

山慈菇快速繁殖体系的建立

廖婷婷, 邹嘉欣, 王万军

(西南交通大学, 四川 成都 610031)

摘要:以山慈菇的组织芽块外植体为试材,采用单因素变量法,通过对基本培养基、大量元素、单一激素、激素组合等因素的研究,探讨最适宜的山慈菇培养方案,建立山慈菇快速繁殖体系。结果表明:最适宜组织芽块外植体生长的培养基为 $1/4 MS + 0.1 \text{ mg/L NAA} + 2.0 \text{ mg/L BA} + 3\% \text{ 蔗糖} + 0.5\% \text{ 活性炭} + 0.55\% \text{ 琼脂}$, pH 5.8, 培养 45 d, 生长率为 51.03%, 增重率为 52.49%。

关键词:山慈菇;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(2012)09-0121-05

山慈菇为兰科植物杜鹃兰、独蒜兰和云南独蒜兰的干燥假鳞茎。味甘、微辛、寒,有小毒,入肝脾经,有消肿散结、化痰、清热、解毒之功效,广泛应用于抗肿瘤药物之中^[1]。由于近年来的过度开采,野生药用资源匮乏,供求矛盾日益突出^[2]。通过分株繁殖和种子繁殖等方法都存在周期长、效率低的缺点,而在许多植物中都证明采用现代繁殖手段如组织培养快速繁殖是获得大量优良种苗的途径之一^[3-6]。

近年来,国内外已有不少学者对山慈菇组织培养领域进行了研究,由于野生山慈菇较少,可取用的材料数量有限,利用种子无菌萌发的方法周期长,黄成林等^[7]研究表明,经种子萌发的幼芽体是独蒜兰组织培养的最佳外植体,愈伤组织的形成受激素的种类和浓度影响,如高浓度 2,4-D 有利于大量愈伤组织的快速形成,但褐变死亡率较高;2 mg/L 6-BA 是最适宜芽块生长;一定浓度 NAA 对芽的增殖和生长都有抑制作用。同样的, Mukhopadhyay M J 等^[8]也利用山慈菇的完整球茎和芽进行离体培养时发现,能直接发育成植株的完整球茎很难长出球茎,而芽能较快地增殖分化,同时也改变培养基中激素来研究山慈菇的生根等情况。李洪林等^[3]以独蒜兰的假鳞茎为外植体,接种于添加 NAA 与 6-BA 激素组合的 VW 培养基上,培养 25 d 左右萌发新芽,40 d 便可长出 1.5 cm 的侧芽。并探讨了独蒜兰增殖的丛生芽、假鳞茎 2 种方式。傅承新等^[9]也通过假鳞茎体外培

养,来探讨了新芽的形成过程。

其它外植体方面,冯佛生^[10]已从种子、球茎 2 种外植体出发,研究了不同激素配对外植体的影响。尤超等^[11]利用人工授粉获得山慈姑(独蒜兰)种子,利用其未成熟胚进行种子萌发试验,探讨了蔗糖浓度、活性炭浓度、基本培养基、4 种单激素(6-BA、KT、NAA、IAA)及各自不同浓度、2 种双激素组合及不同浓度等对山慈菇种子萌发率的影响。另外, Mukhopadhyay M J 等^[12]用体细胞胚胎发生的方法进行了山慈菇愈伤组织的研究。

然而在目前的研究中,对组织芽块的研究仅停留在从愈伤组织角度探讨组织芽块出芽及发育过程,并没有专门研究山慈菇独蒜兰种子无菌萌发后组织芽块的生长情况。现以山慈菇独蒜兰种子无菌萌发形成的组织芽块为材料,在激素水平基础上,从生长率、增重率和长势三方面指标建立了完整的山慈菇独蒜兰快速繁殖技术体系,解决山慈菇独蒜兰的人工繁殖技术难题,为该资源的开发应用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

选择生长在四川省都江堰赵公山地区的天然野生独蒜兰植物的成熟种子,以经种子无菌萌发后形成的幼嫩组织芽块为材料进行无性繁殖体系研究^[13]。

1.2 试验方法

1.2.1 基本培养基的选择 以 $1/2X + 0.05 \text{ mg/L NAA} + 2\% \text{ 蔗糖} + 0.55\% \text{ 琼脂}$, pH 5.8 作为诱导培养基(其中:X 为 MS、H、Nitsch、B₅、N₆, 1/2X 指的是诱导培养基中的大量元素是 X 基本培养基中的大量元素的 1/2 量,而微量元素、铁盐及有机元素的量为 X 基本培养基中的量),进行基本培养基的筛选试验,试验中仅分别改变诱导培养基的基本培养基,其它成分不变,然后根据

第一作者简介:廖婷婷(1986-),女,在读硕士,研究方向为植物生物技术。E-mail:568350278@qq.com。

责任作者:王万军(1962-),男,博士,教授,研究方向为植物生物技术。E-mail:wanyunwang@home.swjtu.edu.cn。

收稿日期:2012-01-29

芽块在培养基中的生长情况确定最佳基本培养基。

1.2.2 基本培养基中大量元素的含量 最佳基本培养基确定之后,分别设置 2、1.5、1、1/2、1/4、1/8× 等 6 种不同大量元素含量的培养基,其中“×”表示诱导培养基中大量元素是基本培养基中的大量元素的量的倍数,诱导培养基中的其它成分不变。

1.2.3 单一激素 诱导培养基中的最佳基本培养基和大量元素的含量确定后,以每一种激素(2,4-D、NAA、IAA、6-BA、KT)作单因素试验,探索山慈菇组织芽块在诱导培养基中生长的最佳激素及其浓度,各激素的浓度设置分别为(mg/L)2,4-D:0、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0; NAA:0、0.025、0.05、0.075、0.1、0.125、0.15; IAA:0、0.5、1.0、1.25、1.5、1.75、2.0; 6-BA:0、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0; KT:0、0.5、1.0、1.5、1.75、2.0、3.0。

1.2.4 激素组合 根据单一激素的试验结果,选择适宜山慈菇组织芽块生长的最佳与次佳生长素组合;并分别以最佳、次佳生长素与最佳细胞分裂素组合,以确定 2 条途径中最佳激素组合及其浓度。

1.2.5 其它成分 根据以上试验的最佳培养基,进行蔗糖和活性炭两方面的探讨,蔗糖浓度设置为(%) 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0;活性炭浓度设置为(%)0.5、0.75、1.0、1.5、2.0。

1.2.6 试验安排及培养条件 该试验中每瓶培养基中接种黄褐色组织芽块外植体 3~5 块,每种类型的培养基每次试验配 3 瓶,3 次重复,后取平均值。接种后每 9 d 观察 1 次,总计观察记录 45 d。培养温度为 20~25℃;光照强度 1 500 lx 左右,每日光照时数 12 h。

1.3 数据统计及分析

该试验以外植体在培养基中的生长率、增重率和长势作为 3 个结果指标,生长率是以长、宽、高 3 个方向上长度伸长率的最大值作为生长率;增重率是外植体 45 d 的增重量占原重量的比率;长势是对培养基中的外植体生长状态好坏的描述,用“+”、“++”、“+++”代表 3 个等级,“+”越多,长势越好。并针对 3 次山慈菇组织芽块材料的生长结果取平均值,然后,对生长率和增重率进行 2 个样本均数的 t 检验($t_{0.1,df=16,双侧}=1.746$, $t_{0.05,df=16,双侧}=2.12$, $t_{0.01,df=16,双侧}=2.921$)。

生长率和增重率计算公式如下:

$$\text{生长率} = \frac{\text{第 } n \text{ 天时最大方向上的长度(mm)}}{\text{第 1 天时此方向上的长度(mm)}} \times 100\%$$

$$\text{增重率} = \frac{\text{第 } n \text{ 天的材料重量(g)}}{\text{第 1 天的接种材料重量(g)}} \times 100\%$$

2 结果与分析

2.1 基本培养基

针对 MS、H、Nitsh、B₅ 和 N₆ 等 5 种基本培养基,逐个改变诱导培养基中的基本培养基进行试验,结果见表

1。由表 1 可知,组织芽块外植体的最大生长率和增重率均出现在基本培养基为 MS 的诱导培养基中。由于 5 种培养基中的大量元素、微量元素、有机成分等各不相同,MS 中各成分种类丰富,无机盐浓度高^[14]。H 中无机盐含量较少,B₅ 中缺 P 元素、N₆ 微量元素种类少、Nitsh 钙盐过少、且 B₅、N₆ 培养基中的有机元素种类较少,故组织芽块的生长均不如 MS。山慈菇组织芽块生长需要较高无机盐浓度,种类丰富的微量元素和有机元素。

经 t 检验,MS 中外植体的增重率较 B₅ 有显著性差异($t=2.2315 > t_{0.05,df=16,双侧}$);MS 中外植体的生长率较 B₅ 有极显著性差异($t=4.5299 > t_{0.01,df=16,双侧}$),MS 中外植体的长势情况也较好,在实际应用中,MS 应用最为广泛,故选 MS 为最佳基本培养基。

表 1 在基本培养基中山慈菇芽块外植体的生长

Table 1 The growth of *iphipgenia indica* bud explant in changing basic media

基本培养基 Minimal medium	生长率 Growth rate / %	增重率 Weight increment / %	长势 Growth vigour
MS	40.17±5.21	35.19±4.32	++
H	27.36±4.72	26.34±3.27	+
Nitsh	30.78±0.41	26.98±2.00	+
B ₅	32.00±1.46	30.55±4.5	++
N ₆	23.53±4.71	27.11±4.25	+

2.2 基本培养基中大量元素的含量

确定基本培养基为 MS 后,改变基本培养基中大量元素的含量。由表 2 可知,从 2× 到 1/4×,其生长率与增重率均呈上升态势,然后均呈下降趋势,说明植物营养元素过多与不足会造成生长不良;其中,以 1/2× 生长率最好,1/4× 增重率最好,二者长势均好,可见最低到 1/4× 时,各大量元素的量已可满足生长需要;到 1/8× 时,大量元素明显不足,不能满足植物正常的生长需要,故长势不佳,生长率增重率均较低。大量元素的量为 1/2× 和 1/4× 的培养基中外植体生长情况相近,经 t 检验,1/2× 与 1/4× 的生长率无显著性差异($t=0.1358 < t_{0.1,df=16,双侧}$),增重率有极显著性差异($t=3.24 > t_{0.01,df=16,双侧}$),故应选 1/4× 为最佳大量元素含量。

表 2 MS 大量元素的含量对山慈菇组织芽块外植体的影响

Table 2 The main components in MS medium on the explant growth of *Iphigenia indica*

大量元素含量 Major element content	生长率 Growth rate / %	增重率 Weight increment / %	长势 Growth vigour
2×	24.43±4.84	27.41±1.04	+
1.5×	25.20±2.86	28.94±1.05	+
1×	34.51±4.24	30.87±2.79	++
1/2×	38.82±3.82	35.12±2.35	+++
1/4×	38.59±3.35	37.97±1.20	+++
1/8×	26.39±5.26	30.45±1.07	+

2.3 单一激素

确定 1/4MS 后,逐个改变单一激素浓度进行试验,

生长率与增重率结果分别如图 1、2 所示,添加单激素时,外植体的生长率、增重率曲线均是按先上升后下降的趋势发展,单激素浓度较低时,由于不能满足生长所需激素要求,生长状况不佳;单激素浓度过高时,生长态势被抑制,长势亦不佳;在波峰附近的单激素浓度最佳,生长态势良好。从生长率、增重率和长势比较,生长素 2,4-D、NAA 较 IAA 强,分裂素 6-BA 较 KT 强。长势情况方面,2,4-D 在 1.0、1.5 mg/L, NAA 在 0.075、0.01 mg/L, IAA 在 1.5 mg/L, KT 在 1.0 mg/L, 6-BA 在 1.0、1.5、2.0 mg/L, 分别长势最好。

由图 1、2 可知,2,4-D 在 1.5 mg/L 时生长率为 47.18%, 增重率为 48.35%, 此时材料的生长率最大, 且比增重率大; 2,4-D 在 2.0 mg/L 时生长率为 48.13%, 增重率为 47.37%, 此时外植体的增重率最大, 且比生长率大, 所以, 生长率与增重率并不同步且相近的情况下, 2,4-D 在 2.0 mg/L 时外植体生长表现在外观尺寸上, 但增重并不是最大, 说明此时的外植体状态较 2,4-D 在 1.5 mg/L 时而言, 长得结实一些, 且 2,4-D 1.5 mg/L 时长势较好, 故 2,4-D 在 1.5 mg/L 时最佳。经 t 检验, 培养基中组织芽块的生长率在 2,4-D 1.5 mg/L 时与 1.0 mg/L 无显著性差异 ($t_{\text{生长率}} = 1.0008 < t_{0.1, df=16, \text{双侧}}$), 增重率均有较显著性差异 ($t_{\text{增重率}} = 1.7501 > t_{0.1, df=16, \text{双侧}}$), 1.5 mg/L 时与 2.0 mg/L 时生长率与增重率均无显著性差异 ($t_{\text{生长率}} = 0.3777 < t_{0.1, df=16, \text{双侧}}$, $t_{\text{增重率}} = 0.5056 < t_{0.1, df=16, \text{双侧}}$), 故选择生长素组合浓度时, 可选 2,4-D 的 1.0、1.5、2.0 mg/L 3 种浓度。由图 1、2, 添加 NAA 的培养基中的最高生长率 45.87%, 最高增重率 48.93%, 均出现在 0.075 mg/L 时中。经 t 检验, 添加 1.5 mg/L 2,4-D 其生长率比添加 0.075 mg/L NAA 的培养中的材料略佳, 无显著性差异 ($t = 0.5442 < t_{0.1, df=16, \text{双侧}}$), 增重率略差, 也无显著性差异 ($t = 0.3552 < t_{0.1, df=16, \text{双侧}}$), 所以添加 0.075 mg/L NAA 和 1.5 mg/L 2,4-D 对材料的生长影响是差不多的。

分裂素方面, 添加 6-BA 的培养基中外植体的生长情况较添加 KT 优势明显, 在 2.0 mg/L 时, 最大生长率 48.30%, 最大增重率 45.96%, 浓度偏大或偏小都会导致活力下降。鉴于 6-BA 在 1.0、1.5、2.0 mg/L 长势最好, 故选用 6-BA 进行组合时, 选最佳浓度左右两边浓度时可选 1.0 mg/L 和 2.5 mg/L。综上所述, 最佳生长素为 1.5 mg/L 的 2,4-D 和 0.075 mg/L 的 NAA, 最佳分裂素为 2.0 mg/L 的 6-BA。

2.4 激素组合

2.4.1 生长素组合 根据单激素试验结果, 选取最佳生长素 2,4-D 与次佳生长素 NAA 进行组合, 以得出最佳生长素组合比。由图 3 可知, 2,4-D 与 NAA 组合时, 1.0 mg/L 2,4-D 与 0.075 mg/L NAA 最佳, 生长率达

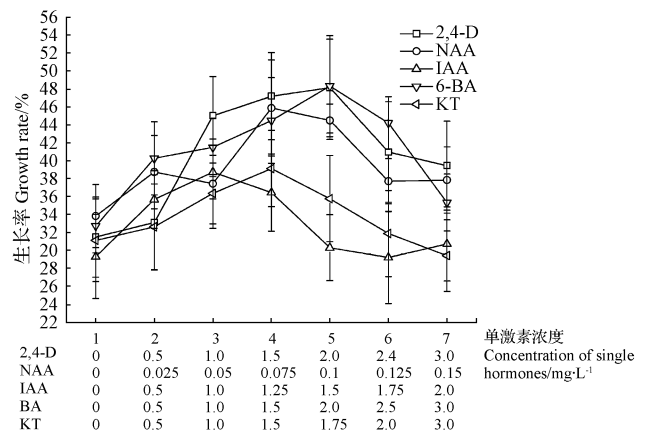


图 1 添加不同单激素培养基对山慈菇组织芽块外植体生长的影响

Fig. 1 On growth of *Ipigenia indica* explant in media with different hormones

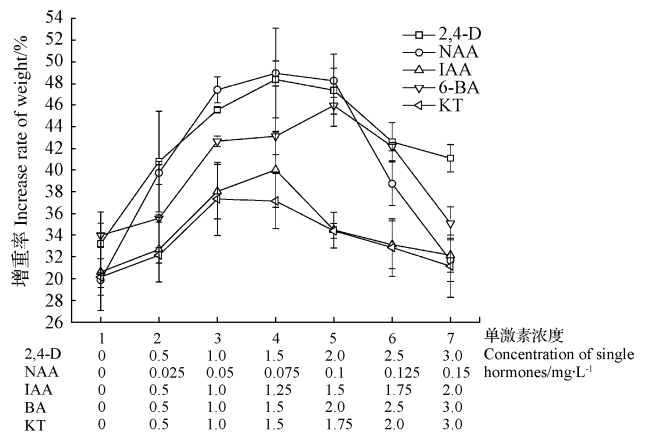


图 2 添加不同单激素培养基对山慈菇组织芽块外植体增重的影响

Fig. 2 On weight of *Ipigenia indica* explant in media with different hormones

47.96%, 增重率达 51.28%。组织芽块外植体的生长率与增重率均比使用单激素时最佳的高, 经 t 检验, A2 生长率与单独使用 2,4-D ($t = 0.3840 < t_{0.1, df=16, \text{双侧}}$)、NAA 时最佳的生长率无显著性差距 ($t = 0.9647 < t_{0.1, df=16, \text{双侧}}$); 增重率方面, A2 与 2,4-D 有较显著性差异 ($t = 1.7479 > t_{0.1, df=16, \text{双侧}}$), 与 NAA 有极显著性差距 ($t = 3.4532 > t_{0.01, df=16, \text{双侧}}$)。说明生长素组合虽然在伸长比尺寸上无明显的影响, 但在外植体的增重上有明显优势。由此得出, 尽管 2,4-D 在 1.5 mg/L 为单激素浓度最佳, 但与 NAA 组合时, 2 种激素相互作用, 配合使用时互相抑制, 使其表现为与单独使用该激素不同的效果。C1、C2、C3 均为 2.0 mg/L 2,4-D 的组合, 生长率与增重率较别的组合略有优势, 说明生长素的作用具有两重性, 低浓度时促进植物生长, 高浓度时阻碍植物生长, 2,4-D 浓度在 2.0 mg/L 时浓度已过高, 生长率、增重率较

小。长势方面,A1、A2、B1 3种组合较好,综合分析,生长素与生长素最佳组合为 A2,即 NAA 浓度为 0.075 mg/L,2,4-D 浓度为 1.0 mg/L。

2.4.2 生长素与细胞分裂素组合 根据单激素试验结果,用 2,4-D、NAA 分别与 6-BA 进行组合,从长势情况来看,A2、A4、B2、B3、B4 较好。由图 4 可知,NAA、2,4-D 在与 BA 组合时,0.05 mg/L NAA 作用不足,2.0 mg/L 2,4-D 浓度明显过大,这 2 类组合的生长率与增重率均较小。而 B2、B3、B4 3 种的组合较优,可看出 6-BA 在 2.0 mg/L 时组合情况最佳,说明 6-BA 无论单独使用还是在与生长素搭配时,2.0 mg/L 均是组织芽块生长的最适浓度。在与 2,4-D 的组合中,随 2,4-D 浓度的增大,大体上外植体呈现生长越来越差的现象,说明高浓度的 2,4-D 对外植体生长不利。在与 2.0 mg/L 6-BA 搭配时,NAA 在 0.1 mg/L 最好,2,4-D 在 1.0 mg/L 最好,其中,最大生长率 51.03%,最大增重率 52.49%均为 NAA 0.1 mg/L 时。经 t 检验,B3 与 B4 生长率无显著性差异($t=0.0280 < t_{0.1,df=16,双侧}$),增重率有较显著性差异($t=1.7734 > t_{0.1,df=16,双侧}$),故可得 NAA 较 2,4-D,对外植体的增重方面有较显著的作用。故生长素与分裂素最佳组合为 B3,即 NAA 浓度为 0.1 mg/L,BA 浓度为 2.0 mg/L。

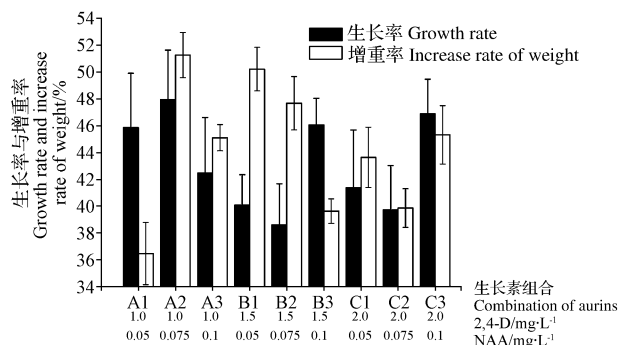


图 3 生长素组合对外植体生长的影响

Fig. 3 The growth and weight in the media with combination of auxins

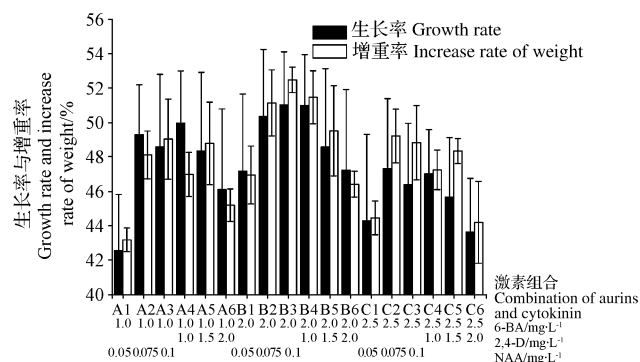


图 4 生长素与分裂素组合试验记录

Fig. 4 The growth and weight in media with combination of auxin and cytokinin

2.5 其它成分

根据上述试验结果,以“1/4MS+0.1 mg/L NAA+2.0 mg/L BA+Y%蔗糖+0.55%琼脂,pH 5.8”为诱导培养基(其中 Y 设为 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0)研究不同蔗糖浓度对外植体生长的影响,结果如图 5 所示,添加 3%蔗糖的培养基中的材料生长率最高,且经 t 检验,3%蔗糖与添加 2%蔗糖培养基中材料的生长率与增重率均有较显著差异($t_{\text{生长率}}=1.7478 > t_{0.1,df=16,双侧}$, $t_{\text{增重率}}=2.0316 > t_{0.1,df=16,双侧}$)。

蔗糖浓度确定之后,在诱导培养基中再添加不同浓度活性炭。由图 6 可知,随着活性炭浓度的增加,外植体的生长率,增重率呈下降趋势,并以添加 0.75%活性炭的培养基中生长率最大,0.5%的增重率最大,且二者均无显著性差异($t_{\text{生长率}}=0.5824 < t_{0.1,df=16,双侧}$, $t_{\text{增重率}}=0.1311 < t_{0.1,df=16,双侧}$)。活性炭作为培养基中吸附剂可以吸附植物生长过程中释放的酚类化合物,抑制褐变,其常用量为 0.05%~0.50%^[15],说明组织芽块外植体在此时期生长释放物较多,但 0.75%活性炭的培养基中外植体与 0.5%相比,0.5%中外植体更结实一些,故活性炭浓度以 0.5%为最佳。

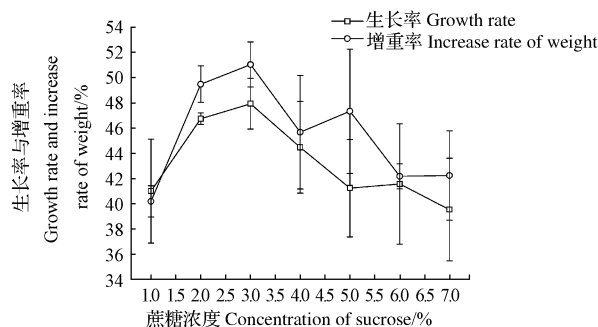


图 5 蔗糖对外植体生长的影响

Fig. 5 The growth of explant in media with different concentration of sucrose

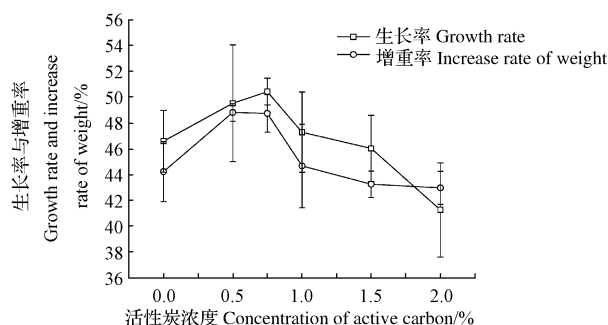


图 6 活性炭对外植体生长的影响

Fig. 6 The growth of explant in media with different concentration of active carbon

2.6 外植体生长情况分析

由图 7 可知,前期组织芽块呈褐色、疏松、不定形,45 d 左右,芽块变成黄色、致密的团块,之后渐变成绿色

组织,芽块体积越来越大,芽点数目越来越多,其后,绿色的芽块表层渐渐长出1层白色的绒毛状物质,其成团状的芽点不久就会突起,根部往培养基深层伸长,芽点冒出后伸长成苗。在图7-E中外植体生长40 d左右,绿叶逐渐萎蔫、干枯,并有脱落之势,之后便可练苗移栽。

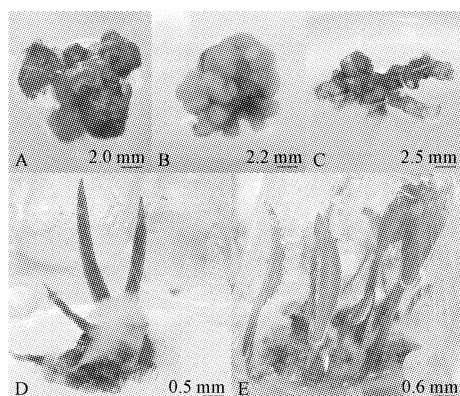


图7 不同生长时期的山慈菇组织

注:A褐色芽块,B绿色芽块,C萌苗的芽块,D初生的芽苗,E带幼叶的苗。

Fig. 7 Different growth periods of bud in *Iphigenia indica*

Note: A, brown buds piece, B, green buds piece, C, sprouting buds pieces; D, nascent bud seedling, E, seedling with younger leaves.

3 结论

该研究从基本培养基、大量元素、单一激素、激素组合及其它成分5方面探讨,山慈菇幼嫩组织芽块的生长率、增重率、长势,全面系统地建立了山慈菇快速繁殖体系。结果表明,培养基中大量元素、激素等浓度均有一个最适值,过大或过小都会抑制材料的生长。根据每一因素的逐个探讨,得到山慈菇组织芽块外植体生长最适宜培养基为1/4MS+0.1 mg/L NAA+2.0 mg/L BA+3%蔗糖+0.5%活性炭+0.55%琼脂,pH 5.8,在此培养基上培养45 d,生长率为51.03%,增重率为52.49%。

该研究每种类型试验每次做3个重复,并重复试验3次取平均值,均值数据经过了严格的2个样本均数的t检验,系统地分析了各类因素以山慈菇组织芽块外植体培养的作用。该试验进行了以激素水平为基础,却高于

激素水平的系统研究。在取材料方面,选取经种子无菌萌发获得的组织芽块为外植体,在种子无菌萌发的基础上,仅研究组织芽块生长增殖过程,可取材料多、操作简单易行、试验周期短,并系统地建立了山慈菇快速繁殖体系,克服了仅研究激素配比的单一性,为获得优质独蒜兰种苗奠定了基础。

参考文献

- [1] 骆红梅,童红,徐洪. 山慈菇质量标准研究[J]. 中国药业,2007,16(10):57.
- [2] 田昌海,王世清. 山慈菇的研究进展[J]. 现代医药卫生,2008,24(7):1009-1010.
- [3] 李洪林,付志惠,杨波. 独蒜兰的离体快速繁殖[J]. 植物生理学通讯,2005,41(5):632.
- [4] 汪杰,刘小青,钱森和. 不同激素水平对石斛兰组织培养的影响[J]. 湖南农业科学,2009(12):21-23.
- [5] 李标,唐坤,刘毅,等. 药用紫锥菊叶片离体培养技术研究[J]. 时珍国医国药,2006,17(3):344-345.
- [6] 陈丽静,齐欣,王玉坤,等. 北五味子快繁体系的建立[J]. 中草药,2011,42(3):575-578.
- [7] 黄成林,项艳,吴泽民,等. 独蒜兰快繁技术的研究[J]. 安徽农业大学学报,2004,31(1):100-103.
- [8] Mukhopadhyay M J, Mukhopadhyay S, Sen S. *In vitro* propagation of *Iphigenia indica*, an alternative source of colchicine[J]. Plant Cell Tissue And Organ Culture,2002(69):101-104.
- [9] Jiang W M, Zhao M S, Fu C X. Studies on *in vitro* regeneration competence of pseudobulb cultures in *Changnienia amoena* Chien [J]. Chinese Science Bulletin,2011,56:2580-2585.
- [10] 冯佛生. 山慈菇(独蒜兰)的快速繁殖[D]. 成都:西南交通大学,2007:41-42.
- [11] 尤超,宋晓婕,石彩娟,等. 不同培养基对山慈菇种子无菌萌发的影响[J]. 安徽农业科学,2011,39(26):16006-16007.
- [12] Mukhopadhyay M J, Mukhopadhyay S. High frequency *in vitro* propagation through somatic embryogenesis of *Iphigenia indica* Kunth et Benth, an endangered medicinal and colchicines yielding herb of commercial interest [J]. Cytologia,2008,73:97-103.
- [13] 宋晓婕. 山慈菇(独蒜兰)无菌种子萌发与植株再生[D]. 成都:西南交通大学,2010:18-19.
- [14] 吴华芬,刘南祥,诸葛华,等. 百合组织培养快速繁殖技术[J]. 中国科技信息,2008,19:73.
- [15] 金波. 台湾蝴蝶兰生产II繁殖[J]. 台湾农业情况,1994,2(1):14-15.

Establishment of Rapid Multiplication System for *Iphigenia indica*

LIAO Ting-ting, ZOU Jia-xin, WANG Wan-jun

(Southwest Jiaotong University, Chengdu, Sichuan 610031)

Abstract: Chosen buds piece of explant the *Iphigenia indica* as test material, by the methods of single factorial variable, including basic medium, the content of large element, single hormone, hormone combination and etc were studied, appropriate cultirate scheme were discussed, and rapid proliferation system of *iphigenia indica* were establishment. The results showed that the culture medium where the tissue bud had the fastest growth was 1/4MS medium with 0.1 mg/L NAA, 2.0 mg/L BA, 3% sucrose, 0.5% active carbon, 0.55% agar. The growth rate and weighting rate was 51.03% and 52.49%.

Key words: *Iphigenia indica*; tissue culture; rapid multiplication