

野生卷丹试管鳞茎的组织培养研究

朱素琴, 季本华, 谢焕松, 曹云英

(南通大学生命科学学院, 江苏南通 226007)

摘要: 以野生卷丹珠芽为材料, 研究了不同浓度激素对比试管苗和小鳞茎诱导、增殖的影响。结果表明, 试管苗诱导的最佳培养基为 MS + 1.0 mg/L 6-BA + 0.1 mg/L NAA, 增殖的最佳培养基为 MS + 1.0 mg/L 6-BA + 0.2 mg/L NAA; 试管小鳞茎诱导、增殖的最佳培养基为 MS + 1.0 mg/L 6-BA + 2.0 mg/L NAA。

关键词: 卷丹; 试管鳞茎; 组织培养

中图分类号: S681.903.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1002-1302(2006)01-0101-02

卷丹(*Lilium lancifolium* Thunb.) 属百合科百合属多年生草本植物, 上部叶腋具珠芽, 鳞茎集补品、药品、食品为一身, 发展前景极为广阔。长期以来, 卷丹主要以鳞片、小鳞茎、珠芽繁殖, 繁殖率低。珠芽繁殖需 2 年, 小鳞茎繁殖需 1~2 年, 鳞片繁殖需 3 年。因卷丹结实率低或不结实, 除杂交育种外, 不采用种子繁殖。组织培养具有去病毒、繁殖快的优点, 但瓶苗移栽成活率低, 容易重新感染病毒。采用试管内形成鳞茎的组培方法, 可提高成活率, 降低污染和减少感染病毒的概率, 并有利于种质保存。本试验对卷丹试管鳞茎组织培养进行了研究。

1 材料与方法

1.1 材料

卷丹采自江苏省南通市军山, 现种植于南通大学生物园网室内。

1.2 方法

1.2.1 外植体的消毒 2004 年 5~6 月份, 从卷丹植株叶腋处摘取健康饱满的珠芽作为外植体, 用自来水冲洗干净, 在超净工作台上用 70% 酒精浸泡 20 s, 再用 0.1% 升汞溶液浸泡 10 min, 无菌水冲洗 5 次, 用消毒滤纸吸干表面水分后, 接种于培养基上。

1.2.2 芽的诱导培养基 (1) MS + 0.5 mg/L 6-BA + 0.05 mg/L NAA; (2) MS + 1.0 mg/L 6-BA + 0.1 mg/L NAA; (3) MS + 1.5 mg/L 6-BA + 0.2

mg/L NAA; (4) MS + 2.0 mg/L 6-BA + 0.2 mg/L NAA; (5) MS + 1.0 mg/L 6-BA + 0.05 mg/L NAA; (6) MS + 1.0 mg/L 6-BA + 0.2 mg/L NAA; (7) MS + 1.0 mg/L 6-BA + 0.5 mg/L NAA。共设 7 个处理, 每个处理接 10 个外植体, 重复 4 次。

1.2.3 小鳞茎的诱导、增殖培养基 (8) MS + 1.0 mg/L 6-BA + 2.0 mg/L NAA; (9) MS + 1.0 mg/L 6-BA + 2.5 mg/L NAA; (10) MS + 2.0 mg/L 6-BA + 2.0 mg/L NAA。

1.2.4 生根培养基 (11) 1/2MS + 0.5 mg/L NAA; (12) 1/2MS + 0.5 mg/L NAA + 0.2% 活性炭; (13) 1/2MS + 0.1 mg/L NAA; (14) 1/2MS + 0.1 mg/L NAA + 0.2% 活性炭。

所有培养基均添加 0.7% 琼脂和 3% 蔗糖, pH 值 5.8~6.0。

1.2.5 培养条件 培养温度(25±2)℃, 光照 12 h/d, 光照度 2 000 lx 左右。

2 结果与分析

2.1 芽的诱导分化

将消毒好的珠芽切成 5 mm×5 mm 的小块接种到培养基(1)~(7)中。接种 3~5 d 后, 珠芽开始膨大, 并逐渐长出淡黄色颗粒状的愈伤组织; 15 d 后形成 3~6 个聚生在一起的芽丛, 25 d 后芽丛伸出绿叶长成无根苗。接种 25 d 后, 统计每种培养基诱导芽的情况, 结果见表 1。培养基(2)中芽的分化、生长情况最好, 每个外植体平均增殖 4.3 个芽, 分化出的芽数为 3~9 个不等, 芽高可达 2.4 cm, 长势粗壮, 颜色鲜绿, 且下端有圆球状突起; 培养基(5)、(6)、(7)上芽生长也较好, 25 d 后芽高可达 1.9 cm

收稿日期: 2005-06-27

基金项目: 江苏省南通市科技创新项目(编号: L1023)。

作者简介: 朱素琴(1969—), 女, 江苏启东人, 硕士, 副教授, 主要从事光合逆境生理和植物组织培养研究。Tel: (0513) 85015898; E-mail: nttc999@163.com。

左右,长势也很好,只是分化数较(2)略少;培养基(1)、(3)、(4)上芽长势较差,生长缓慢。

表 1 不同浓度激素对比对卷丹诱导芽的影响

培养基	接种数 (个)	产生芽的 外植体个 数(个)	芽诱导 百分率 (%)	平均增 殖芽数 (个/块)	芽苗平 均高度 (cm)	芽苗 长势
(1)	40	32	80	2.1	1.1	细弱
(2)	40	40	100	4.3	2.4	粗壮
(3)	40	36	90	2.2	1.2	细弱
(4)	40	36	90	2.5	1.6	较细
(5)	40	40	100	3.4	1.8	较粗
(6)	40	40	100	3.6	1.9	粗壮
(7)	40	40	100	3.6	1.9	较粗

2.2 继代增殖培养

待苗长到 3 cm 左右时,将其分成单株,转接到增殖培养基(2)、(5)、(6)、(7)上,对这 4 种培养基上芽的分化率、分化系数及长势、颜色变化情况分析比较,筛选出最适宜丛生芽分化及继代增殖的培养基为(6)号,即 MS + 1.0 mg/L 6-BA + 0.2 mg/L NAA,在此培养基中培养 10~15 d 后,从芽苗基部长出丛生芽,每个芽苗可分化出 5~10 个芽,平均 20 d 增殖一次。无根苗在此培养基中生长茁壮,叶色浓绿。

2.3 小鳞茎的诱导

将生长 1 个月的丛生芽切分成单芽,接种到培养基(8)、(9)、(10)上,10 d 后芽底部开始部分愈伤化,上半部叶片开始变黄枯萎,下半部颜色逐渐变深、变肥厚,并且向内包紧,约 1 个月后叶片完全干枯,形成深绿色鳞片紧包的小鳞茎。接种 30 d 后,统计每种培养基中产生的小鳞茎数,结果(表 2)表明:(8)号培养基,即 MS + 1.0 mg/L 6-BA + 2.0 mg/L NAA 组合对小鳞茎的诱导率最高,达 97.5%,且平均每个单芽产生的小鳞茎数亦最多,达到 4.5 个。

表 2 不同浓度激素对比对卷丹小鳞茎诱导的影响

培养基	接种数 (个)	产生小鳞茎的 芽苗数(个)	诱导率 (%)	平均每芽产生 小鳞茎数(个)
(8)	40	39	97.5	4.5
(9)	40	35	87.5	3.9
(10)	40	24	60.0	2.1

2.4 小鳞茎的增殖

将初代培养出的小鳞茎纵切成 2~4 块,分别接种到(8)、(9)、(10)3 种增殖培养基中,接种后 30 d

统计。结果(表 3)表明,在 MS + 1.0 mg/L 6-BA + 2.0 mg/L NAA 的(8)号培养基中,小鳞茎的增殖系数最高,达到 5.1。

表 3 不同浓度激素对比对卷丹小鳞茎增殖培养的影响

培养基	接种数(块)	增殖数(个)	增殖系数
(8)	40	204	5.1
(9)	40	152	3.8
(10)	40	98	2.5

2.5 根诱导

将小鳞茎接到生根培养基(11)~(14)上,进行根的诱导。7 d 后 4 种培养基上小鳞茎均能生根,但添加 0.2% 活性炭后,生根率达到 100%,有 70% 以上的植株根数多于 3 条,且根长为 1.0~2.0 cm;而未加活性炭的培养基(13),其生根率为 85%,只有 10% 的植株根数多于 3 条,根长都小于 1.0 cm(表 4)。另外,在附加活性炭的培养基上,小鳞茎直径达到 5~8 mm,比未加活性炭的小鳞茎直径平均大 1~2 mm。

表 4 不同浓度激素对比对卷丹小鳞茎根诱导的影响

培养基	活性 炭	接 种 数 (个)	生 根 数 (个)	生 根 率 (%)	根<3条 的株数 (株)	根>3条 的株数 (株)	根长 (cm)
(11)	无	40	35	87.5	26	9	<1.0
(12)	有	40	40	100	8	32	1.0~2.0
(13)	无	40	34	85	30	4	<1.0
(14)	有	40	40	100	12	28	1.0~2.0

2.6 小鳞茎驯化和移栽

生根培养 14 d 后,形成丛根且根长至 2 cm 左右开始炼苗。将培养瓶的瓶口打开,炼苗 1~2 d 即可移栽。小心洗净根部琼脂,避免伤根,将苗移入由珍珠岩、蛭石和腐殖土按 1:1:1 混合而成的移栽基质中,浇透水,用塑料薄膜罩住,定时浇水确保土壤及大气湿度,温度为 10~25℃,空气相对湿度为 80% 左右,用遮阳网遮阳,隔 1~2 d 施一次 1/2MS 营养液。一段时间后,可喷一次多菌灵进行保苗。移栽后 7 d 开始长出新根,20 d 后鳞茎下长出 1~4 条白色的根,鳞茎上端露出绿色小叶,是移栽成活的标志,成活率达 98% 以上。图 1 为卷丹试管鳞茎组织培养过程。

(下转第 103 页)

革叶蕨的离体培养研究

李 慧^{1,2}, 房伟民¹, 吴 松², 孙其文², 马承忠²

(1. 南京农业大学园艺学院, 江苏南京 210095; 2. 江苏联合职业技术学院淮安生物工程分院, 江苏淮安 223200)

摘要: 以革叶蕨的幼嫩根茎(母株新发生的匍匐茎)、幼嫩叶柄、幼叶作为外植体, 诱导产生愈伤组织。研究表明, 茎段用 HgCl_2 溶液浸泡 10 min、叶片和叶柄用 HgCl_2 溶液浸泡 3 min 灭菌效果较好; $\text{MS} + 0.5 \text{ mg/L IAA} + 0.1 \text{ mg/L NAA}$ 最适合诱导形成愈伤组织和幼芽分化; 茎段尤其是走茎茎尖是诱导愈伤组织分化为幼苗的最适外植体材料; 最佳生根培养基为 $1/2\text{MS} + 0.1 \text{ mg/L NAA}$ 。

关键词: 革叶蕨; 组织培养; 外植体

中图分类号: S682.350.36 **文献标识码:** A **文章编号:** 1002-1302(2006)01-0103-03

革叶蕨(*Rumohra adiantiformis*), 别名铁羊齿、丽莎蕨, 为三叉蕨科革叶蕨属, 多年生草本植物。羽状复叶大, 翠绿色, 边缘有锯齿, 最下面的羽片最长,

往上渐缩, 外形略成三角状, 整体散透皮革般的光泽。叶片采后生活时间长, 插在水中可以存活一个月左右, 是插花行业中最受欢迎的切叶材料, 目前已成为世界范围内首选的切叶植物。革叶蕨是近年从国外新引进开发的园艺品种, 目前处于种苗繁育阶段, 仅有少量种苗供应市场, 还远远不能满足插花业对革叶蕨切叶的需求。有关蕨类植物的组织培养已有报道^[1], 但革叶蕨的组织培养还未见报道。因

收稿日期: 2005-07-21

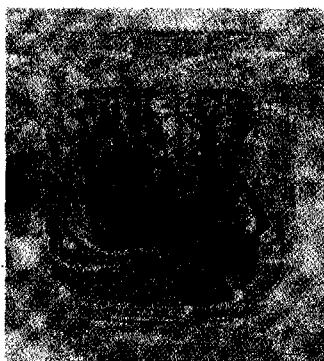
基金项目: 江苏省淮安市科技发展计划项目(编号: SN0521)。

作者简介: 李 慧(1971—), 女, 江苏宿迁人, 在读硕士研究生, 讲师, 主要从事园艺作物的组织培养研究。Tel: (0517) 5981683; E-mail: lihui710623@163.com。

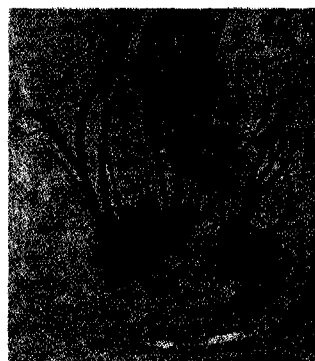
(上接第 102 页)



芽的诱导分化



芽的增殖



小鳞茎的诱导



小鳞茎的增殖



试管鳞茎形成的苗



试管鳞茎苗长大成植株

图 1 卷丹试管鳞茎组织培养过程