

大叶风兰组培快繁技术体系的研究

王 裕, 韩 磊, 丁雪珍, 丁世民

(潍坊职业学院 山东 潍坊 261031)

摘 要:通过大叶风兰的花梗腋芽诱导出无菌植株,再利用无菌植株茎尖诱导形成原球茎,成功地诱导分化形成了再生植株,筛选出了花梗腋芽启动、原球茎诱导、增殖、生根以及过渡培养等培养基配方,形成一套完整的大叶风兰组培快繁技术体系。

关键词:大叶风兰;组织培养;快速繁殖

中图分类号:S 682.31 **文献标识码:**A **文章编号:**1001—0009(2010)10—0173—03

大叶风兰(*Neofinetia falcate*)属附生兰类,主要产于韩国、日本。喜欢温暖、潮湿、半阴、通风的环境,植株娇小,是近几年从韩国引进的“香花洋兰”。风兰的根、茎、叶和花都是观赏对象,具有株型迷你,造型奇特,花具异香等特点,越来越受到人们的青睐,市场开发价值较大。尽管在市场上已占据了一定位置,但与蝴蝶兰、大花蕙兰比较,目前应属稀有品种^[1]。大叶风兰若采用传统的分株繁殖,每年每株仅繁殖2~3个芽,繁殖系数很低,繁殖速度慢、周期长,难以迅速占领市场,满足需求。应用组织培养技术,可以加快繁殖速度,进行工业化生产^[2]。以新引进的大叶风兰优良品种为材料,将大叶风兰的花梗腋芽诱导培养生成无菌植株,再利用无菌植株茎尖诱导形成原球茎,成功地诱导分化形成了再生植株,达到快速繁殖的目的。

1 材料与方法

1.1 试验材料

选取大叶风兰未开花的带腋芽花梗为供试材料。

1.2 试验方法

1.2.1 消毒 选取大叶风兰未开花的带腋芽花梗,用流水冲洗30 min后,切成长约2~3 cm带腋芽的花梗节,用无菌滤纸吸干水分,用70%的酒精浸泡20~30 s后,用无菌水冲洗5遍,再用0.1%的升汞分别浸泡15 min,无菌水冲洗5~8次,用无菌滤纸吸干水分。

1.2.2 培养基 采用MS+蔗糖20 g/L+琼脂粉3.5 g/L+活性炭1.5 g/L+不同激素组合,pH 5.4的培养基,培养温度(25±2)℃,光照强度1 500 lx,光照时间12 h/d。

2 结果与分析

2.1 花梗腋芽启动培养

试验目的是将花梗腋芽启动,形成营养芽,在三角瓶内长成无菌植株,以便利用无菌植株的茎尖诱导原球茎进行快速繁殖^[3]。花梗腋芽接种在营养芽诱导培养基上,7 d左右腋芽开始萌动膨大,30 d左右长出小叶。

研究结果表明,不同激素及其浓度配比对于花梗腋芽启动培养的影响差异显著(表1)。代号A2培养基MS+6-BA 2.0 mg/L出芽率最高,达90%。

表1 不同激素组合对花梗腋芽启动培养的影响

培养基代号	6 BA	NAA	接种数 /个	出芽数 /个	出芽率 /%
	/mg·L ⁻¹	/mg·L ⁻¹			
A1	1.0	0	100	31.5	31.5 d
A2	2.0	0	100	90.0	90.0 a
A3	3.0	0	100	76.5	76.5 b
A4	4.0	0	100	55.0	55.0 c
A5	1.0	0.5	100	26.5	26.5 d
A6	2.0	0.5	100	35.0	35.0 d
A7	3.0	0.5	100	50.0	50.0 c
A8	4.0	0.5	100	36.5	36.5 d

注:小写字母代表P<0.05的显著水平,以下同。

2.2 原球茎诱导

将花梗腋芽试管苗的茎尖接种在原球茎诱导培养基上,40 d后比较试验结果。不同激素组合的诱导情况见表2。

表2 不同激素种类和浓度对诱导原球茎的影响

代号	6-BA	NAA	接种数 /个	出芽数 /个	出芽率 /%
	/mg·L ⁻¹	/mg·L ⁻¹			
B1	6.0	0.5	100	32	32c
B2	5.0	0.5	100	63	63b
B3	4.0	0.5	100	94	94a
B4	3.0	0.5	100	45	45c
B5	2.0	0.5	100	34	34c
B6	1.0	0.5	100	22	22d
B7	4.0	0.2	100	76	76b
B8	3.0	0.2	100	50	50b
B9	2.0	0.2	100	31	31c
B10	1.0	0.2	100	20	20d

试验结果表明,不同激素组合对原球茎诱导率影响差异显著。所有组合都可以诱导出原球茎,在相同浓度

第一作者简介:王裕(1978-),女,山东潍坊人,硕士,主要研究方向为生物技术及应用。E-mail: qqwy2008@163.com。
收稿日期: 2010-01-29

的 NAA 下,高浓度 6-BA 对原球茎诱导有明显促进作用,但高于 5.0 mg/L 则会抑制其生长。其中 B3 组合 MS+6-BA 4.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L 诱导率最高,达 94%。

2.3 原球茎增殖

原球茎继代增殖应在转绿之前,将原球茎切成小块(3 mm),并给予针刺损伤^[4],接种在不同激素组合的原球茎增殖培养基上,培养时间为 30 d。由表 3 可知,不同激素组合对原球茎增殖效果差异显著。6-BA 和 NAA 组合影响较大,C1 组合增殖速度最慢,C4 组合增殖速度最快,增殖系数达 2.2。6-BA 浓度越高玻璃化程度越大。由此可见 MS+6-BA 3.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L 是原球茎增殖的最佳培养基。

表 3 不同激素组合对原球茎增殖的影响

组合代号	6-BA /mg·L ⁻¹	NAA /mg·L ⁻¹	接种数 /个	调查时间 /d	增殖 系数
C1	1.0	0	100	30	1.3 c
C2	1.0	0.2	100	30	1.7 b
C3	1.0	0.5	100	30	1.4 c
C4	3.0	0.2	100	30	2.2 a
C5	3.0	0.5	100	30	1.7 b
C6	5.0	0.2	100	30	1.8 b
C7	5.0	0.5	100	30	1.4 c

2.4 原球茎分化生根

将原球茎分化的试管苗,接种在不同激素组合的生根培养基上,培养 30 d 后观察试验结果。由表 4 可知,不同激素组合培养基对组培苗生根率影响不大,生根率都达到 100%,但对平均根数影响差异显著。8 个组合的

表 5 过渡培养对组培苗移栽成活的影响

培养基	6-BA /mg·L ⁻¹	NAA /mg·L ⁻¹	蔗糖 /g·L ⁻¹	接种苗 数/株	过渡培养时间 /d	移栽成活数 /株	移栽成活率 /%
过渡培养	0	0	10	80	15	68	85.0 a
CK	1.0	0.5	20	80	15	58	72.5 b

3 讨论

不同浓度的 6-BA 可促进花梗腋芽和茎尖分化形成芽和原球茎。试验表明,较低浓度的 6-BA 可促进花梗腋芽和茎尖分化形成较多的芽,而较高浓度的 6-BA 可促进花梗腋芽和茎尖分化形成较多的原球茎^[3]。试验中,6-BA 2.0 mg/L 对花梗腋芽启动分化出芽效果最好,6-BA 4.0 mg/L 对茎尖分化形成原球茎效果最好,而 6-BA 浓度再高,达 6.0 mg/L 时,会使外植体褐化,抑制其生长。

在原球茎转绿之前,将其切成小块(3 mm),接种在增殖培养基上进行增殖培养研究。研究表明,MS+6-BA 3.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L+琼脂粉 3.5 g/L+活性炭 1.5 g/L+10%香蕉汁是原球茎增殖的最佳培养基。诱导出原球茎后不能急于切割或转接,否则易褐化死亡。原球茎块在培养瓶内要有一定数量,密集接种,群体生

培养基生根平均根数不同,E2 组合平均根数达 3.1 条,这说明 6-BA 和 NAA 配合使用比单独使用 NAA 或 IBA 更有利于生根。6-BA 1.0 mg/L 时平均根数多,使用 NAA 比 IBA 生根数略多,且考虑到 NAA 在培养基灭菌过程中稳定,并且价格比 IBA 低,所以生产中以用 6-BA 1.0 mg/L 和 NAA 0.5 mg/L 配合作为生根剂为好。

表 4 不同激素组合对试管苗生根的影响

组合代号	6-BA /mg·L ⁻¹	NAA /mg·L ⁻¹	IBA /mg·L ⁻¹	接种苗 数/株	生根苗 数/株	生根率 /%	平均根 数/条
E1	3.0	0.5	0	100	100	100	2.2 c
E2	1.0	0.5	0	100	100	100	3.1 a
E3	0	1.0	0	100	100	100	1.8 d
E4	0	0.5	0	100	100	100	2.0 c
E5	3.0	0	0.5	100	100	100	2.0 c
E6	1.0	0	0.5	100	100	100	2.6 b
E7	0	0	1.0	100	100	100	1.5 e
E8	0	0	0.5	100	100	100	1.8 d

2.5 试管苗驯化移栽

将具有 3~4 片叶子的生根试管苗接种在无激素和低蔗糖浓度的 1/2MS+蔗糖 10 g/L+琼脂粉 3.5 g/L+活性炭 1.5 g/L+10%香蕉汁,pH 5.4 的培养基上。对照为 1/2MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L+蔗糖 20 g/L+琼脂粉 3.5 g/L+活性炭 1.5 g/L+10%香蕉汁,pH 5.4 的培养基。培养 15 d 后移栽 30 d 后观察小苗生长情况。研究发现利用过渡培养基进行过渡培养能够提高大叶风兰试管苗移栽成活率,成活率比对照能提高 12.5%。

长旺盛,表现群体生长优势效应^[5]。

试管苗的驯化练苗及移栽成活率的高低取决于温度、湿度、光照、练苗基质、苗子质量、练苗及移栽方式等多个因素^[3]。大叶风兰喜欢较高的空气湿度,空气湿度不宜低于 80%。培养温度一般在 18~28℃,冬季保持最低气温在 5℃以上。最佳练苗移栽季节为春季 3~4 月份,且在移栽初期要适时遮荫,遮光 50%左右效果最好。

参考文献

[1] 丁世民. 洋兰中的佳类—韩国风兰[J]. 农业知识, 2007(8): 39.
[2] 胡如善, 杨玉珍, 秦书林, 等. 大叶风兰的组织培养[J]. 江苏农业科学, 2005(5): 82-84.
[3] 赵九洲. 洋兰生物技术研究及其应用[J]. 北方园艺, 2005(4): 77-78.
[4] 张元国, 刁家连, 刘玉娥, 等. 蝴蝶兰花梗腋芽组培再生技术体系的研究[J]. 山东农业科学, 2004(6): 3-5.
[5] 李军, 柴向华, 曾宝, 等. 蝴蝶兰组织培养工厂化生产技术[J]. 园艺学报, 2004, 31(3): 413-414.

矮紫薇试管苗的土壤支撑生根培养和带坨移栽

柴慈江, 王 丹, 史燕山, 骆建霞, 董维娜, 穆瑞丹

(天津农学院 园艺系, 天津 300384)

摘 要:以土壤做培养基支撑物对矮紫薇试管苗微茎进行生根培养, 40 d 后其生根率达到 97.9%, 显著高于琼脂支撑培养基中微茎的生根率, 前者的根长、根数及茎长也显著高于后者。将土壤支撑培养的矮紫薇试管苗经开瓶练苗 2 周后, 带坨移入营养钵中, 在移栽后不喷雾、不覆膜, 空气相对湿度低至 50%~60% 的条件下, 成活率达到 95.0%, 显著高于常规移栽对照的成活率 (10.0%)。对矮紫薇试管苗叶片气孔的开闭状况进行了观察, 结果显示: 在开瓶练苗 14 d 后, 土壤支撑培养的矮紫薇试管苗在黑暗中叶片气孔的关闭率由 41.2% 增加到 80.0%。

关键词:矮紫薇; 试管苗; 土壤; 生根; 带坨移栽

中图分类号:S 685.99 **文献标识码:**B **文章编号:**1001—0009(2010)10—0175—03

矮紫薇 (*Lagerstroemia indica* ‘Petite pinkle’) 是近年由国外引入的 1 个紫薇栽培品种, 株型低矮、紧凑, 花色富于变化, 适应性强, 可以拓展紫薇属植物的应用空间, 发展前景看好^[1-2]。利用组织培养快速繁殖技术是尽快获得矮紫薇大量苗木的有效途径, 而试管苗的移栽是组培快繁技术的关键环节。现对矮紫薇试管苗的生根与移栽技术进行探讨, 以便为完善其组织培养快繁技术提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以在含有 NAA 0.1 mg/L 的 1/2MS 培养基中继代培养的矮紫薇试管苗为试材, 试验用土为取自天津农学

院内的粘壤土, 全盐含量为 0.405%, pH 8.12, 水解氮含量为 74.27 mg/kg, 速效磷含量为 38.27 mg/kg, 速效钾含量为 228.00 mg/kg。

1.2 试验方法

1.2.1 土壤做培养基支撑物对矮紫薇试管苗生根的培养 土支撑培养: 以大口瓶为培养容器, 先在培养瓶中加入上述粘壤土, 再加入不含琼脂的培养基, 培养基成分为不含大量元素的 MS 培养基并附加 0.1 mg/L 的 NAA 和 15 g/L 的蔗糖。培养瓶封口并常规灭菌后, 每瓶接种 5 个试管苗茎段, 每个处理接种 10 瓶, 共 50 个茎段。琼脂支撑培养(对照): 以大口瓶为培养容器, 瓶内加入含有 7 g/L 琼脂的培养基, 培养基成分为大量元素减半的 MS 培养基并附加 NAA 0.1 mg/L, 常规灭菌后, 每瓶接种 5 个茎段, 每个处理接种 10 瓶, 共 50 个茎段。上述处理接种后放于培养室培养, 培养室条件为: 温度 23~28℃, 光照为 2 000~3 000 lx, 光照时间为 14 h/d。培养 40 d 后, 调查记录试管苗的生根与生长状况。

第一作者简介:柴慈江(1960-), 男, 天津人, 硕士, 副教授, 主要研究方向为园艺植物组织培养。E-mail: cijiang336@hotmail.com。
基金项目: 国家科技部星火计划资助项目(2008GA610015); 天津市科委资助项目(08ZHXHNC07000)。
收稿日期: 2010-02-22

Study on the Tissue Culture and Rapid Propagation Technique System of Big Leaf *Neoinetia falcata*

WANG Yu, HAN Lei, DING Xue-zhen, DING Shi-min
(Weifang Vocational College, Weifang, Shangdong 261031)

Abstract: The aseptic plants were induced from flower stems axillary buds. The protocorms were induced from the shoot tips. Regenerated plants were formed under induction and culture on differentiated medium successfully. The flower stems axillary bud deriving, the protocorms inducing, regeneration, rooting, transition medium were selected. It formed a complete set of tissue culture and rapid propagation technique system of big leave *Neofivetiafalcata*.

Key words: big leave *Neofivetiafalcata*; tissue culture; rapid propagation