

白芨组织培养快繁技术研究

田英翠¹, 袁雄强²

(1. 中南林学院, 湖南长沙 410004; 2. 长沙市园林科学研究所, 湖南长沙 410003)

摘要: 在白芨组织培养快繁过程中, 细胞分裂素 BA 对原球茎诱导有极显著影响, KT 和 ZT 的作用不明显; BA 和生长素 NAA 均对原球茎的诱导和增强起明显的促进作用, 且 BA 对白芨幼苗的增殖效果更为显著; GA 和番茄汁的合理组配是白芨生根壮苗的关键。

关键词: 白芨; 组织培养; 细胞分裂素; 生长素

中图分类号: S604⁺.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1002-1302(2006)04-0075-02

白芨 (*Bletia striata*) 属兰科白芨属植物, 分布于我国的云南、贵州及四川西南部。白芨花鲜黄色, 花期 5~6 月, 具有较高的观赏价值, 深受人们喜爱^[1-2]。但白芨分株繁殖周期长, 繁殖率低, 远远不能满足商品化生产的要求。目前关于白芨组织培养的报道极少^[3-4]。本试验旨在探讨白芨组织培养快繁过程中各种因素对其原球茎诱导、幼苗分化及生根壮苗的影响, 以寻找最适的培养条件, 为其快繁及大规模工厂化生产提供依据。

1 材料与方法

切取白芨幼根, 消毒处理后剪成 0.5 cm 左右长的根段作为诱导原球茎的外植体材料。以 ZW 和 1/2MS 为基本培养基, 添加琼脂 14 g/L, pH 值 5.1~5.4。培养温度 (25±3) °C, 光照度约 2 000 lx, 光照时间为 (15±1) h/d^[5-6]。

2 结果与分析

2.1 不同细胞分裂素对白芨原球茎诱导的影响

我们设计了 L₉(3³) 正交试验, 以了解细胞分裂素 ZT、BA、KT 对白芨原球茎诱导的影响。每一处理接种 20 个根段外植体, 重复 3 次, 培养基为 ZW + 1.0 mg/L NAA + 10% 椰子汁 + 2 g/L CH (水解酪蛋白), 培养 4 周后调查原球茎诱导率和每个外植体所形成的原球茎的个数。从试验结果 (表 1) 可以看出, BA 对白芨原球茎诱导有显著的作用, 而 KT 和

ZT 的诱导作用不明显, 且 BA 对所诱导的外植体形成的原球茎个数影响极显著, KT 和 ZT 对原球茎个数影响显著。

表 1 ZT、BA、KT 正交试验结果

处理 序号	ZT (mg/L)	BA (mg/L)	KT (mg/L)	诱出原球 茎数(个)	原球茎诱 导率(%)
1	0.2	0.2	0.2	57.2	50.4
2	0.2	1.0	1.0	67.6	63.3
3	0.2	2.0	2.0	69.2	63.8
4	1.0	0.2	1.0	65.7	52.9
5	1.0	1.0	2.0	69.7	68.2
6	1.0	2.0	0.2	62.7	56.2
7	2.0	0.2	2.0	61.2	53.8
8	2.0	1.0	0.2	60.7	50.7
9	2.0	2.0	1.0	69.2	63.9

注: ZT、BA 和 KT 诱导原球茎数的 *F* 值分别为 5.35*、12.65** 和 6.18*; ZT、BA 和 KT 的原球茎诱导率 *F* 值分别为 2.30、6.28* 和 5.57*。* 表示 *P* < 0.05; ** 表示 *P* < 0.01。

2.2 蔗糖、BA、NAA 对白芨原球茎诱导的影响

为了解生长素、细胞分裂素、碳源对白芨原球茎诱导的影响, 找出各种因素的最佳组合, 设计了 L₉(3³) 正交试验。碳源选择蔗糖, 生长素选择 NAA, 细胞分裂素选择 BA。每个处理因素分别设置 3 个水平 (表 2)。每一处理接种 20 个根段外植体, 重复 3 次。基本培养基为 ZW + 10% 椰子汁 + 2 g/L CH + 30 g/L 蔗糖, 培养 4 周后调查各项指标。

结果表明, 细胞分裂素 BA 和生长素 NAA 均对白芨原球茎诱导有极显著的影响, 能明显促进外植体形成原球茎, 蔗糖的作用不太明显。可见白芨原球茎的最佳诱导培养基应为: ZW + 1.0 mg/L BA + 2.0 mg/L NAA + 10% 椰子汁 + 2 g/L CH + 30 g/L 蔗糖。

收稿日期: 2005-12-08

基金项目: 湖南省自然科学基金 (编号: 99JJY20027)。

作者简介: 田英翠 (1974—), 女, 湖南湘西人, 在读硕士生, 讲师, 主要从事园林植物育种方面的教学与研究工作。E-mail: csjtj@tom.com

表2 蔗糖、BA、NAA 正交试验结果

处理 序号	蔗糖 (g/L)	BA (mg/L)	NAA (mg/L)	诱出原球 茎数(个)	原球茎诱 导率(%)
1	20	0.2	0.5	48.3	47.3
2	20	1.0	1.0	64.5	67.3
3	20	2.0	2.0	60.3	63.9
4	30	0.2	1.0	57.3	57.3
5	30	1.0	2.0	68.3	70.6
6	30	2.0	0.5	54.7	53.9
7	40	0.2	2.0	57.3	57.3
8	40	1.0	0.5	57.3	50.6
9	40	2.0	1.0	63.3	69.3

注: * 表示 $P < 0.05$; ** 表示 $P < 0.01$ 。蔗糖、BA 和 NAA 诱导球茎数的 F 值分别为 0.9、8.12** 和 9.78**; 蔗糖、BA 和 NAA 原球茎诱导率 F 值分别为 1.3、4.756** 和 10.74**。

2.3 蔗糖、BA、NAA 对白芨原球茎增殖及幼苗分化的影响

原球茎的增殖和幼苗的分化关系到白芨繁殖速度的快慢,繁殖系数的高低。将蔗糖、BA、NAA 设置为 $L_9(3^3)$ 正交试验(表3),以找出适宜的增殖分化培养基。每一处理接种 20 个切割后的原球茎,重复 3 次。基本培养基采用 ZW,培养 4 周后统计原球茎增殖个数和幼苗分化率。从表3可以看出,BA 和 NAA 对白芨原球茎增殖都有极显著的影响,而 BA 则对幼苗的分化率有显著的影响。处理5所得到的增殖率和分化率最高,所以适宜的培养基应为:ZW + 0.5 mg/L NAA + 1.0 mg/L BA + 30 g/L 蔗糖。

2.4 GA 和番茄汁对白芨无根苗生根壮苗的影响

表4 GA 和番茄汁对白芨无根苗生根壮苗的影响

序号	培养基	NAA (mg/L)	GA (mg/L)	番茄汁 (g/L)	根数 (条)	根长 (cm)	根粗 (cm)	苗高 (cm)	茎粗 (cm)
1	1/2MS	1.0	1.0	200	5.3	2.7	0.29	4.6	0.26
2	1/2MS	1.0	1.0	0	4.8	2.8	0.20	5.2	0.20
3	1/2MS	1.0	0	200	4.3	1.7	0.31	4.0	0.27
4	1/2MS	1.0	0	0	2.3	1.2	0.21	3.6	0.22

3 结论

在白芨组织培养快繁过程中,细胞分裂素 BA 和生长素 NAA 均可促进原球茎的诱导和增殖,且 BA 对幼苗的分化也有极显著的影响,两者的适宜配组,再添加低浓度的蔗糖作碳源,就成为白芨原球茎诱导和幼苗分化的最适培养基,即:ZW + 1.0 mg/L BA + 2.0 mg/L NAA + 10% 椰子汁 + 2 g/L CH + 30 g/L 蔗糖;ZW + 1.0 mg/L BA + 0.5 mg/L NAA + 30 g/L 蔗糖。GA 和番茄汁对白芨无根苗的生根

表3 蔗糖、BA、NAA 对白芨原球茎增殖及幼苗分化的影响

处理 序号	蔗糖 (g/L)	BA (mg/L)	NAA (mg/L)	原球茎增殖 数(个)	幼苗分化 率(%)
1	20	2.0	0.1	83.4	31.6
2	20	1.0	0.2	94.5	50.7
3	20	2.0	0.5	105.8	57.3
4	30	2.0	0.2	87.4	40.7
5	30	1.0	0.5	118.3	63.9
6	30	2.0	0.1	93.3	47.3
7	40	2.0	0.5	98.8	43.9
8	40	1.0	0.1	89.3	57.3
9	40	2.0	0.2	111.3	58.7

注:蔗糖、BA 和 NAA 原球茎增殖数 F 值分别为 1.56、7.28** 和 9.67**;蔗糖、BA 和 NAA 的幼苗分化率 F 值分别为 4.42*、13.32** 和 2.13。* 表示 $P < 0.05$; ** 表示 $P < 0.01$ 。

为探寻白芨无根苗生根壮苗的合适培养基,设置 4 种不同的培养基(表4),培养中均添加 30 g/L 蔗糖,7 g/L 琼脂,pH 值 5.4。将大小达 3 cm 左右的无根苗切成单苗,接种到 4 个不同的生根培养基上,每种培养基接种 20 株,重复 3 次,培养 4 周后统计结果。

由表4可以看出,前3种培养基上瓶苗的根数明显比第4种培养基上多,苗也明显高,说明 GA 和番茄汁对白芨无根苗的生根均有显著的促进作用,且对幼苗的生长也有一定的促进作用。添加 GA 的培养基上苗根较长,苗明显较高,而添加番茄汁的培养基上苗根和苗明显粗壮。可见,GA 有利于根茎纵向伸长,番茄汁更有利于根茎横向生长,两者的合理组配是形成白芨健壮瓶苗的关键。

壮苗有明显的促进作用,从而确定生根壮苗培养基为:1/2MS + 1.0 mg/L NAA + 1.0 mg/L GA + 200 g/L 番茄汁。

参考文献:

- [1]王 熊. 地生兰(*Cymbidium*)个体发生途径研究[J]. 植物生理学报,2003,16(3):264-267.
- [2]刘青林,马 伟. 花卉组织培养[M]. 中国农业出版社,2003:104-128.

(下转第77页)

葡萄破眠剂芽灵的使用效应和安全性试验

钱亚明, 吴伟民, 赵密珍, 王壮伟, 袁 骥, 孟宪凤

(江苏省农业科学院园艺研究所, 江苏南京 210014)

摘要: 芽灵以推荐剂量(A 剂稀释 10 倍, B 剂稀释 1 000 倍)涂抹藤稔和京秀葡萄结果母枝 1 次, 不但可以显著提高其萌芽的整齐度和萌芽率, 萌芽率最终分别高达 94.43% 和 94.80%, 而且可以使京秀提早 2 d 萌芽和开花。

关键词: 葡萄; 破眠剂; 芽灵; 效果

中图分类号: S663.101 **文献标识码:** A **文章编号:** 1002-1302(2006)04-0077-02

葡萄破眠剂石灰氮在葡萄设施促成栽培上的应用已有不少报道^[1-5], 但由于其气味刺鼻, 水溶液配制较为烦琐, 在生产上未得到大面积的推广应用。芽灵是北京中林大地技术开发有限公司研制的水溶性葡萄破眠剂, 可以直接稀释使用。本试验旨在明确芽灵在南方葡萄产区的破眠效应和使用的安全性, 以为南方地区葡萄生产提供技术参数。

1 材料与方法

1.1 材料

试验药剂芽灵由 A 剂(有效试剂)和 B 剂(助剂)组成, 由北京中林大地技术开发有限公司研制并提供, 对照药剂石灰氮由上海农业科学院提供。试验葡萄品种为京秀和藤稔, 均为 5 年生树, “十”字“V”形架, 株行距为 2 m × 3 m, 露地栽培, 树体中庸, 田间管理一般。

1.2 试验方法

1.2.1 芽灵效应试验 试验设 4 个处理: (1) A 剂稀释 10 倍, B 剂稀释 1 000 倍(推荐剂量); (2) A 剂稀释 10 倍; (3) 石灰氮: 水为 1:5 的水溶液, 试验

前 1 d 用 70 ℃ 温水溶解、静置, 取上清液; (4) 不使用任何药剂。每一处理均按 500 ml 药液量换算配对(1.2.2 同)。试验于 2004 年 2 月 28 日进行, 以京秀和藤稔葡萄为试材, 结果母枝除顶芽不涂抹外, 其余芽眼均涂抹试剂 1 次, 并记录涂抹芽眼的数量。处理后自萌芽开始, 依次调查萌芽数(除顶芽)、物候期和果实性状^[6], 并作统计分析。单株为 1 小组, 重复 3 次。

1.2.2 芽灵安全性试验 试验以京秀葡萄为试材, 参照推荐剂量和涂抹芽眼次数, 共设 4 个处理: I. A 剂稀释 5 倍, B 剂稀释 1 000 倍, 涂抹 1 次; II. A 剂不稀释, B 剂稀释 1 000 倍(按照 A 剂体积配对), 涂抹 1 次; III. A 剂稀释 10 倍, B 剂稀释 250 倍, 涂抹 1 次; IV. A 剂稀释 10 倍, B 剂稀释 1 000 倍, 重复涂抹 2 次。单株处理, 不设重复, 处理后自萌芽开始, 调查萌芽情况。

2 结果与分析

2.1 芽灵的使用效应

2.1.1 对萌芽的影响 从 4 月 4 日的萌芽率来看, 使用芽灵推荐剂量, 显著提高了京秀葡萄萌芽的整齐度, 萌芽始期的萌芽率最高, 为 20.54%。从 4 月 6 日的萌芽率来看, 芽灵的推荐剂量与空白对照相比, 显著提高了藤稔和京秀葡萄的萌芽整齐度, 萌芽率分别提高了 24.89 个百分点和 33.37 个百分点。

收稿日期: 2005-12-29

基金项目: 江苏省科技成果示范推广项目(编号: 4820506)。

作者简介: 钱亚明(1973—), 男, 江苏泰兴人, 助理研究员, 主要从事草莓和葡萄种质资源及栽培研究。Tel: (025) 84390219; E-mail: qchairman@126.com。

(上接第 76 页)

[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.

[4] Amaki W, Haguchi H. Effects of dividing on the growth and organogenesis of protocorm-like bodies in *Doritaenopsis* [J]. Sci Hort, 2003, 39(1): 63-72.

2003, 39(1): 63-72.

[5] 谢为龙, 谭群英. 热带兰组织培养以及病毒检测研究[J]. 植物检疫, 2003, 8(6): 338-339.

[6] 邵锡良. 中国兰花的茎尖组织培养[J]. 生物学教学, 1999, 24(10): 37-38.