

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。

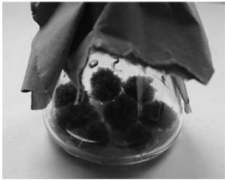


图1 增殖培养基



图2 丛生苗长势

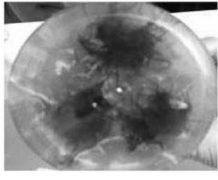


图3 生根培养

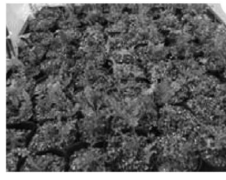


图4 混合基质中移栽植株



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

表 1 百合鳞片不同部位对小鳞茎诱导的影响

培养基编号	接种数/个	鳞片部位	分化率/%	分化数/个
1	60	外层上部	48.3 <sup>a</sup> C	2.1
2	60	外层中部	78.3 <sup>ab</sup> AB	3.8
3	60	外层下部	88.3 <sup>a</sup> A	4.4
4	60	中层上部	18.3 <sup>d</sup> D	0.6
5	60	中层中部	40.0 <sup>c</sup> C	1.6
6	60	中层下部	68.3 <sup>b</sup> B	2.8
7	60	内层上部	0 <sup>e</sup> E	0
8	60	内层中部	5.0 <sup>d</sup> E	0.2
9	60	内层下部	20.0 <sup>d</sup> D	0.8

注 培养基为 MS 培养基+6-BA 2.0 mg/L+NAA 1.0 mg/L+蔗糖 30 g/L; LSR 检验,大写字母表示  $P\leq 0.01$  差异显著水平,小写字母表示  $P\leq 0.05$  差异显著水平,字母相同表示差异不显著,下同。

表 2 不同激素对比对百合鳞片小鳞茎诱导的影响

培养基编号	6-BA	NAA	分化率
	/mg·L <sup>-1</sup>	/mg·L <sup>-1</sup>	/%
1	3.0	0.5	58.3 <sup>b</sup> BCD
2	3.0	1.0	76.7 <sup>ab</sup> ABC
3	3.0	1.5	48.3 <sup>cd</sup> CD
4	2.0	0.5	80.0 <sup>ab</sup> AB
5	2.0	1.0	93.3 <sup>a</sup> A
6	2.0	1.5	76.7 <sup>ab</sup> ABC
7	1.0	0.5	45.0 <sup>d</sup> DE
8	1.0	1.0	65.0 <sup>b</sup> ABCD
9	1.0	1.5	35.0 <sup>d</sup> DE

2.2 不同激素配比与百合鳞片小鳞茎诱导的关系

由表 2 可知,不同激素对比对百合鳞片诱导分化的影响显著,其中以 5 号(6-BA 2.0 mg/L、NAA 1.0 mg/L)的配比组合中的百合小鳞茎分化率最高,为 93.33%,分化率最低的为 9 号(6-BA 2.0 mg/L、NAA 1.0 mg/L)配比方案,由此可以得出,6-BA 与 NAA 配合使用能够诱导百合分化出不定芽,以 6-BA 2.0 mg/L+NAA 1.0 mg/L 配比时分化率和分化数最高。随着 6-BA 含量的增加,小鳞茎的分化率也在增加,当 6-BA 的浓度达到 2.0 mg/L 时,小鳞茎的分化率达到最高,但如果 6-BA 的含量继续增加,分化率则出现大幅下降的现象;同时从 NAA 的数据也可以得出和 6-BA 相似的结

论,它的峰值出现在含量为 1.0 mg/L 时,这说明 6-BA 和 NAA 都对诱导起到了重要作用。所以对百合鳞片诱导分化的理想激素配比为 5 号培养基,即 MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 1.0 mg/L。

3 结论与讨论

对‘索尔邦百合’而言,组织培养采用肥厚鳞茎内部的薄而嫩的鳞片为外植体接种。不同部位的百合鳞片分化成芽能力有明显差异,分化能力大小依次为内下部>中下部>内上部>外下部>中上部>外上部。这与张施君等<sup>[7]</sup>对亚洲百合鳞片的组织培养研究中发现鳞片诱导芽的能力从强到弱依次为下部>上部类似。

诱导外植体形成不定芽时,一般使用细胞分裂素浓度高于生长素的配比,但过高浓度的细胞分裂素容易使芽的增殖能力降低,而且也使其遗传性难以稳定,一般认为 MS 培养基较适于百合离体培养,添加外源素以 6-BA 和 NAA 配比为佳。该试验表明,‘索尔邦’百合组培使用的最佳分化培养基为 MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 1.0 mg/L 可得到很高的分化率。

参考文献

[1] 徐跃进,胡春根.园艺植物育种学[M].北京:高等教育出版社,2007:232-233.  
[2] 徐品三,刘华夏.无病毒百合组培种球快速繁殖体系的建立[J].中国农学通报,2009,25(09):174-178.  
[3] 李守丽,石雷,张金政,等.百合育种研究进展[J].园艺学报,2006,33(1):203-210.  
[4] 马纯艳.有斑百合叶片的组织培养[J].沈阳师范学院学报(自然科学版),2002,20(3):219-221.  
[5] 刘堂茂,廖小红.百合的组织培养与扦插繁殖[J].韶关学院学报,2005,26(9):91-92,130.  
[6] 周蕴薇,刘芳.百合种球发育及膨大的研究进展[J].北方园艺,2007(2):53-56.  
[7] 张施君,王凤兰,周厚高,等.新铁炮百合和金百合的组织培养与快速繁殖技术[J].湖南农业大学学报(自然科学版),2004,30(2):135-137.

Bulblet Induction in vitro of Lilium

QI Hong-ying, XU Hong-guo, ZHANG Zhi

(College of Life Sciences and Agriculture and Forestry, Qiqihar University, Qiqihar, Heilongjiang 161006)

**Abstract:** Using the bulb scales as the explants. The induction of bulbs in tube was studied. The results showed that the scales in different parts had different rate of induction of bulbs as follows the lower part of the outer layer> the central of the outer> the lower of the middle part> the outer upper> the middle of the central> the lower part of the inner> the upper of the middle-level part> the inner layer of the middle-level part> the upper part of the inner, the highest differentiation rate was the lower part of the outer layer; MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 1.0 mg/L+sucrose 30 g/L, pH 5.8 was the best medium induced differentiation for Lilium scales.

**Key words:** tissue culture; bulblet; Lilium; sorbonne