

## 不同培养条件对蝴蝶兰离体叶片不定芽发生的影响

杨海芸, 吴震\*, 王广东, 韦月仙

(南京农业大学园艺学院, 江苏 南京 210095)

**摘要:** 以蝴蝶兰品系 RSW<sub>1</sub> 离体叶片为外植体, 探讨了基本培养基、6-苄基腺嘌呤 (6-BA) 和噻重氮苯基脒 (TDZ)、暗培养时间及叶片生育期对叶片不定芽发生的影响。结果表明, 基本培养基以 MS、1/2MS 最为适宜, 改良 Knudson C (改良 KC) 不利于不定芽发生。TDZ 诱导不定芽发生的效果好于 6-BA, 1.5 mg · L<sup>-1</sup> TDZ 对蝴蝶兰叶片不定芽诱导率最高, 达到 60.9%。适当时期的暗培养有利于不定芽的发生, 以暗培养 21 d 效果最好, 不定芽诱导率达到 74.5%, 分化系数达 6.90。选择生育期 45 d 左右的叶片作外植体, 可获得较高的不定芽诱导率和分化系数。

**关键词:** 蝴蝶兰; 组织培养; 叶片; 不定芽

中图分类号: S682.32

文献标识码: A

文章编号: 1000-2030 (2007) 01-0044-06

## Effects of different culture conditions on adventitious shoots regeneration from the excised leaves of *Phalaenopsis*

YANG Hai-yun, WU Zhen\*, WANG Guang-dong, WEI Yue-xian

(College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

**Abstract:** The excised leaf of *Phalaenopsis* RSW<sub>1</sub> was used as explants, the effects of basic media, kinds and concentrations of 6-benzyl aminopurine (6-BA) and thidiazuron (TDZ), dark culture phase, and leaf age on adventitious shoot regeneration from leaves of *Phalaenopsis* RSW<sub>1</sub> were investigated. The result showed that MS and 1/2MS were the most suitable basic media, while improved Knudson C (KC) was disadvantageous to shoots regeneration. TDZ was more effective than 6-BA in inducing shoot regeneration from leaves of *Phalaenopsis* RSW<sub>1</sub>. The highest regeneration rate of 60.9% was obtained on the medium MS supplemented with 1.5 mg · L<sup>-1</sup> TDZ. Appropriate dark treatment could increase the regeneration rate of adventitious shoot. Under the most effective condition of 21 days dark treatment, the induction rate of adventitious shoot reached to 74.5% with the differentiation coefficient 6.90. When those leaves aged 45 days was used as explants, higher induction rate and differentiation coefficient could be achieved.

**Key words:** *Phalaenopsis*; tissue culture; leaf; adventitious shoots

蝴蝶兰 (*Phalaenopsis* ssp.) 是热带兰花的一种, 由于其花型奇特, 色彩艳丽, 花期持久, 素有“兰花皇后”的美称, 在国内外花卉市场极受欢迎<sup>[1-2]</sup>。蝴蝶兰属于单茎性气生兰, 极少发育侧枝, 形成种子少而且困难, 不易进行常规繁殖, 所以组织培养成为蝴蝶兰高效繁殖的重要手段<sup>[2]</sup>。早期进行的蝴蝶兰组织培养是首先诱导花梗腋芽萌发, 然后以丛生芽的方式进行增殖<sup>[3-5]</sup>。近年来, 多数研究集中在利用种子、花梗腋芽、茎尖、叶片、花梗节间、根尖等组织和器官为外植体, 在一定条件下诱导形成原球茎, 再通过原球茎进行增殖<sup>[6-9]</sup>。但以种子为外植体获得的组培苗会发生变异; 用茎尖作外植体, 不仅外植体材料少, 还会因切取茎尖而损伤母株; 用花梗腋芽培养, 在外植体材料来源和取材时间上也有限制。通过原球茎途径进行繁殖, 不仅外植体材料少, 而且原球茎的诱导率低, 诱导时间长, 尤其通过叶片诱导原球茎更为困难<sup>[10]</sup>。而直接从叶片诱导不定芽, 是多种植物快繁的主要方式<sup>[11-13]</sup>, 其发生时间短, 而且增殖率高。有报道指出, 蝴蝶兰叶片可以不经过原球茎阶段直接再生不定芽<sup>[8]</sup>, 但目前在这方面还缺少比较深入系统的研究报道。本试验以蝴蝶兰叶片为外植体, 就叶片直接再生不定芽

收稿日期: 2006-02-15

基金项目: 南京市科技招标项目 (200402008-1)

作者简介: 杨海芸, 硕士研究生。\* 通讯作者: 吴震, 教授, 主要从事蔬菜生理生态和植物组织培养技术研究,

E-mail: zpzx@njau.edu.cn.

的若干影响因素进行研究,探讨由蝴蝶兰叶片直接诱导不定芽发生的可能性及效果,为蝴蝶兰组培苗快速高效繁殖奠定基础。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料及预培养

试验于2005年3月至9月在南京农业大学园艺学院组培中心进行。供试材料为蝴蝶兰品系RSW<sub>1</sub>,由南京市蔬菜花卉研究所提供。

取生长45 d左右的蝴蝶兰幼嫩花梗,根据着生芽数不同,将花梗切成长4 cm左右的带芽茎段若干。将带芽茎段在75%的乙醇中振荡30 s,再在1%的次氯酸钠溶液中浸泡17 min进行外植体消毒,然后用无菌水冲洗3次。除去消毒花梗芽的苞叶,将茎段两端各切去1 cm,使其长度为2 cm左右。将花梗茎段按基部向下接种到启动培养基(MS+10 mg·L<sup>-1</sup>6-苄基腺嘌呤(6-BA)+2 g·L<sup>-1</sup>活性炭(activated charcoal, AC)+20 g·L<sup>-1</sup>蔗糖+6 g·L<sup>-1</sup>琼脂粉, pH 5.8)进行起始培养。花梗腋芽萌发后,将萌动芽体从花梗上切下,接种在生长培养基(3.5 g·L<sup>-1</sup>Hyponex No. 1+100 mg·L<sup>-1</sup>肌醇+1.0 mg·L<sup>-1</sup>烟酸+10 g·L<sup>-1</sup>维生素B<sub>1</sub>+10 mg·L<sup>-1</sup>6-BA+0.5 mg·L<sup>-1</sup>NAA+10 mg·L<sup>-1</sup>腺嘌呤(adenine, AD)+100 mL·L<sup>-1</sup>椰子汁(coconut water, CW)+20 g·L<sup>-1</sup>蔗糖+5.5 g·L<sup>-1</sup>琼脂粉, pH 5.5)中进行继代培养,促进萌动芽体形成带有大量正常叶片的健壮试管苗(图1-A),以其健壮叶片作为外植体材料<sup>[14]</sup>。培养温度(25±1)℃,光照度1 500 lx,光照时间12 h·d<sup>-1</sup>。

### 1.2 试验设计和操作方法

采用单因素设计,分别进行以下试验:(1)基本培养基对叶片不定芽发生的影响:设MS、1/2MS、改良Knudson C(改良KC)<sup>[2]</sup>、改良Vaccine and Went(改良VW)<sup>[2]</sup>、改良Hyponex<sup>[15]</sup>5种基本培养基,每种培养基均添加10 mg·L<sup>-1</sup>6-BA、0.5 mg·L<sup>-1</sup>NAA、10 mg·L<sup>-1</sup>AD和100 mL·L<sup>-1</sup>CW;(2)不同浓度6-BA和TDZ对叶片不定芽发生的影响:以MS+0.5 mg·L<sup>-1</sup>NAA+10 mg·L<sup>-1</sup>AD+100 mL·L<sup>-1</sup>CW为基本培养基,分别添加5、7.5、10、12.5、15、20 mg·L<sup>-1</sup>的6-BA和0.1、0.5、1.0、1.5、2.0 mg·L<sup>-1</sup>的TDZ,以不添加任何细胞分裂素类物质为对照;(3)不同暗培养时间对叶片不定芽发生的影响:叶片接种到MS+10 mg·L<sup>-1</sup>6-BA+0.5 mg·L<sup>-1</sup>NAA+10 mg·L<sup>-1</sup>AD+100 mL·L<sup>-1</sup>CW的培养基,分别在黑暗培养箱内培养0(对照)、7、14、21和30 d,然后转移至光照培养;(4)叶片生育时期对不定芽发生的影响:分别取叶龄为30、45和60 d的试管苗叶片为外植体,接种在MS+10 mg·L<sup>-1</sup>6-BA+0.5 mg·L<sup>-1</sup>NAA+10 mg·L<sup>-1</sup>AD+100 mL·L<sup>-1</sup>CW培养基中。

所有培养基均附加20 g·L<sup>-1</sup>蔗糖和5.5 g·L<sup>-1</sup>琼脂粉, pH值调至5.5,经高压灭菌后,分装在9 cm×11 cm培养皿内,每个培养皿装培养基30 mL。取生长基本一致的试管苗,剪取顶部叶片,切成0.5~1 cm<sup>2</sup>的方形叶块,叶面朝上平放于诱导培养基上(图1-B)。接种后用‘Parafilm’密封。先在(25±1)℃光照培养箱中暗培养10 d(暗培养因子试验除外),再转移至光照度1 500 lx、光照周期12 h·d<sup>-1</sup>、(25±1)℃的培养室进行培养。每个处理重复3次,每个重复40个外植体,分别接种到5个培养皿中,每个培养皿8叶块。接种40 d后统计不定芽诱导率和分化系数。

诱导率=形成不定芽的叶块数/接种的叶块总数×100%

分化系数=叶块发生的不定芽总数/接种的叶块总数

## 2 结果与分析

### 2.1 基本培养基对叶片不定芽分化的影响

在供试的5种基本培养基中,以MS、1/2MS培养基效果最好(表1)。接种20 d后叶片切口及切口周围直接形成不定芽,不定芽诱导率最高,分别达59%和58%,分化系数分别为8.75、7.29,显著高于其他培养基(表1,图1-C、D)。改良Hyponex和改良KC培养基的不定芽分化系数最低,显著低于MS、1/2MS和VW培养基。在改良KC培养基中,光照培养7 d后叶表面由绿转红,15 d后在伤口处形成颗粒状愈伤组织,最后发育为类原球茎,不定芽诱导率最低。不同培养基对外植体褐化程度的影响也有差别,以MS最轻,改良VW褐化最严重。

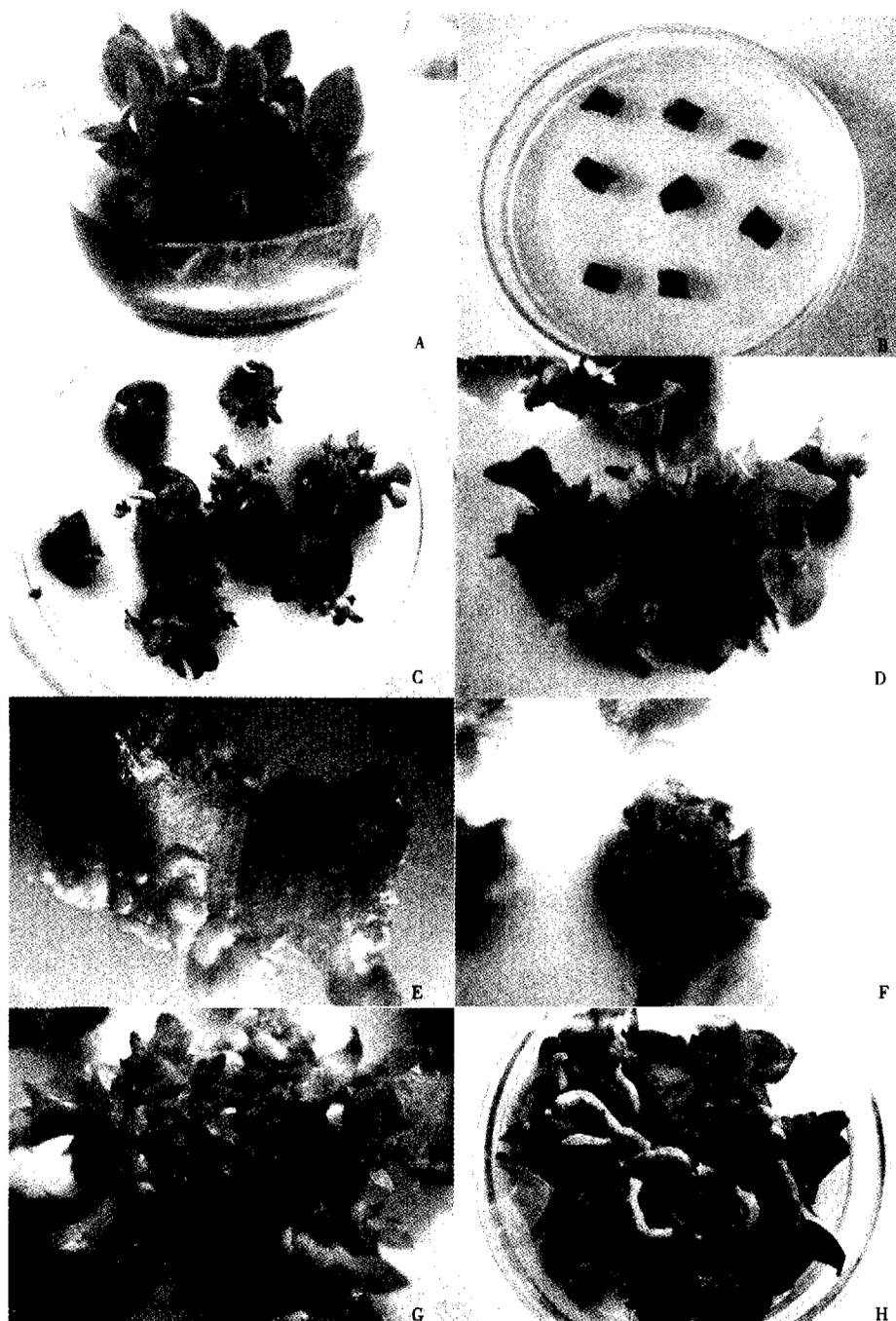


图1 蝴蝶兰离体叶片不定芽发生及试管苗形成

Fig. 1 Adventitious shoots inducing from the leaves of *Phalaenopsis* and plant forming

A. 健壮的蝴蝶兰试管苗 Strong tube shoots; B. 接种方式 Methods of inoculation; C、D. 蝴蝶兰叶片直接再生的不定芽 Adventitious shoot regeneration directly from the leaves; E. 蝴蝶兰叶片切口芽状突起 Protuberance at edge of cut; F. 经愈伤组织发生不定芽和原球茎 Adventitious shoot and PLB (protocorm-like body) regeneration from callus; G. 不定芽增殖形成丛生芽 A tuft of shoots after proliferation; H. 不定芽生根 Rootage of adventitious shoots

## 2.2 不同浓度 6-BA 和 TDZ 对叶片不定芽分化的影响

随着 6-BA 质量浓度的升高, 不定芽诱导率和分化系数不断增加, 当 6-BA 为  $12.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时, 叶片诱导率和分化系数均达到最高, 分别为 28% 和 3.93 (表 2)。在添加 6-BA 的培养基中, 培养初期叶片切口向下弯曲, 中间向上隆起。暗培养期间叶色浅黄, 转移至光照培养后逐渐恢复绿色。6-BA 为  $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  和  $12.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的处理, 在培养 7 d 后部分叶片开始增厚, 培养接种 20 d 后, 所有叶片均明显加厚,  $12.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的处理, 叶片有瘤状突起, 进一步分化形成不定芽。

表 1 基本培养基对蝴蝶兰叶片不定芽分化的影响

Table 1 Effects of basic media on differentiation of adventitious shoots from the leaves of *Phalaenopsis*

基本培养基 Basic media	诱导率/% Induction rate	分化系数 Differentiation coefficient	外植体状态 State of explants
MS	59 <sup>a</sup>	8.75 <sup>a</sup>	叶片深绿色 Leaves dark green
1/2MS	58 <sup>a</sup>	7.29 <sup>ab</sup>	少量叶片在切口处分泌褐色物质 Brown secretion excretes from edges of leaves
改良 VW Improved Vacine and Went	35 <sup>b</sup>	5.17 <sup>b</sup>	叶表面逐渐褪绿色, 变成红棕色, 褐化较严重 Leaves gradually become brown from green, and worse and worse
改良 KC Improved Knudson C	10 <sup>c</sup>	1.55 <sup>c</sup>	叶表面逐渐褪绿色, 变成红棕色 Leaves gradually become red-brown from green
改良 Hyponex Improved Hyponex	18 <sup>c</sup>	1.67 <sup>c</sup>	叶片深绿色, 少量叶片切口边缘褐化 Leaves dark green, and edges of leaves become brown

注: 不同字母代表在 0.05 水平差异显著。The different letters stand for significant difference at 0.05 level. The same as follows.

表 2 6-BA 和 TDZ 对蝴蝶兰叶片不定芽分化的影响

Table 2 Effects of 6-BA and TDZ on differentiation of adventitious shoots from the leaves of *Phalaenopsis*

	$\rho/\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	诱导率/% Induction rate	分化系数 Differentiation coefficient	外植体状态 State of explants
CK	0	0 <sup>d</sup>	0.00 <sup>d</sup>	叶片绿色, 质地变硬 Leaves green and more rigid
6-BA	5.0	3.3 <sup>c</sup>	0.33 <sup>bcd</sup>	叶片深绿色, 切口分泌大量褐色物质, 褐化严重 Brown secretion is excreted from edges of leaves, and leaves grow worse browning
	7.5	10.4 <sup>bc</sup>	2.70 <sup>bc</sup>	叶片深绿色, 切口分泌少量褐色物质 Little brown secretion is excreted from edges of leaves
	10.0	18.4 <sup>bc</sup>	2.90 <sup>bc</sup>	叶片深绿色 Leaves dark green
	12.5	28.0 <sup>bc</sup>	3.93 <sup>ab</sup>	叶片深绿色 Leaves dark green
	15.0	18.4 <sup>bc</sup>	2.73 <sup>bc</sup>	叶片深绿色 Leaves dark green
	20.0	10.0 <sup>bc</sup>	2.00 <sup>bc</sup>	叶片绿色 Leaves green
TDZ	0.1	16.0 <sup>bc</sup>	1.75 <sup>bc</sup>	叶片绿色 Leaves green
	0.5	29.0 <sup>b</sup>	3.40 <sup>abc</sup>	叶片绿色 Leaves green
	1.0	30.6 <sup>b</sup>	3.85 <sup>ab</sup>	叶片绿色 Leaves green
	1.5	60.7 <sup>a</sup>	4.70 <sup>a</sup>	叶片绿色 Leaves green
	2.0	30.8 <sup>b</sup>	3.54 <sup>abc</sup>	叶片绿色, 个别叶片有玻璃化现象 Leaves green, a few vitrification

在添加 TDZ 的处理中, 叶片不定芽的诱导率和分化系数随 TDZ 质量浓度的升高而提高, 但质量浓度超过  $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时又开始下降。当 TDZ 为  $1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时, 叶片不定芽诱导率为 60.7%, 分化系数为 4.70, 显著高于其他处理, 而 0.5、1.0 和  $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  3 个处理间差异不显著 (表 2)。

与添加 6-BA 相比, 添加 TDZ, 叶片生长良好, 褐化较少, 培养 2 个月后仍能保持鲜绿色。TDZ 为  $1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的处理, 叶片不定芽发生最早, 不定芽形成最多。在接种 7 d 时叶片开始加厚, 14 d 时叶片切口边缘呈密集性突起, 25 d 时叶片表面布满绿色芽状体, 继续发育即可形成不定芽。大多数叶片不定芽发生在切口附近的上下表面, 且呈密集丛生状 (图 1-E)。在 0.5 和  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的处理中, 不定芽发生较晚, 部分叶片首先形成愈伤组织, 再分化形成不定芽和原球茎状体 (图 1-F)。

比较 6-BA 和 TDZ 对蝴蝶兰叶片不定芽发生的作用可以看出, TDZ 的效果显著大于 6-BA。在添加 TDZ 的处理中, 最高诱导率和分化系数分别为 60.7% 和 4.70, 而添加 6-BA 的处理中最高只有 28.0% 和 3.93。添加  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的 TDZ, 其作用效果与  $10.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的 6-BA 相当, 说明 TDZ 对蝴蝶兰不定芽的诱导效应远高于 6-BA, 相当于 6-BA 的 20 倍以上。添加 TDZ 的处理, 不定芽分化发生较早, 叶片绿色, 生长良好, 褐化较少。而添加 6-BA 的各处理, 叶片深绿色, 有褐化现象, 而且 6-BA 浓度越低褐化程度越高。在 6-BA 浓度低于  $10.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的处理中, 叶片切口处分泌褐色物质, 并且不断扩散到培养基中。由此说明, TDZ 对不定芽的诱导效果优于 6-BA。

### 2.3 暗培养时间对叶片不定芽分化的影响

随着暗培养时间的延长,不定芽诱导率与分化系数均增加,但暗培养时间为30 d时又开始下降(表3)。暗培养14~30 d,叶片不定芽诱导率和分化系数显著高于其他处理,以暗培养21 d诱导率和分化系数最高,分别为74.5%和6.86。

表3 暗培养时间对蝴蝶兰叶片不定芽分化的影响

Table 3 Effects of dark culture phase on differentiation of adventitious shoots from the leaves of *Phalaenopsis*

暗培养时间/d Dark periods	诱导率/% Induction rate	分化系数 Differentiation coefficient	外植体状态 State of explants
0	3.75 <sup>c</sup>	0.13 <sup>b</sup>	叶片深绿色,褐化严重 Leaves dark green, and worse browning
7	11.6 <sup>b</sup>	0.86 <sup>b</sup>	叶片由浅绿色逐渐转为绿色,边缘分化少量褐色物质 The color of leaves darkens, and little brown secretion is excreted from edges of a few leaves
14	47.4 <sup>a</sup>	3.70 <sup>ab</sup>	叶片由浅黄色逐渐转为绿色,个别叶片切口褐化 Leaves become green from low yellow, and a few browning
21	74.5 <sup>a</sup>	6.86 <sup>a</sup>	叶片由浅黄色逐渐转为绿色,良好 Leaves become green from low yellow, fine
30	65.8 <sup>a</sup>	6.53 <sup>a</sup>	叶片由黄色逐渐转为绿色,良好 Leaves become green from yellow, fine

### 2.4 叶片生育时期对不定芽分化的影响

从表4看出,以叶龄45 d的试管苗叶片诱导率和分化系数最高,30 d次之,60 d最低。叶龄60 d的试管苗叶片由于叶龄过大,叶片过于老化,再生能力下降。而叶龄低于30 d,叶片叶脉组织不够发达,叶片较小,不仅影响不定芽的发生,而且也不能提供足够多的外植体材料。因此,以叶龄45 d左右的试管苗叶片为最适外植体材料。

表4 不同生育时期对蝴蝶兰叶片不定芽分化的影响

Table 4 Effects of leaf age on differentiation of adventitious shoots from the leaves of *Phalaenopsis*

叶龄/d Leaf age	诱导率/% Induction rate	分化系数 Differentiation coefficient	外植体状态 State of explants
30	40.9 <sup>ab</sup>	3.96 <sup>b</sup>	叶片浅绿色,切口边缘分泌少量褐色物质 Leaves lighth green, and little brown secretion is excreted from edges of a few leaves
45	58.2 <sup>a</sup>	7.77 <sup>a</sup>	叶片绿色 Leaves green
60	19.6 <sup>b</sup>	3.18 <sup>b</sup>	叶片绿色由浅变深,然后逐渐褪绿变成红棕色,褐化严重 Leaves become gradually red-brown from dark green, and browning is worse and worse

## 3 讨论

有关蝴蝶兰无性繁殖的研究多集中在原球茎发生途径方面,原球茎的生成通常在外植体切口处产生愈伤组织或类原球茎状体,培养一段时间后才形成具有毛状假根的原球茎,而且需要进一步分化,不仅延长繁殖周期,也增加了体细胞变异的可能性<sup>[16]</sup>。由叶片直接诱导不定芽发生是通过直接器官发生途径实现的。一般认为,直接再生与间接再生途径相比有很大优势,离体叶片直接由细胞形成芽原基,继而发育成芽,分化时间短,既保持亲本的优良特性,又大幅度缩短了繁殖周期,可以常年进行,并能克服外植体材料少的限制<sup>[8]</sup>。

有研究认为,将蝴蝶兰花梗腋芽上端切除后进行培养,可产生愈伤组织并再分化形成不定芽<sup>[4]</sup>,也有通过营养芽诱导形成不定芽以及用幼嫩花梗节间切片诱导形成不定芽的报道<sup>[5-6]</sup>。以试管苗叶片为外植体诱导形成不定芽,试管苗可以在无菌条件下继续生长,可直接获取无菌材料而不需要消毒。不仅取材广泛方便,还能降低污染率,缩短培养周期,从而大幅度提高培养效率和经济效益。本试验以蝴蝶兰试管苗叶片为外植体,直接诱导不定芽发生,经继代培养后直接发育成完整小植株,再利用小植株叶片直接形成不定芽,诱导时间短,分化率高,探索了一条蝴蝶兰繁殖的新途径。

6-BA 和 TDZ 对外植体分化有很大影响,是叶片不定芽发生所必需的条件<sup>[17-18]</sup>。在本试验中,不添加 6-BA 或 TDZ,叶片均没有不定芽形成。在诱导叶片不定芽形成方面,TDZ 的效果明显优于 6-BA,这与吴雪梅等<sup>[12]</sup>在草莓叶片的研究结果一致。Thmos 等<sup>[19]</sup>试验表明,TDZ 可诱导植物细胞分裂素的生物合成,并可抑制内源生长素的降解;部分 TDZ 被吸收后可以先储存在植物体中,然后缓慢释放,从而使外植体中的内源激素水平达到一个新的动态平衡,更有效地刺激不定芽的再生。在添加 TDZ 的处理中,蝴蝶兰叶片培养 2 个月后仍能保持鲜绿色,这可能与 TDZ 处理后能延缓离体叶片叶绿素降解速度有关<sup>[20]</sup>。Visser 等<sup>[21]</sup>也曾报道,用 TDZ 处理的天竺葵植物组织具有较高的叶绿素含量。

在苹果叶片不定芽再生过程中,前期暗培养是必不可少的<sup>[22]</sup>。对草莓进行叶片培养时也发现,暗培养对不定芽发生有显著的促进作用<sup>[12]</sup>。本研究结果表明,前期适当的暗培养能明显促进蝴蝶兰叶片不定芽的再生,这与前人相关研究结果一致<sup>[12,22]</sup>。可能是因为日光灯发出的红光要比远红光多,而红光抑制不定芽形成,远红光促进不定芽形成,外植体直接在光照下培养,不定芽的形成受到红光抑制,发生频率大大降低<sup>[22]</sup>。

植物组织培养技术被广泛应用于高档花卉的快速繁殖<sup>[11,23-24]</sup>。本试验以蝴蝶兰试管苗叶片为外植体,接种到 MS + 10 mg · L<sup>-1</sup> 6-BA + 0.5 mg · L<sup>-1</sup> NAA + 10 mg · L<sup>-1</sup> AD + 100 mL · L<sup>-1</sup> CW + 20 g · L<sup>-1</sup> 蔗糖 + 5.5 g · L<sup>-1</sup> 琼脂粉 (pH 5.5) 的培养基上,先经 20 ~ 30 d 暗培养,再转为光下培养,可直接分化大量不定芽。将形成的不定芽切割成数丛,接种于继代培养基,50 d 后可产生大量的丛生芽 (图 1-G),以后可反复切割成丛芽或单芽进行增殖,最后形成生根的健壮蝴蝶兰试管苗 (图 1-H),繁殖系数远高于其他蝴蝶兰快繁途径<sup>[4-7,18]</sup>。因此,利用叶片直接诱导不定芽,可以作为蝴蝶兰快速繁殖的一种新途径,在生产中应用推广。

#### 参考文献:

- [1] 卢思聪. 中国兰与洋兰 [M]. 北京: 金盾出版社, 1994: 96-98
- [2] 胡松华. 热带兰花 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2003: 48-50
- [3] Arditti J, Ernst R. Micropropagation of Orchid [M]. New York: John Wiley and Sons. Inc., 1993: 467-520
- [4] 刘荣维, 梅庆超, 崔元方, 等. 丛生芽——蝴蝶兰无性快速繁殖的新途径 [J]. 热带作物学报, 1993, 14(12): 105-107
- [5] 王怀宇. 蝴蝶兰快速繁殖研究 [J]. 园艺学报, 1989, 16(1): 73-77
- [6] 陈之林, 叶秀, 梁承邗, 等. 蝴蝶兰花葶的离体培养 [J]. 园艺学报, 2003, 30(2): 242-244
- [7] Park S Y, Yeung E C, Chakrarty D, et al. An efficient direct induction of protocorm-like bodies from leaf subepidermal cells of *Doritaenopsis* hybrid using thin-section culture [J]. Plant Cell Reports, 2002, 21(1): 46-51
- [8] 李进进, 廖俊杰, 柯丽婉, 等. 蝴蝶兰根段的组织培养 [J]. 植物生理学通讯, 2000, 36(1): 37
- [9] 范成明, 李枝林, 何月秋. 兰花组织培养及分子生物学研究进展 [J]. 园艺学报, 2003, 30(4): 487-491
- [10] 李军, 柴向华, 曾宝瑛, 等. 蝴蝶兰组培工厂化生产技术 [J]. 园艺学报, 2004, 31(3): 413-414
- [11] 兰芹英, 李启任, 何惠英, 等. 红掌愈伤组织诱导和芽的分化 [J]. 园艺学报, 2003, 30(1): 107-109
- [12] 吴雪梅, 汤浩茹, 李燕, 等. 不同培养条件对“丰香”草莓离体叶片再生的影响 [J]. 园艺学报, 2004, 31(5): 657-659
- [13] 汤浩茹, 刘翠琼, 罗娅, 等. 满园香梨叶片不定芽的诱导 [J]. 果树学报, 2005, 22(6): 706-708
- [14] 李晖. 蝴蝶兰 [繁殖、生育特性、产期调节及产后质量] [M]. 台湾: 财团法人台湾区花卉发展协会, 2002: 86-90
- [15] 谭文澄. 观赏植物组织培养技术 [M]. 北京: 中国林业出版社, 1991: 247-257
- [16] Chen W H, Chen T M, Fu Y M, et al. Studies on somaclonal variation in *phalaenopsis* [J]. Plant Cell Reports, 1998, 18: 7-13
- [17] 袁维凤, 金万梅, 尹淑萍, 等. 生长调节物质对草莓叶片再生不定芽的影响 [J]. 植物生理学通讯, 2004, 40(4): 447-449
- [18] 杨美纯, 周歧伟, 许鸿源, 等. 外部因子对蝴蝶兰叶片原球茎状体发生的影响 [J]. 广西植物, 2000, 20(1): 42-46
- [19] Thmos J C, Kafferan F R. Cytokinin activity induced by thidiazuron [J]. Plant Physiol, 1986, 8(1): 681-683
- [20] 徐晓峰, 黄学林. TDZ: 一种有效的植物生长调节剂 [J]. 植物学通报, 2003, 20(2): 227-237
- [21] Visser C, Quresni J A, Gill R. Morphoregulatory role of TDZ. Substitution of auxin and cytokinin requirement for the induction of somatic embryogenesis in geranium hypocotyls cultures [J]. Plant Physiol, 1992, 99: 1704-1707
- [22] 臧运祥, 郑伟尉, 孙钟序, 等. 苹果叶片组培再生系统研究进展 [J]. 生物技术通报, 2004(2): 15-18
- [23] 范加勤, 张雯雯, 张娜, 等. 几个彩色马蹄莲品种的离体培养与快速繁殖 [J]. 南京农业大学学报, 2005, 28(2): 28-31
- [24] 刘园, 王四清. 大花蕙兰 (*Cymbidium hybridum*) 的研究动向 [J]. 园艺学报, 2005, 32(4): 748-752