

花叶开唇兰组培快繁技术的研究

曹受金 (中南林业科技大学, 湖南长沙 410004)

摘要 对花叶开唇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进行了研究。试验结果表明, 运用正交试验筛选出快速生芽的最佳培养基为: MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L+蔗糖 35 g/L+琼脂 6 g/L; 生根的最佳培养基为: 1/2 MS+NAA 0.5 mg/L。分析比较出芽长为 1.5 cm, 叶长为 1.5 cm, 叶数为 2~3 片的兰花苗有利于生根。

关键词 花叶开唇兰; 组织培养; 原球茎

中图分类号 Q943.1 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2007)02-00380-01

花叶开唇兰(*Anoectochilus roxburghii*)俗称金线莲、金线草, 为多年生热带陆生兰, 是民间珍稀名贵中草药, 具极高经济价值, 同时也是一种观赏价值较高的室内观叶植物^[1]。随着森林不断砍伐, 花叶开唇兰的生长环境遭到严重破坏, 野生资源日趋减少, 正面临灭绝的危险。为满足市场的需要和保护野生植物资源, 笔者利用其茎尖和顶芽为外植体开展花叶开唇兰组织培养^[2], 为花叶开唇兰遗传资源的保存和开发利用及其工厂化生产提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料 以花叶开唇兰(植株 6 节高, 茎径大于 0.6 cm)的茎尖和顶芽为外植体^[3]。

1.2 方法

1.2.1 材料的表面灭菌。取 5~10 cm 的新芽, 从植株茎部切离。先用洗衣粉刷洗, 充分洗净后将材料再切取 1~2 cm 左右, 先在浓度 75% 的酒精中处理 30 s, 转入浓度 0.1% 氯化汞溶液中 10 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顶芽。一般茎尖大于 2 mm, 带 2 个原叶基, 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 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, 在其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 培养基中, 诱导芽的发生。将诱导出的芽接种在附加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。进行双因素正交试验, 观察芽的分化状况, 筛选最佳培养基。

1.2.4 根的诱导。采用 4 种不同的生根培养基, 分别是: ① 1/2 MS+NAA 0.5 mg/L; ② 1/2 MS+IBA 1.0 mg/L; ③ 1/2 MS+IBA 2.0 mg/L; ④ 1/2 MS+NAA 0.5 mg/L+KT 1.0 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 不同培养基对类原球茎的诱导与增殖的影响 将外植体在 MS 培养基上培养, 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, 大多是绿色转为黄色, 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, 而黄色的愈伤组织松软, 含水量丰富, 潮湿。将诱导形成的类原球茎切下, 移入新配制的成份相同的培养基, 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 不同组合配方对芽的诱导与增殖的影响 待类原球茎增殖到一定数量, 将一部分类原球茎培养在分化培养基上, 适当增加激动素的比例, 减少生长素的比例, 配方为 MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 1.0 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。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。

为提高芽的增殖系数, 采用双因素正交试验, 配制 9 种不同浓度比例的培养基, 接种后的材料置于温室中培养, 培养温度为 23~25℃, 连续光照 10~12 h。20 d 后统计结果并进行直观分析(表 1)。

从表 1 可见: 组合 5 号最优, 即 6-BA 为 2.0 mg/L, NAA 为 0.5 mg/L。通过观察, 配方 3 中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 中, 新增芽长势强劲, 基部有相当数量的新球茎形成, 但由于 NAA 浓度较高, 高浓度 NAA 对花叶开唇兰芽的增殖和生长有一定的抑制作用; 配方 6 中芽的长势一般。因此芽增殖的最佳培养基组合是配方 5, 即 6-BA 为 2.0 mg/L, NAA 为 0.5 mg/L。

表 1 正交设计试验安排与结果

组合号	6-BA//mg/L	NAA//mg/L	平均增殖倍数	平均芽长//cm
1	1.0	0.1	2.0	3.2
2	2.0	0.1	1.6	2.6
3	3.0	0.1	1.0	0.9
4	1.0	0.5	1.5	3.0
5	2.0	0.5	2.8	4.2
6	3.0	0.5	1.6	3.4
7	1.0	1.0	1.3	2.8
8	2.0	1.0	0.6	2.9
9	3.0	1.0	2.4	3.5

注: 基本培养基为 MS+35 g/L 蔗糖+6g/L 琼脂。

2.3 不同培养基对兰花组培苗生根诱导的影响

2.3.1 4 种培养基对兰花组培苗生根的影响。采用的兰花组培苗平均有叶 2~3 片, 芽长 1.5~2.0 cm, 叶长 1.5 cm, 叶宽 3.0~4.0 mm, 每种培养基接种 40 个芽。

从表 2 可以看出, 第 4 种培养基诱发根的生长效果比

(下转第 382 页)

基金项目 湖南省林业厅科技项目。

作者简介 曹受金(1972-), 男, 湖南衡阳人, 副教授, 从事园林方面的教学和研究工作。

收稿日期 2006-10-12

有明显增产效果。二是合理扩大叶面积,提高叶面积系数。调查证明,保苗 49 500~52 500 株/hm²时,光能利用率最高,相应产量也高(表 3)。通过 45 户株数与产量统计分析,结果求得 $r=0.5838$,表明单位面积株数增多,产量也随着增高。但是增加单位面积株数有一个度,要适应当地生态条件。

表 3 不同密度叶面积系数与产量

密度范围//株/hm ²	平均株数//株/hm ²	叶面积系数	产量//kg/hm ²
49 500~52 500	51 750	3.25	11 184.0
45 000~49 500	47 250	2.61	10 194.0
39 000~45 000	42 000	-	9 253.5
<37 500	-	<2.00	9 040.5

3 产量与效益

几年来,在安达市内积温 2 800 ℃及以上乡镇,每年落实玉米综合技术开发 0.67 万 hm²,按不同地区的气候资源

搭配吉单 261、吉单 505、嫩单 11、龙丰 2 号品种进行种植,平均产量为 11 073 kg/hm²,一般田产量为 8 764.5 kg/hm²,增产率为 26.4%,年平均增产为 69 324 万 kg/hm²,占全市玉米总产量的 32.5%,产量为 11 700 kg/hm²的村有 14 个,2005 年大本村 233.33 hm²玉米,平均产量为 12 157.5 kg/hm²,创最高记录。

参考文献

- [1] 龚绍先.粮食作物与气象[M].北京:北京农业大学出版社,1998.
- [2] 陈立亭,孙玉亭.黑龙江省气候与农业[M].北京:气象出版社,2000.
- [3] 关贵林,徐南平.黑龙江省气候变化对农业及生态环境影响的预测与对策[M].哈尔滨:黑龙江省气象局,1995.
- [4] 陈立亭,祖世亨.黑龙江省农作物结构调整的农业气候依据[J].黑龙江气象,2001(2):2-5.
- [5] 祖雪梅,韩俊杰.温度对玉米籽粒形成过程的影响的试验[J].黑龙江气象,1998(4):25-27.
- [6] 贺威霖.气候资源变异对通河县相关产业的影响及对策[J].黑龙江气象,2004(4):38-39,42.

(上接第 380 页)

较差,第 1 种培养基的生根效果最好,因为在这种培养基上生长的兰花芽的根数最多,有根芽所占的比例也最大。6 月 17 日观察根条数为 18 条,有根芽所占的比例达 62%,到 6 月 24 日,根条数增加到 23 条,有根芽所占的比例已达到 82%。从第 2 和第 3 种培养基中,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兰花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兰花苗的移栽成活率,具有十分重要的意义。

表 2 不同培养基对兰花组培苗生根的影响

观测日期	培养基种类	根数	有根芽比例//%
06-17	1	18	62
	2	8	26
	3	13	47
	4	3	18
06-24	1	23	82
	2	13	42
	3	16	58
	4	8	23

2.3.2 不同规格兰花组培苗的生根状况比较(表 3)。从表 3 可以看出:芽越长,根条数越多;芽越小,芽的生长越明显,而根的生长情况就越差。例如,Ⅰ种规格兰花,2 个星期只长出 5 条根,有根的兰花芽仅占 19%,芽的长度是原来的 1 倍,其他方面也有较大的增长。Ⅱ、Ⅲ两种规格的兰花,芽的生长情况相差不大,长根的情况也很相近,Ⅱ规格兰花,两周后长根 10 条,有根芽比例为 45%;Ⅲ规格兰花,长根 14 条,有根芽比例为 50%。从经济角度来考虑,应该选用Ⅱ规格的兰花芽生根,缩短出苗所需的时间,提高经济效益。

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

表 3 不同规格兰花组培苗的根发生状况

观测日期		平均芽长//cm	平均叶长//cm	平均叶宽//mm	叶片数	根数	有根芽比例//%
06-10	I	0.7	0.5	2.0	1~2	0	0
	II	1.5	1.5	3.0	2~3	0	0
	III	2.3	2.0	4.5	3~4	0	0
06-17	I	1.0	0.8	2.5	2	3	10
	II	1.8	1.7	3.5	2~3	6	32
	III	2.6	2.3	5.1	4	9	36
06-24	I	1.4	1.1	2.8	2~3	5	19
	II	2.3	2.0	4.4	3	10	45
	III	3.0	2.5	5.6	4~5	14	50

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不能。同时,花叶开唇兰在生长素比例较大、激动素比例较小的培养基中,易于增殖类原球茎,而不易于分化。实际上,在组织培养中,分化培养基的生长激素和剂量,能否分化根和芽,完全取决于激素种类和剂量。每种兰花都不完全一样,要经过试验摸索才能掌握,可以设计几种配方,进行对比试验来确定。

(2)正交试验筛选的芽增殖最佳培养基为:MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L+蔗糖 35 g/L+琼脂 6 g/L。筛选出的最佳生根培养基为:1/2 MS+NAA 0.5 mg/L。芽长为 1.5 cm,叶长为 1.5 cm,叶数为 2~3 片的兰花苗有利于生根。

(3)在原球茎的诱导与增殖试验中,切割方式,掰开(自然分离)比横切、纵切好。可能是掰开的原球茎损伤小、成活率高,而切开的原球茎容易褐化。

参考文献

- [1] 周兴,李海鹰,下桂文,等.花叶开唇兰的初级培养及再生途径[J].广西科学,1999,6(2):157.
- [2] 彭东辉,连强壮,刘淑兰.花叶开唇兰的栽培技术[J].中国林副特产,1999(3):21.
- [3] 曾宋君,彭晓明,张京丽,等.植物组织培养简报摘编[J].植物生理学通讯,2000(5):441.

科技论文写作规范——引言

扼要地概述研究工作的目的、范围、相关领域的前人工作和知识空白、理论基础和分析、研究设想、研究方法和实验设计、预期结果和意义等。一般文字不宜太长,不需作详尽的文献综述。在最后引出文章的目的及试验设计等。“引言”两字省略。