

离体培养丽水野生白芨快速繁殖

吴华芬, 姚 宏, 刘南祥, 诸葛华

(丽水农业科学研究所 浙江 丽水 323000)

摘 要: 利用植物组织培养法进行丽水野生白芨进行离体培养快速繁殖试验研究。结果表明: MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L 时, 对于诱导丽水野生白芨原球茎增殖效果明显。而 MS+6-BA 0.5 mg/L+IBA 0.1 mg/L 时, 对于诱导原球茎分化成苗效果明显。

关键词: 离体培养; 丽水野生白芨; 快速繁殖

中图分类号: S 682.31 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2008)06-0180-03

丽水野生白芨 (*Bletilla striate*) 属兰科白芨属植物。为地生兰的一种, 块茎可供药, 花紫红色, 株形优美, 受到人们喜爱。因无限制人工采挖, 生态环境遭破坏, 天然贮量日益减少, 目前已被《中国植物红皮书—稀有濒危植物》第 1 册收录, 同时也被写入了《濒危野生动植物国际贸易公约》(CITES) 保护种类。白芨的常规繁殖以

采用块茎增殖居多。但在人工栽培条件下, 1 个块茎能形成 1~3 个新块茎, 年增殖率极低。该研究从培养基、植物生长调节剂种类与配比等环节探讨丽水野生白芨的组培技术, 旨在探索行之有效的快速增殖技术。这对于扩大栽培, 满足市场需求以及保护野生资源都具有十分重要的意义。

1 材料

将丽水野生白芨引种到丽水市农科所科技园野生花卉资源圃, 经人工授粉, 取得的八、九分成熟未开裂的蒴果做为组织培养无菌外植体的试材。经利用常规组培灭菌蒴果方法进行灭菌处理, 转入 1/2MS 培养基进

第一作者简介: 吴华芬(1976-), 女, 浙江庆元人, 农艺师, 现从事园艺和药物等植物组织培养研究工作。E-mail: ls_whf@sina.com.

基金项目: 浙江省一般科研农业项目 (2006C32028)。

收稿日期: 2008-02-30

当生根后的幼苗长至 5 cm 左右时, 即可移栽。移栽前, 将培养瓶的瓶塞打开, 练苗 1 周左右, 然后取出, 用清水洗净根部的培养基, 栽植到河沙和珍珠岩 3:1 配制的营养钵里, 栽植前用 500 倍多菌灵消毒。栽植初期上面覆盖塑料膜保湿, 大约 20 d 左右除去薄膜。

参考文献

- [1] 谭文澄. 叶子花的侧芽培养[J]. 植物生理学通讯, 1983(1): 28.
- [2] 谭文澄, 戴策刚. 观赏植物组织培养技术[M]. 北京: 中国林业出版

社, 1991: 317-320.

- [3] 沈清景. 白色叶子花的组织培养[J]. 植物生理学通讯, 1987(3): 40.
- [4] 程治英. 几种叶子花的组织培养[J]. 植物杂志, 1987(4): 3.
- [5] 杨乃博. 花卉试管繁殖[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1987.
- [6] 杨增海. 园艺植物组织培养[M]. 北京: 农业出版社, 1987.
- [7] 张波, 刘小林, 田振东. 叶子花组培试验研究[J]. 甘肃林业科技, 1999, 24(4): 29-30.
- [8] 李师翁. 叶子花的组织培养与快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 2000, 36(3): 230-230.

Tissue Culture of *Bougainvillea Spectabilis*

DONG Yong-yi¹, SONG Xu², GUO Yuan¹

(1. College of Vocational Technology, Inner Mongolian University for Nationalities Tongliao, Mongolian 028043, China; 2. The Kerqin Area Construction Bureau of Tongliao City, Tongliao Mongolian 028000, China)

Abstract: Taking the stem segment with auxilary buds of potted *bougainvillea* as explants, the writer of this paper, after the experiments of 15 sections of culture media, has found a set of stable and efficient producing procedures which suit the tissue culturing and rapid breeding of bougainvillea. The proper bud induction medium was MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.05 mg/L; the multiplication medium was MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L; the rooting medium was 1/2MS+IBA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L.

Key words: Tongliao; *Bougainvillea spectabilis*; Tissue culture; Induction

行培养。约 7~10 d 左右看见种子吸水膨胀,经 30 d 培养,种子由原来的黄褐色变成淡绿色,继而成为小球体状(即原球茎)。此时的原球茎即为以下试验研究的无菌材料。

2 培养条件

培养温度为(20±2)℃,光照强度为 1 500~2 000 lx,每日光照时间为 12 h。培养方式采用固态静止培养。

3 试验设计

主要针对丽水野生白芨组培应用的基本培养基、植物生长调节剂对原球茎增殖与分化的影响进行设计。

3.1 基本培养基对丽水野生白芨增殖影响

基本培养基是组培试验中培养物的生长营养因子。试验设计以 1.0 mg/L 的 6-BA 和 0.1 mg/L 的 NAA(萘乙酸)为培养基基本附加物,试用 3 种基本培养基,即 MS, H, white 培养基作试验比较。每瓶培养基接种 10 个原球茎,重复 10 瓶(见表 1)。

表 1 基本培养基影响因子设计方案

编号	选用的基本培养基	基本附加物/mg·L ⁻¹	接种材料	接种数
1	MS	6-BA 1.0 + NAA 0.1	原球茎	100
2	H	6-BA 1.0 + NAA 0.1	原球茎	100
3	white	6-BA 1.0 + NAA 0.1	原球茎	100

3.2 细胞分裂素对丽水野生白芨增殖影响

在确定基本培养基后,进行细胞分裂素对丽水野生白芨增殖影响试验。细胞分裂素是植物生长调节剂,它对组织的诱导、器官的分化和植株的再生起着重要的作用。它能促进细胞的分裂和扩大,诱导芽分化等作用。因而在组培快繁试验中作用关键。试验以 MS 添加 0.1 mg/L 的 NAA 生长素为基本培养基,用不同的细胞分裂素(即玉米素 ZT、6-苄基腺嘌呤 6-BA、激动素 KT)进行试验培养。每个设计接种原球茎 100 个(见表 2)。

表 2 细胞分裂素影响因子设计方案

编号	基本培养基	其它附加物	细胞分裂素种类	浓度 /mg·L ⁻¹	接种材料	接种数
4				0.5	原球茎	100
5			ZT	1.0	原球茎	100
6				2.0	原球茎	100
7				0.5	原球茎	100
8	MS	NAA (0.1 mg/L)	6-BA	1.0	原球茎	100
9				2.0	原球茎	100
10				0.5	原球茎	100
11			KT	1.0	原球茎	100
12				2.0	原球茎	100

3.3 生长素对丽水野生白芨增殖影响

在确定基本培养基和细胞分裂素后,进行生长素对丽水野生白芨增殖影响试验。

生长素也是植物生长调节剂,它有诱导愈伤组织的产生、促进细胞脱分化、促进细胞伸长、促进植物生根等作用。生长素也是组培试验中的关键因素。试验以 MS 添加 0.5 mg/L 的 6-BA 细胞分裂素为基本培养基,用不

同的生长素(即萘乙酸 NAA、吲哚乙酸 IAA、吲哚丁酸 IBA)进行培养。每个设计接种原球茎 100 个(见表 3)。

表 3 生长素影响因子设计方案

编号	基本培养基	其它附加物	生长素种类	浓度 /mg·L ⁻¹	接种材料	接种数
13				0.02	原球茎	100
14			NAA	0.1	原球茎	100
15				0.5	原球茎	100
16				0.02	原球茎	100
17	MS	6-BA (0.5 mg/L)	IBA	0.1	原球茎	100
18				0.5	原球茎	100
19				0.02	原球茎	100
20			IAA	0.1	原球茎	100
21				0.5	原球茎	100

4 结果与分析

4.1 原球茎增殖和分化的一般情况

原球茎经分割接种后 10 d 左右,在原球茎表面开始形成纤细的白色绒毛,继续培养 10 d 左右,产生 1 个或多个肉眼可见的乳白色的瘤状小突起,即新原球茎的初期。随后 20 d,球状突起逐渐增大,呈浅绿色(新原球茎形成)。新形成的原球茎不经分割继续培养 30 d,有的形成丛生形的原球茎,有的形成芽和小植株。

4.2 基本培养基丽水野生白芨增殖影响

表 4 设计 1 试验结果

编号	选用的基本培养基	接种原球茎数/个	增殖后原球茎数/个	分化形成芽数/个
1	MS	100	323	117
2	H	100	122	58
3	white	100	47	65

由表 4 可知,经过 60 d 培养,3 种基本培养基种都有原球茎与芽并存的现象。在 MS 培养基中,原球茎增殖个数最明显,且分化数也在 3 种培养基中最多,并且新形成的原球茎短而粗,多数呈树杈状丛生形。而 white 培养基分化芽数居中等,但是原球茎增殖数极少,几乎没有增殖。H 培养基则分化成芽数最低,但原球茎增殖数在 MS 培养基和 white 培养基之间。该试验结果表明,丽水野生白芨原球茎的增殖、分化与培养基中无机盐和有机成份的种类及含量等相关。在选育的 3 种培养基种,MS 培养基有无机盐 14 种(其中大量元素 6 种)、有机成分 5 种,为高无机盐种类,高无机盐含量的培养基;H 培养基有无机盐成份 12 种(其中大量元素 5 种)、有机成分 7 种,为中等无机盐种类,中等无机盐含量的培养基;white 培养基有无机盐 11 种(其中大量元素 3 种)、有机成分 4 种,为低无机盐种类,低无机盐含量的培养基。从以上的表现结果可以看出,丽水野生白芨原球茎增殖分化要求矿物种类较为复杂,基本培养基以 MS 等高无机盐的培养基为好。

4.3 细胞分裂素对丽水野生白芨增殖影响

表 5 设计 2 试验结果

编号	基本培养基	其它添加物	细胞分裂素	浓度 /mg·L ⁻¹	接种原球茎数/个	增殖后原球茎数/个	分化形成芽数/个
4				0.5	100	162	73
5			ZT	1.0	100	99	27
6				2.0	100	104	0
7				0.5	100	327	129
8	MS	NAA (0.1 mg/L)	6-BA	1.0	100	431	93
9				2.0	100	165	71
10				0.5	100	105	43
11			KT	1.0	100	225	61
12				2.0	100	313	88

由表 5 可知, 经过 60 d 培养, 除 ZT 2.0 mg/L 的培养基中只有原球茎少量增殖外, 其它配比的培养基中都有原球茎与芽并存的现象。原球茎增殖数经培养后以 6-BA 1.0 mg/L 的培养基表现最多。6-BA 0.5 mg/L 和 KT 2.0 mg/L 的培养基次之, 其它的表现都一般。分化成芽的个数以 6-BA 0.5 mg/L 的培养基表现最好, 6-BA 1.0 mg/L 和 KT 2.0 mg/L 的培养基次之, 其它一般。而 ZT 2.0 mg/L 培养基则未能分化成苗。但附加 KT 的培养基上分化出的苗有 10%~15% 出现白化现象, 这不利于丽水野生白芨的生长, 而且完全白化苗在以后的移栽中也难以成活。所以, 可以认为中等浓度的 6-BA (1.0 mg/L) 对丽水野生白芨原球茎的增殖最为有利, 而低浓度的 6-BA (0.5 mg/L) 对丽水野生白芨原球茎的分化最为有利。

表 6 设计 3 试验结果

编号	基本培养基	其它添加物	细胞分裂素	浓度 /mg·L ⁻¹	接种原球茎数/个	增殖后原球茎数/个	分化形成芽数/个
13				0.02	100	255	101
14			NAA	0.1	100	306	129
15				0.5	100	149	77
16				0.02	100	185	121
17	MS	6-BA (0.5 mg/L)	IBA	0.1	100	207	221
18				0.5	100	253	132
19				0.02	100	144	65
20			IAA	0.1	100	187	89
21				0.5	100	223	142

4.4 生长素对丽水野生白芨增殖影响

由表 6 可知, 经 60 d 培养, 以上配比培养基中都有

的原球茎与芽并存的现象。原球茎增殖数经 60 d 培养后以 NAA 0.1 mg/L 的培养基最多; 分化成芽的个数以 IBA 0.1 mg/L 的培养基最好。所以, 可以认为中等质量浓度的 NAA (0.1 mg/L) 对丽水野生白芨原球茎的增殖最为有利, 而 IBA (0.1 mg/L) 对丽水野生白芨原球茎的分化最为有利。

5 生根与移栽

5.1 生根培养

将丽水野生白芨无根苗, 苗高为 3~4 cm 无菌苗进行生根培养。基本培养基为 1/2 MS 培养基添加 NAA 0.5 mg/L 进行生根培养。培养到 10 d 后, 无根苗开始陆续生根, 到 30 d 后, 白芨无菌苗都有 2~5 条根发生。可以进行移栽。

5.2 无菌生根苗的移栽

当丽水野生白芨无菌生根苗有根 3~5 根时, 即可移栽。移栽时, 打开瓶取出小苗, 洗净粘在根上的培养基 (尽量少伤根), 晾苗后, 移栽到经消毒的基质中 (60% 泥炭土+40% 珍珠岩为佳), 适度遮荫。保持一定的湿度, 成活率可达 80% 以上。待组培移栽苗新叶展开和新根生长, 按相关的常规管理即可。

6 结论

丽水野生白芨可应用植物组织培养方法进行无性快速繁殖, 每隔 50~60 d 即可进行原球茎增殖, 在 1 a 内就能繁殖大量幼苗。从试验结果可以看出, 丽水野生白芨原球茎诱导、增殖、分化成芽等过程可在同一种培养基上完成, 但其各生长发育情况在不同的培养基上有明显差异。当培养基配比为 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L 时, 对于诱导原球茎增殖效果明显。而 MS+6-BA 0.5 mg/L+IBA 0.1 mg/L 时, 对于诱导原球茎分化成苗效果明显。

参考文献

[1] 王清莲. 植物组织培养[M]. 北京: 中国农业出版社, 2002.
[2] 程广有. 名优花卉组织培养技术[M]. 北京: 科学技术文献出版社, 2001.

Tissue Culture and Rapid Propagation Technology of Lishui Wildness *Bletilla striate*

WU Hua-fen, YAO Hong, LIU Nan-xiang, ZHUGE Hua
(Lishui Institute of Agricultural Sciences, Lishui, Zhejiang 323000, China)

Abstract: Studied the tissue cultures and rapid propagation of Lishui wildness *Bletilla striate*. The results showed that the medium compose of MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L was favorable to the proliferation of the original bulb. The medium compose of MS+6-BA 0.5 mg/L+IBA 0.1 mg/L was favorable that the original bulb became divided the bud.

Key words: Tissue-culture in vitro; Lishui wildness *Bletilla striate*; Rapid propagation