

新植物活性剂对大花蕙兰组培不定芽增殖的应用研究

罗富英¹, 罗平², 张伟国²

(1. 广东省湛江师范学院自然科学与技术研究中心, 524048; 2 广东省湛江市果树蔬菜研究所)

摘 要:应用新植物活性剂对大花蕙兰组培不定芽增殖进行了初步应用试验研究,新植物活性剂1mg/L、2mg/L、5mg/L、10mg/L、20mg/L、5mg/L+ 萘乙酸(NAA)、CK₁(6-BA)、CK₂(6-BA+ 萘乙酸 NAA)对不定芽增殖倍数依次分别为3.3、4.1、4.3、3.4、2.3、7.6、1.3、3.1倍。该活性剂对大花蕙兰组培不定芽的增殖数比对照CK₁分别提高2.0、2.8、3.0、2.1、1.0、6.3。比对照CK₂分别提高0.1、1.0、1.2、0.3、0.8、4.5倍。新植物活性剂在1~5mg/L范围内,外植体成活率100%。新植物活性剂5mg/L时大花蕙兰不定芽增殖倍数是对照CK₁的6.3倍,是对照CK₂的4.5倍。(2.5cm)幼苗外植体的不定芽增殖能力最强;(1cm)中芽外植体的不定芽增殖倍数在2~4倍;(0.5cm)小芽外植体的不定芽增殖能力一般;新植物活性剂+ 萘乙酸(NAA)对外植体不定芽增殖的促进效应比较显著。

关键词:新植物活性剂; 大花蕙兰; 组织培养; 不定芽增殖

中图分类号:S482.8 & S682.31 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2006)02-0112-03

大花蕙兰(*Cymbidium*)又名虎头兰、西姆比兰,是兰属的一个杂交品种,大花蕙兰以其植株雄伟,花朵硕大,色泽鲜艳,花茎直立,花期长,而为人们所喜爱。春节花卉中的大花蕙兰多从韩国进口,价格较高。其实,大花蕙兰的栽培难度并不比其它兰花高,只要了解它的习性,给予相应的措施,在亚热带及温带地区能广泛栽培^[1]。大花蕙兰是一种杂交兰,传统的分株繁殖,一株大花蕙兰一年仅繁殖2~3个芽,繁殖率低、慢、周期长,尤其对新引进的优良品种,很难迅速占领市场,满足广大群众需求。自1960年Morel开创兰花茎尖培养技术以来,兰花的组培快繁技术迅猛发展,不少学者对兰花的组织培养进行了研究^[2]。有关报道多是选用细胞分裂素6-BA(6-苄基腺嘌呤),NAA(萘乙酸)生长素来诱导不定芽增殖^[3]。新植物活性剂由广东湛江师范学院自然科学与技术研究中心研制^[4-5],具有促进植物细胞分裂和扩大^[7],促进侧芽生长,延缓作物衰老等作用。为了探讨新植物活性剂在组织培养中的应用效果,我们对新植物活性剂在大花蕙兰组织培养上进行应用研究。

1 材料与方法

1.1 材料

大花蕙兰无毒组培苗(由湛江市果树蔬菜研究所组培室提供,原种植株购于湛江市花卉市场、为引进杂交优良品种)。

1.2 试剂

新植物活性剂:主要成分为脲类植物细胞分裂素^[9](由湛江师范学院自然科学与技术研究中心研制提供)。

1.3 培养基

选用1/2MS基本培养基+3%蔗糖+0.7%琼脂,分别添加新植物活性剂1mg/L、2mg/L、5mg/L、10mg/L、20mg/L和新植物活性剂5mg/L+ 萘乙酸(NAA)、对照CK₁:(1/2MS基本培养基+3%蔗糖+0.7%琼脂+6-BA)、对照CK₂:(1/2MS基本培养基+3%蔗糖+0.7%琼脂+6-BA+萘乙酸NAA)依次按顺序编号为:1、2、3、4、5、6、CK₁、CK₂。

1.4 培养方法

在超净工作条件下,将大花蕙兰无毒苗切分成三种外植体,小芽(0.5cm),中芽(1cm),幼苗(2.5cm),分别随机接入1、2、3、4、5、6、对照CK₁、CK₂共8个不同培养基上进行培

表1 大花蕙兰组培不定芽增殖培养基

编号	基本培养基	植物生长调节剂		
		新植物活性剂 浓度(mg/L)	6-BA	萘乙酸 NAA
1	1/2MS	1	-	-
2	1/2MS	2	-	-
3	1/2MS	5	-	-
4	1/2MS	10	-	-
5	1/2MS	20	-	-
6	1/2MS	5	10	+
CK ₁	1/2MS	6-BA	10	-
CK ₂	1/2MS	6-BA	10	+

养,每个培养基设6个重复,每个重复接种2个芽,置于组培室内自然条件下培养,2003年8月1日接种,每天观察一次,接种25d后统计不定芽增殖数,增殖倍数,不定芽生长情况。统计标准:成活率=成活芽数/接种芽数。增殖倍数=增殖芽数/成活芽数。

*基金项目:国家星火计划项目(2004EA780043) 湛江市科技招标项目湛财企[2003]104号 湛江师范学院自然基金资助项目(2002[22].L0120)
收稿日期:2005-10-13

表 2 不同浓度新植物活性剂对大花蕙兰不定芽增殖和生长的影响

编号	接种	成活	增加	成活率	增殖	比对照提高倍数		芽高	芽粗壮
	芽数	芽数	芽数	%	倍数	CK ₁	CK ₂	(cm)	
1	12	12	39	100	3. 3	2. 0	0. 1	1. 0	纤细
2	12	12	49	100	4. 1	2. 8	1. 0	1. 0	纤细
3	12	12	52	100	4. 3	3. 0	1. 2	1. 0	一般
4	12	10	34	83	3. 4	2. 1	0. 3	1. 0	纤细
5	12	8	18	67	2. 3	1. 0	- 0. 8	1. 5	纤细
6	12	12	91	100	7. 6	6. 3	4. 5	2. 0	健壮
CK ₁	12	12	15	100	1. 3			0. 3	较差
CK ₂	12	12	37	100	3. 1			1. 5	一般

注：以上是接种 25d 后统计的数据，芽高为平均芽高。

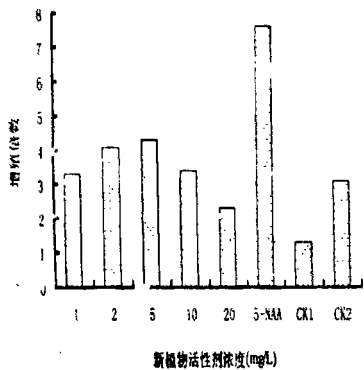


图 1 不同浓度新植物活性剂对大花蕙兰不定芽的增殖倍数

2 结果与分析

2.1 不同浓度新植物活性剂对大花蕙兰不定芽增殖和生长的影响

从表 2 可知，1/2MS 培养基加新植物活性剂 1mg/L、2mg/L、5mg/L、10mg/L、20mg/L，对外殖体成活率有差异。外殖体在上述不同浓度单一新植物活性剂培养基中成活率分别为：100%、100%、100%、83%、67%。外殖体在同时添加同样浓度萘乙酸的新植物活性剂 5mg/L+ 生长素(NAA) 和对照(CK₂：1/2MS+ 6- BA+ 生长素 NAA) 培养基中成活率均为 100%。新植物活性剂在 1 ~ 5mg/L 范围内外殖体 100% 成活。当新植物活性剂超过 5mg/L 时，外殖体有枯黄现象。当新植物活性剂浓度为 10mg/L 时，坏死率达 17%；新植物活性剂浓度为 20mg/L 时，坏死率为 33%；出现坏死的都是外殖体(0. 5cm 小芽)。可见当植物调节剂浓度大于 5mg/L 时对越小的外殖体生长越不适宜。

新植物活性剂 1mg/L、2mg/L、5mg/L、10mg/L、20mg/L、5mg/L+ 萘乙酸(NAA) 和对照 CK₁、CK₂ 对不定芽的增殖倍数分别是：3. 3、4. 1、4. 3、3. 4、2. 3、7. 6、1. 3、3. 1 倍，比 CK₁ 分别提高 2. 0、2. 8、3. 0、2. 1、1. 0、6. 3，比 CK₂ 分别提高 0. 1、1. 0、1. 2、0. 3、- 0. 8、4. 5 倍。在新植物活性剂 1 ~ 5mg/L 时，增殖倍数随浓度提高而增加，当新植物活性剂大于 5mg/L 时，增殖倍数随浓度提高而下降。当新植物活性剂为 5mg/L 时，增殖倍数最高为 4. 3 ~ 6. 3 倍。对大花蕙兰不定芽增殖最佳浓度应为新植物活性剂 5mg/L。新植物活性剂无论是

单一使用还是与生长素配合，对不定芽增殖的促进效应都比 6- BA、及 6- BA 与萘乙酸配合要好。

新植物活性剂新增的不定芽的生长情况均比 CK₁ 要好，浓度为 20mg/L 时平均芽高最高，浓度为 5mg/L 时不定芽生长最健壮。当新植物活性剂与生长素配合时不定芽平均高度和健壮程度均比 CK₂ 显著提高。

表 3 不同外植体对不定芽增殖的影响

编 号	接种芽数			增殖芽数			增殖倍数		
	幼苗	中芽	小芽	幼苗	中芽	小芽	幼苗	中芽	小芽
1	5	5	2	25	13	4	5. 0	2. 6	2. 0
2	3	8	1	16	31	2	5. 3	3. 9	2. 0
3	7	2	3	40	8	3	5. 7	4. 0	1. 0
4	2	6	4	10	22	2	5. 0	3. 7	0. 5
5	2	1	8	10	2	6	5. 0	2. 0	0. 8
6	8	1	4	58	3	0	7. 3	3. 0	0
CK ₁	1	1	12	-	-	15	-	-	1. 3

2.2 不同外植体对不定芽增殖的影响见表 3

在同一浓度培养基中不同外植体即(2. 5cm 幼苗)、(1cm 中芽)、(0. 5cm 小芽) 的不定芽增殖倍数存在明显差异。(1) 幼苗外植体分别在新植物活性剂 1mg/L、2mg/L、5mg/L、10mg/L、20mg/L 中不定芽增殖倍数分别是 5. 0、5. 3、5. 7、5. 0、5. 0 倍，在 4 个浓度中增殖倍数变化不大；当新植物活性剂 5mg/L 与萘乙酸配合使用时，不定芽增殖倍数大大提高，高达 7. 3 倍，但小苗有少量枯黄现象出现。(2) 中芽外植体分别在新植物活性剂浓度 1mg/L、2mg/L、5mg/L、10mg/L、20mg/L 中不定芽增殖倍数分别是 2. 6、3. 9、4. 0、3. 7、2. 0 倍，当浓度为 2 ~ 5mg/L 时增殖效应最佳；幼苗、中芽的最佳浓度为 5mg/L；当新植物活性剂 5mg/L 与萘乙酸配合使用时，不定芽增殖倍数为 3. 0 倍；(3) 小芽外植体分别在新植物活性剂 1mg/L、2mg/L、5mg/L、10mg/L、20mg/L 中不定芽增殖倍数分别是 2. 0、2. 0、1. 0、0. 5、0. 8。比 CK₁ 分别提高 0. 7、0. 7、- 0. 3、- 0. 8、- 0. 5，增殖倍数呈下降趋势；以上三种外植体在新植物活性剂 10mg/L 以上时，增殖倍数随浓度增加而下降，并出现枯黄坏死现象。当 5mg/L 新植物活性剂和萘乙酸配合使用时不利于(0. 5cm 小芽) 全部枯黄坏死，增殖倍数为 0。但是，低浓度新植物活性剂有利于小芽分化。

综合以上分析:单一新植物活性剂最佳不定芽增殖浓度为 5mg/L,新植物活性剂和萘乙酸配合使用可大大提高增殖效应。

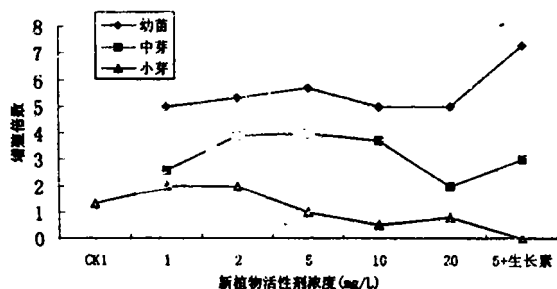


图2 不同外植体对不定芽增殖的影响

3 小结与讨论

由湛江师范学院自然科学与技术研究中心研制的新植物活性剂是一种具有较高生物活性的物质,单独使用时表现出较强的促进细胞分裂作用。在 2~5mg/L 范围内对大花蕙兰组培不定芽增殖具有较好的促进作用,对大花蕙兰组培不定芽增殖最佳浓度为 5mg/L;新植物活性剂对不同外植体的不定芽增殖影响差异较大。对大花蕙兰不定芽大于 2.5cm 幼苗外植体最佳,不定芽增殖倍数最高,受新植物活性剂浓度变化影响不大;1cm 中芽外植体不定芽增殖的最佳浓度为 5mg/L,0.5cm 小芽外植体在 1~5mg/L 浓度以下有利于不定芽分化增殖,高浓度下可形成药害坏死现象。这种现象可能因不同外植体生长发育所处的生理状况不同^[8]有关,从而对新植物活性剂的生殖敏感性不同;新植物活性剂与萘乙酸配合对大花蕙兰不定芽增殖和生长均比单一使用效果更明显,表明新植物活性剂与萘乙酸之间具有协同调节作用。植物生长调节剂的种类和配比是决定组培芽分化和生长的重要因素,不同植物有不同生理特征、不同发育阶段对新植物活性剂要求不同。细胞分裂素具有促进细胞分裂的作用,使用细胞分裂素类调节剂可使芽组织保持旺盛的分裂和分化能力,促进芽丛单芽数的递增。萘乙酸的主要作用是促进细

胞伸长,并具有促进细胞核分裂和不定根形成的作用。二者配合使用可促进生长和分化^[9];据有关资料记载大多使用细胞分裂素 6-BA 和生长素 NAA 配合诱导兰花不定芽增殖^[10],增殖倍数一般在 2.0~4.5 倍。新植物活性剂对不定芽的增殖倍数可高达 7.6 倍。新植物活性剂大于 5mg/L 时可随浓度增大而增殖数减少,新植物活性剂与萘乙酸配合使用还待进一步研究。对于大规模快繁生产增殖芽的利用率是增殖阶段最重要的评估指标,增殖芽的利用率是受增殖倍数、芽长度、芽质量等指标所决定^[11]。5mg/L 新植物活性剂对新增不定芽高度均匀,长势较好,对商品化育苗生产能带来较好经济效益。新植物活性剂对不定芽增殖有较高的活性,比 6-BA 具有更好的效果。

参考文献:

- [1] 卢思聪.中国兰和洋兰[M].北京:金盾出版社,1994.160~161.
- [2] 曹致义.实用植物组织培养技术[M].兰州:甘肃科学技术出版社,1996.154~155.
- [3] 杨玉珍,雷呈,胡如善,等.文心兰的组织培养和快速繁殖技术[J].江苏农业科学,2003,6:77~79.
- [4] 李再峰,罗富英.14个N-取代苯基-N'-[6-(2-取代苯并噻唑)基]脲类化合物的合成与结构表征[J].有机化学,2001,4:317~321.
- [5] 李再峰,罗富英.N-芳基-N'-取代噻唑基脲的合成与结构表征[J].化学研究与应用,2001,1:80~82.
- [6] 李再峰,罗富英,陈邦俊,等.细胞分裂素混剂对红元帅苹果座果率的影响[J].农药,2002,41(5):38~39.
- [7] 李再峰,罗富英,洗勇.杂环脲类细胞分裂素复配剂(CTK)在菠萝上的应用研究[J].中国南方果树,2003,32(4):50~51.
- [8] 奚彪,刘祖生.外植体性质对茶腺芽组培快繁的影响[J].茶叶,1994,20(4):14~17.
- [9] 王衍安,徐瑛,王志武.培养条件对墨兰组培芽增殖和生长的影响[J].山东林业科技,1999,121(2).
- [10] 王小菁,李玲.植物生长调节剂在植物组织培养中应用[M].化学工业出版社,2002.9.
- [11] 卜朝阳.桉树快繁常见问题的研究[J].农村实用工程技术,2004.01.

果树冬剪七注意

吴春波,陈玉东

果树冬季修剪要根据树体状况和自然条件来掌握修剪程度和修剪量,一般要做到七注意。

- 1 注意树龄:幼树和初结果树修剪量要小,修剪程度要轻,要注意增减树型和结果枝组;盛果期树要适当重剪,注意轮换结果枝组;衰老期树重剪,更新结果枝组。
- 2 注意花芽量:花芽量大的果树修剪量要大些,修剪程度适当加重,严格控制花芽总量,使花和叶芽比例控制在1:20左右。花芽少的树,要轻剪多留花芽,对没有花芽的枝和枝组要重剪以更新结果枝组。

- 3 注意树体:强旺树要轻修剪,主要去直立强旺枝,留侧立枝和中庸枝,以缓和树势,进而促进花芽形成;弱树要重修剪,主要剪去弱枝和下枝,更新衰老结果枝组。
- 4 注意品种特性:萌芽力和成枝力强的品种,易造成树冠郁闭,光照不良,修剪量宜大,修剪时要多疏枝,少截留中庸枝。
- 5 注意栽培管理条件:肥水管理条件好、树体强健的树,修剪程度要轻;相反,山坡薄地、管理条件差的树,修剪量要大些,修剪程度应适当重些,少疏多剪。
- 6 注意用人工支、拉枝条等方法开张角度时,不能用力过猛、过大,要先拿枝软化,以免将树枝拉折和拉劈。
- 7 注意要做到边剪消毒。常用的药物有10倍液康宝、30倍液9281及3波美度石硫合剂等,剪除病虫枝。

(黑龙江省宁安市小北湖林场 157400)