳞茎逐年变小退化<sup>[5]</sup>,百合组培苗具有繁殖系数高、周期短等优点,刚好弥补了种球繁育的不足,而且容易保持原品种的优良观赏特性<sup>[6]</sup>,对保护此品种资源具有重要的理论意义和实践意义。

该试验采用东方百合‘索尔邦’(*Lilium oriental* ‘Sorbonne’)的鳞片为外植体,对小鳞茎的诱导因子进行研究,以期建立百合小鳞茎大量繁殖的技术流程,为国内百合商品种球的大量生产提供理论与技术支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

选取无病虫害的、外观整齐干净的光滑的百合‘索尔邦’鳞片作为外植体。

### 1.2 试验方法

剥取鳞片,将鳞片分成外、中、内3层,最外1~2层为外层,3~6层为中层,剩下的为内层。将每一层次分别等分为上、中、下3个部位,鳞片外植体即划分为9个

部位(见表1),在超净工作台上将冲洗好的百合鳞片用75%的酒精浸泡1 min,然后用0.1%升汞消毒20 min,再用无菌水冲洗6次后,用无菌滤纸吸干水分后备用。在无菌条件下,将消毒好的鳞片切成10 mm×10 mm的小块,远轴面向下接种到MS培养基上。以预备试验中筛选出的最佳鳞片为外植体,以MS为基本培养基,进行不同浓度6-BA和NAA外源激素配比(见表2),30 d后统计鳞片分化芽数和分化外植体数。

## 2 结果与分析

### 2.1 百合鳞片不同部位对小鳞茎诱导的影响

不同鳞片部位与离体小鳞茎形成的关系很密切,有些部位离体小鳞茎分化率高,有些部位离体小鳞茎分化率低。供试的9个部位中百合鳞片外层下部分化率最高,达88.3%,其次为百合鳞片外层中部,分化率为78.3%,百合鳞片内层上部没有分化出小鳞茎。由表1可以看出,鳞片不同部位对分化率影响的大小依次为:外层下部>外层中部>中层下部>外层上部>中层中部>内层下部>中层上部>内层中部>内层上部,分化率最高的部位为外层下部。经分析可以看出,下部>中部>上部,下部是分化最具潜力的部位,这很可能是因为下部与叶芽分化原基较近,叶芽原基具有很高的分化性,从而使下部具有了比其它部位更高的分化潜能。因此选择材料时,应该选择健康、外观整齐干净的肥厚的外层下部鳞片作为外植体。

**第一作者简介:**祁宏英(1976-),女,硕士,讲师,研究方向为园艺植物栽培与育种。E-mail: qihongying1976@163.com.

**收稿日期:**2010-03-01

**Abstract:** The mature spores of wild plant *Lunathyrium vegetius* (Kitag.) Ching. were used as explants, tissue culture and rapid propagation were investigated. The results showed that 1/2MS was suitable for inducing, and MS+6-BA 0.2 mg/L+NAA 0.2 mg/L was suitable for the propagation of prothallus, MS+IAA 1.0 mg/L was suitable for the induction of sporophyte, MS+IBA 1.0 mg/L was suitable for rooting.

**Key words:** *Lunathyrium vegetius* (Kitag.) Ching.; tissue culture; gametophyte development