

兔耳兰组织培养快繁技术研究

田英翠, 杨柳青

(中南林业科技大学, 湖南长沙 410004)

摘要: 采用兔耳兰的茎尖和芽为外植体, 研究兔耳兰组织培养中外植体的选择、芽的诱导、继代增殖、壮苗培养和生根诱导技术, 运用正交试验筛选出快速生芽的最佳培养基为: MS + 6-BA 3.0 mg/L + NAA 1.0 mg/L + 琼脂 7 g/L + 蔗糖 30 g/L; 生根的最佳培养基为: 1/2MS + NAA 2.0 mg/L。芽长 1.5 cm、叶长 1.5 cm, 2~3 片叶的兔耳兰苗有利于生根。

关键词: 兔耳兰; 组织培养; 芽的诱导; 继代增殖; 生根诱导

中图分类号: S682.310.36 **文献标识码:** A **文章编号:** 1002-1302(2007)02-0106-02

兔耳兰 (*Cymbidium lancifolium*), 又名宽叶兰, 其叶形奇特, 花朵秀雅, 香气幽淡, 除观赏外, 全草入药有润肺、续筋之效, 颇具商业价值。目前兔耳兰沿用传统的分株繁殖法, 繁殖系数极低, 栽培数量受到限制^[1]。近年来笔者利用茎尖和腋芽为外植体开展兔耳兰组织培养^[2], 为兔耳兰遗传资源的保存、开发利用及其工厂化生产提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以兔耳兰的茎尖和腋芽为外植体^[3]。

1.2 方法

1.2.1 材料的表面消毒 取 5~10 cm 的新芽, 从植株茎部切离, 用洗衣粉刷洗, 充分洗净后再从材料顶端切取 2 cm 左右, 先在 70% 的酒精中处理 30 s, 转入 0.1% 氯化汞溶液中 6 min, 灭菌后用无菌水冲洗数次, 再放到灭菌滤纸上吸干水分, 然后在解剖镜下无菌操作剥取茎尖和腋芽, 一般茎尖大于 2 mm, 带 2 个叶原基, 接种到培养基中。

1.2.2 类原球茎的诱导与增殖 外植体接种后放置在 23~25 ℃ 的黑暗条件下培养, 培养 1~2 个月后可分化出 1 至数个乳白色的类原球茎, 在转绿前将其切割成小块, 待小块组织稍为长大后, 转接到分化培养基上分化芽和根。

1.2.3 芽的诱导与增殖 将开始萌发的类原球茎置于 MS + 6-BA 2 mg/L + NAA 1 mg/L 培养基上, 诱导芽的发生, 将诱导出的芽接种在含生长素和分裂素的不同浓度配比的培养基上, 6-BA 的浓度分别为 1.0、2.0、3.0 mg/L, NAA 浓度分别为 0.1、0.5、1.0 mg/L, 共 9 种不同浓度比例培养基进行双因素正交试验, 观察芽的分化状况, 筛选最佳培养基。正交试验材料置于温室中培养, 培养温度为 24~26 ℃, 连续光照 10~12 h。20 d 后统计结果并分析。

1.2.4 根的诱导 采用 4 种不同的生根培养基, 分别是: (1) 1/2MS + NAA 2.0 mg/L + KT 1.0 mg/L; (2) 1/2MS + IBA 1.0 mg/L; (3) 1/2MS + IBA 2.0 mg/L; (4) 1/2MS + NAA 2.0 mg/L。从中筛选诱发根生长的最佳培养基配方, 同时观察多大的芽适宜诱导根的生长。

2 结果与分析

2.1 类原球茎的诱导与增殖

将外植体培养在 MS 培养基上, 经 2 个月后外植体发生了类原球茎, 呈丛生状, 在 NAA 作用下, 脱分化为愈伤组织。从生长状况来看, 通常是绿色转为黄色, 也有少数由黄色转为绿色, 在转移中发现绿色的类原球茎组织较松脆、密集, 能分化不定芽, 而呈黄色的愈伤组织则松软, 含水量大。将诱导形成的类原球茎切下, 移入新配制的成分相同的培养基, 这种培养基配方中, 生长素比例较大, 激动素比例较小, 易于类原球茎增殖, 但不易分化。

2.2 芽的诱导与增殖

待类原球茎增殖到一定数量, 将一部分类原球

收稿日期: 2006-07-31

基金项目: 湖南省林业科技项目。

作者简介: 田英翠 (1974—), 女, 湖南湘西人, 硕士, 讲师, 主要从事园林教学和科研。E-mail: csjtyc@tom.com。通讯作者: 杨柳青, 博士, 教授, 主要从事园林方面的教学和研究工作。

茎转移到分化培养基上培养,适当增加激动素的比例,减少生长素的比例,配方为 MS + 6-BA 2 mg/L + NAA 1 mg/L,约经 30 d,即可看见丛生状的绿色类原球茎顶端冒出一个个尖细的小芽。在培养基中的类原球茎,存在着不同的发育状态,有的已分化为细细的小芽,有的才开始形成芽的雏形,即绿色类原球茎上才出现凸出的小芽点,有的则仍呈绿色类原球茎状,而有的已转黄、褐色,并发现玻璃化芽,多呈丛生状。当类原球茎发育成丛生状不定芽时,大多不能正常发育成茎,由类原球茎萌发的独立的芽能继续发育,最终成为带叶的茎。双因素正交试验结果见表 1。从表 1 可见,配方 5 最优,即 6-BA 为 2.0 mg/L, NAA 为 0.5 mg/L,但从实际结果来看,配方 9 最好,即 6-BA 为 3.0 mg/L, NAA 为 1.0 mg/L。配方 3 诱导产生的芽数最少,长势也最弱,新芽发黄,基部很少有新球茎形成;配方 9 新增芽长势强劲,基部有相当数量的新球茎形成, NAA 浓度较高,高浓度 NAA 对兔耳兰芽的增殖和生长有一定的抑制作用,但只要 6-BA 和 NAA 浓度配比恰当,则会更好地诱导兔耳兰的增殖;配方 6 芽的诱导情况较为特别,在长芽的同时,也有根发生的情况,但芽长势一般。因此芽增殖的最佳培养基是配方 9,即 6-BA 3.0 mg/L, NAA 1.0 mg/L。

表 1 兔耳兰组织培养芽增殖培养基筛选正交试验结果

配方号	6-BA (mg/L)	NAA (mg/L)	平均增殖 倍数	平均芽长 (cm)
1	1.0	0.1	2.2	3.4
2	2.0	0.1	1.8	2.8
3	3.0	0.1	1.0	0.9
4	1.0	0.5	1.7	3.2
5	2.0	0.5	2.3	3.9
6	3.0	0.5	1.8	3.7
7	1.0	1.0	1.4	3.0
8	2.0	1.0	0.7	3.1
9	3.0	1.0	2.7	5.6

注:基本培养基为 MS + 30 g/L 蔗糖 + 7g/L 琼脂。

2.3 根的诱导

2.3.1 培养基对兔耳兰组培苗生根的影响 采用的兔耳兰组培苗的规格:平均 2~3 片叶,芽长 1.5~2 cm,叶长 1.5 cm,叶宽 4~5mm,每种培养基接种 40 个芽。从表 2 可以看出,培养基(1)的诱根效果比较差,培养基(4)的生根效果最好,芽的根数最多,有根芽所占的比例也最大,4 月 15 日观察根数 19 条,有根芽所占的比例达 60%,到 4 月 22 日,根条数增加到 25 条,有根芽所占的比例已达到 80%。从培养基(2)和(3)中,可以看出高浓度的 IBA 刺激根生长的效果比较明显。不同成分的培养基诱发兔耳兰组培苗根的发生效果不同,寻找一种最适宜的生根培养基,对缩短出苗时间和提高兔耳兰苗的移栽成活率具有十分重要的意义。

表 2 不同培养基对兔耳兰组培苗生根的影响

测定日期 (月/日)	培养基 代号	根数 (条)	有根芽比例 (%)
4/15	(1)	4	15
	(2)	9	25
	(3)	14	45
	(4)	19	60
4/22	(1)	10	25
	(2)	14	45
	(3)	18	60
	(4)	25	80

2.3.2 不同规格兔耳兰组培苗的生根状况比较

从表 3 可以看出:芽越长,根条数越多;芽越小,生长越明显,而根的生长情况就越差。例如,规格 I 兔耳兰两周只长出 6 条根,有根芽仅占 21%,芽长增长近 1 倍,其他方面也有较大的增长。II、III 两种规格的兔耳兰,芽的生长情况相差不大,长根的情况也很相近,规格 II 兔耳兰两周后长根 12 条,有根芽比例为 47%;规格 III 兔耳兰长根 15 条,有根芽比例为 53%。从经济角度来考虑,应该选用规格 II 的兔耳兰芽生根,缩短出苗所需的时间,提高经济效益。

表 3 不同规格兔耳兰组培苗的根发生状况

测定项目	4 月 8 日			4 月 15 日			4 月 22 日		
	规格 I	规格 II	规格 III	规格 I	规格 II	规格 III	规格 I	规格 II	规格 III
平均芽长 (cm)	0.8	1.5	2.5	1.1	1.9	2.8	1.5	2.2	3.1
平均叶长 (cm)	0.6	1.6	2.1	0.9	1.7	2.4	1.2	1.9	2.5
平均叶宽 (mm)	2.3	3.2	4.9	2.6	3.6	5.3	3.0	4.7	5.8
叶片数	1~2	2~3	3~4	2	2~3	4	2~3	3	4~5
根数	0	0	0	4	7	10	6	12	15
有根芽比例 (%)	0	0	0	12	30	35	21	47	53

应用控根容器火箭盆培育牡丹嫁接苗的研究

苏 晶, 徐迎春, 潘易萍, 林松明, 岳 龙

(南京农业大学园艺学院, 江苏南京 210095)

摘要: 以当年生牡丹嫁接苗为试验材料, 分析了火箭盆对牡丹苗木生长发育和一些生理指标的影响。结果表明, 与塑料盆相比, 火箭盆培育的牡丹苗在上盆后 191 d 形成完整根团; 一、二级侧根数变化不大, 三级侧根数为塑料盆的 4 倍; 最长侧根长度变短; 叶片含水量早期变化不大, 后期显著提高; 苗木生长后期叶绿素含量提高; 根、叶中可溶性糖和蛋白含量相对较高。说明火箭盆处理有效地调控了苗木根系生长, 促进了苗木整体发育。

关键词: 火箭盆; 牡丹; 植株形态; 生理特性

中图分类号: S685.110.4⁺7 **文献标识码:** A **文章编号:** 1002-1302(2007)02-0108-04

牡丹 (*Paeonia suffruticosa*) 苗木生产在牡丹产业化生产中占有重要位置, 国内外市场需求量很大。但目前传统的牡丹苗木生产一般为大田生产, 存在肉质根发达、吸收根少、生长缓慢、育苗周期长等问题, 严重制约了牡丹苗木的生产速度。火箭盆系杨凌中科环境工程有限公司与澳大利亚专家共同开发的一种快速育苗容器。容器由底盘、侧壁和扣杆等 3 个部件组成。底盘为筛状构造, 侧壁为凸凹相间形状, 外侧顶端有小孔。它可以促使苗木形成强大的侧根系, 加快苗木对养分的吸收。火箭盆培育苗木在一些植物上已有报道^[1], 但尚缺乏系统研究。

牡丹的容器育苗也有报道, 但仅限于用营养钵繁育种子苗^[2]。本试验主要探讨了火箭盆对当年生牡丹嫁接苗植株形态和生理的影响, 旨在从形态及生理角度阐述火箭盆促进牡丹苗生长的机理, 并为生产实践提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试材为当年生肉芙蓉牡丹嫁接苗, 砧木为凤丹, 根颈粗度为 0.8~1.0 cm。试验采用的火箭盆规格为直径 30 cm, 高 35 cm。培养基质选用泥炭、珍珠岩和蛭石, 其体积比为 4:3:1。对照采用相同规格的塑料盆。于 2005 年 10 月 22 日上盆后放置于温室内, 进行正常的水肥管理。

收稿日期: 2006-10-16

作者简介: 苏 晶 (1980—), 女, 山东济宁人, 在读硕士研究生, 主要从事观赏植物栽培生理研究。Tel: (025) 84396762; E-mail: xyc-wyl@126.com。通讯作者: 徐迎春, 硕士生导师, 副教授。

(上接第 107 页)

3 结论与讨论

(1) 类原球茎诱导与增殖试验表明, 组织松脆、密集的绿色类原球茎能分化为不定芽, 而组织松软、含水丰富、潮湿的黄色类原球茎则不能。同时, 兔耳兰在生长素比例较大、激动素比例较小的培养基中, 利于类原球茎增殖, 而不利分化。实际上, 在组织培养中能否分化根和芽, 完全取决于分化培养基中激素的种类、浓度与比例。每种兰花都不完全一样, 要经过试验对比来确定。(2) 正交试验筛选的芽增殖最佳培养基为: MS+6-BA 3.0 mg/L+NAA 1.0 mg/L+琼脂 7 g/L+蔗糖 30 g/L。筛选出的最佳生

根培养基为: 1/2MS+NAA 2.0 mg/L。芽长为 1.5 cm, 叶长 1.5 cm, 叶数 2~3 片的兔耳兰苗有利于生根。(3) 类原球茎诱导与增殖时, 切割方式以掰开 (自然分离) 比横切、纵切好。掰开的类原球茎损伤小, 成活率高, 而切开的类原球茎容易褐化。

参考文献:

- [1] 黄广宾. 兔耳兰[J]. 广西植物, 1993(4): 296.
- [2] 刘青林, 马 伟. 花卉组织培养[M]. 北京: 中国农业出版社, 2003: 104-128.
- [3] 熊 丽, 吴丽芳. 观赏花卉的组织培养与大规模生产[M]. 北京: 化学工业出版社, 2002: 125-129.