

不同因素对大花蕙兰壮苗生根的影响

胡 琳

(南通农业职业技术学院,江苏 南通 226007)

摘 要:以大花蕙兰“来福神”为试材,在不同浓度 NAA、BA,不同有机物单因素试验基础上,进行 NAA、GA₃ 和马铃薯汁 3 因素 3 水平正交实验设计,研究了各因素对大花蕙兰壮苗生根的影响。结果表明:最佳的壮苗生根培养基配方为:1/2MS+NAA 0.1 mg/L+GA₃ 1.0 mg/L+马铃薯汁 100 g/L+琼脂 8 g/L+蔗糖 20 g/L+活性炭 2 g/L,pH 5.4。

关键词:因素;大花蕙兰;壮苗生根

中图分类号:S 682.31 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)10-0114-04

大花蕙兰(*Cymbidium*)又名虎头兰,是一种观赏价值很高的洋兰,其花朵硕大,枝叶俊秀,深受兰花爱好者的欢迎,也是春节消费的高档盆花^[1]。但是由于大花蕙兰多为杂交品种,种子繁殖无法保持其品种特性,且结实率也相当低,分株能力又很弱,因而繁殖系数极低,繁殖速度慢,远远不能满足工厂化生产的需求^[2-5]。因其繁殖系数不高,许多名贵品种短缺,导致了近几年大花蕙兰价格不断攀升。因此,建立和完善大花蕙兰高频再生和工厂化生产体系是解决这一问题的关键^[6]。

大花蕙兰高频再生体系主要有茎尖诱导原球茎、原球茎的增殖、壮苗和生根四大过程。通过试验发现,在增殖培养基上继代培养,原球茎快速增殖,同时分化长出小芽,形成原球茎与丛芽同时存在的状况。可将分化出的丛芽切割成单株,经壮苗培养使小芽强壮,然后再诱发不定根,从而形成完整的再生植株。此过程需经过壮苗、生根 2 个程序,不但延长了组培苗培养的整个周期,而且在转接中耗费了大量的人力、物力,不利于工厂化生产。因此,该试验研究了将壮苗和生根 2 个过程合二为一,即直接将小芽接入到壮苗生根培养基中,既达到壮苗的目的,也可完成小芽的生根。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试植物材料系红色系大花蕙兰品种,商品名为“来福神”(C. ‘Fukunokam’),以健壮母株假鳞茎上新生侧芽作为外植体诱导出的原球茎。

作者简介:胡琳(1979-),女,江苏南通人,硕士,讲师,研究方向为园艺植物。

基金项目:江苏省挂县强农富民工程资助项目。

收稿日期:2013-01-17

1.2 试验方法

1.2.1 不同浓度的 NAA 对壮苗生根的影响 以 1/2MS 为基本培养基,NAA 设立 5 个浓度水平,分别为 0.1、0.2、0.5、1.0、2.0 mg/L,添加琼脂 8 g/L,蔗糖 20 g/L,活性炭 2 g/L,pH 5.4。取苗高 3~4 cm 的无根小苗,按每瓶 6 株,接种于 5 个浓度的培养基中,每组 10 瓶,每处理重复 3 次。

1.2.2 不同浓度的 BA 对壮苗生根的影响 以 1/2MS 为基本培养基,BA 设立 3 个浓度水平,分别为 0.1、0.5、1.0 mg/L,NAA 均为 0.1 mg/L,添加琼脂 8 g/L,蔗糖 20 g/L,活性炭 2 g/L,pH 5.4。取苗高 3~4 cm 的无根小苗,按每瓶 6 株,接种于 5 个浓度的培养基中,每组 10 瓶,每处理重复 3 次。

1.2.3 不同有机物质对壮苗生根的影响 在壮苗生根培养基中添加一定量的有机物质,如氨基酸、一些天然物质等,对植物的器官、组织或细胞有一定的促进生长的效应,可以提高壮苗生根的作用。分别添加水解乳蛋白 500 mg/L,香蕉汁 100 g/L,苹果汁 100 g/L,马铃薯汁 100 g/L。培养基选用:1/2MS+NAA 0.1 mg/L+琼脂 8 g/L+蔗糖 20 g/L+活性炭 2 g/L,pH 5.4。选取 3~4 cm 的无根小苗按每瓶 6 株,分别接种于加入 4 种有机物质的培养基中,每组 30 瓶,以未添加任何有机物质的作对照组。

1.2.4 NAA、GA₃ 和马铃薯汁配合使用对壮苗生根的影响 据谭文澄等^[2]报道,GA₃ 有利于壮苗,因此该试验采用 NAA、GA₃、马铃薯汁 3 因素 3 水平正交设计(表 1)。基本培养基为 1/2MS,添加琼脂 8 g/L,蔗糖 20 g/L,活性炭 2 g/L,pH 5.4。取苗高 3~4 cm 的无根小苗,按每瓶 6 株,每组 30 瓶。

1.3 项目测定

生根率=生根苗数/培养苗数×100%,平均苗高=苗

表 1 壮苗生根 $L_9(3^4)$ 因素及水平

Table 1 Factors and levels of $L_9(3^4)$ on the root and stronger nursing culture

| 水平 Levels | A NAA/mg · L ⁻¹ | B GA ₃ /mg · L ⁻¹ | C 马铃薯汁/g · L ⁻¹ |
|-----------|----------------------------|---|----------------------------|
| 1 | 0.1 | 0.5 | 70 |
| 2 | 0.5 | 1.0 | 100 |
| 3 | 1.0 | 2.0 | 130 |

高之和/培养苗数。

2 结果与分析

2.1 不同浓度的 NAA 对壮苗生根的影响

试验发现,培养 15 d 后即有根系发生,小苗也有一定程度的增高增粗。30 d 后统计结果发现,每 3 个重复处理间生根率差距不大,从平均生根率上看,5 个处理中以 0.1 mg/L NAA 浓度处理生根率最高,达到 99.43%,而 2.0 mg/L NAA 浓度处理生根率最低,只有 68.13%。5 个处理对小苗的苗高影响差距不大,最高为 1.0 mg/L NAA 处理,苗高 5.23 cm,最低为 0.5 mg/L NAA 处理,苗高 4.87 cm。为进一步了解不同浓度的 NAA 对壮苗生根的影响,看是否存在必然关系,分别对生根率和平均苗高进行方差分析。在对不同浓度 NAA 处理的小苗生根率做方差分析中, $P<0.01$,表明不同浓度的 NAA 处理小苗的生根率有显著差异。对各处理平均数进行比较测验可知,0.2、0.5 mg/L NAA 处理间没有显著差异,0.1、0.2、0.5 mg/L NAA 与 1.0、2.0 mg/L 处理间差异显著。从均值可以看出,中低浓度的 NAA 有利于大花蕙兰的生根,随 NAA 浓度的升高逐步下降,最高的比最低的高出 31 个百分点。在对小苗苗高的方差分析中, $P>0.05$,结果表明,不同浓度的 NAA 处理小苗的苗高无明显差异。由此可知,不同浓度的 NAA 对苗高几乎无影响,对壮苗作用不大。

表 2 不同浓度的 NAA 对壮苗生根的影响

Table 2 Effect of different concentrations of NAA on seedling and rooting

| NAA 的浓度 /mg · L ⁻¹ | 生根率/% | | | 平均生根率 /% | 苗高/cm | | | 平均苗高 /cm |
|-------------------------------|-------|------|------|------------|-------|-----|-----|----------|
| | 1 | 2 | 3 | | 1 | 2 | 3 | |
| 0.1 | 100 | 98.3 | 100 | 99.43 aA | 4.5 | 4.9 | 5.3 | 4.90 |
| 0.2 | 100 | 96.7 | 95.0 | 97.23 abAB | 5.4 | 5.0 | 5.1 | 5.17 |
| 0.5 | 96.7 | 91.7 | 93.3 | 93.90 abAB | 4.6 | 4.8 | 5.2 | 4.87 |
| 1.0 | 85.0 | 80.0 | 86.7 | 83.90 bB | 5.5 | 5.2 | 5.0 | 5.23 |
| 2.0 | 68.3 | 65.0 | 71.1 | 68.13 cC | 5.4 | 4.6 | 5.1 | 5.03 |

观察还发现,各浓度水平单株根的数量和质量有一定的差异,中低浓度水平的平均生根数为 2~3 条/株,平均根长不足 4 cm,根肥大,直径约为 1 mm,无侧根,无根毛或很少。高浓度水平的根较细长,移栽后的成活率较低。故低浓度的 NAA 对大花蕙兰的生根是有益的。

2.2 不同浓度的 BA 对壮苗生根的影响

由表 3 可知,培养 15 d 后,有少量根系发生,但根较细长,质量不高。同时发现在小苗基部又分化出原球茎,导致培养瓶中出现小苗与原球茎同时存在的状况,不利于小苗的壮苗生根。由于生根较少,统计苗高没有实际意义,因此只对 30 d 后的生根率进行了统计。对不同浓度的 BA 处理小苗的生根率做方差分析, $P<0.01$,表明不同浓度的 BA 处理小苗的生根率有极显著差异。对各处理平均数进行比较测验得知,0.1、0.5、1.0 mg/L BA 处理间差异显著。从均值上看,生根率随 BA 浓度的升高而降低,在 BA 浓度为 0.1 mg/L 时,生根率为 61.10%,BA 浓度为 1.0 mg/L 时降至 25.37%。因此,高浓度的 BA 对大花蕙兰小苗根的发生起抑制作用。

表 3 不同浓度的 BA 对壮苗生根的影响

Table 3 Effect of different concentrations of BA on seedling and rooting

| BA 的浓度 /mg · L ⁻¹ | 生根率/% | | | 平均生根率 /% |
|------------------------------|-------|------|------|----------|
| | 1 | 2 | 3 | |
| 0.1 | 58.3 | 61.1 | 63.9 | 61.10 aA |
| 0.5 | 38.9 | 42.2 | 36.1 | 39.07 bB |
| 1.0 | 22.2 | 28.3 | 25.6 | 25.37 cC |

2.3 不同有机物质对壮苗生根的影响

培养基中增加有机物质有利于大花蕙兰的壮苗生根。水解酪蛋白是含有约 20 种氨基酸的混合物,营养丰富。香蕉汁、苹果汁、马铃薯汁均为天然物质,它们的成分不定,对大花蕙兰的小苗有促进生长的效应。由表 4 可知,培养 30 d 后,4 种有机物质的添加与未添加任何物质的对照组相比,苗高均有明显生长,根系生长情况也均强于对照组,可见有机物质对小苗的壮苗生根具有明显的促进效应。4 种有机物质中,虽然水解酪蛋白营养丰富,但较易污染(污染率达 33.3%),对于大花蕙兰工厂化生产来说,容易增加成本,且根系生长情况并不理想。苹果汁的添加,无论在污染率、苗高还是根系的生长情况都不如其它 3 种有机物质效果好。香蕉汁与马铃薯汁的效应相似,其中,香蕉汁的污染率较马铃薯汁的略高,苗高则高于马铃薯汁,但根系的生长状况则稍差。从工厂化生产的成本考虑,马铃薯汁的成本要远远低于香蕉汁,所以选用马铃薯汁作为大花蕙兰壮苗生根阶段的有机添加物质。

表 4 4 种有机物质对壮苗生根的影响

Table 4 Effect of four kinds of addictions on seedling and rooting

| 有机物质 | 污染率/% | 苗高/cm | 根生长情况 |
|-------|-------|-------|--------|
| 水解酪蛋白 | 33.3 | 7.3 | 根粗壮,较短 |
| 香蕉汁 | 13.3 | 7.1 | 根系较发达 |
| 苹果汁 | 20.0 | 5.8 | 根短粗 |
| 马铃薯汁 | 6.7 | 6.9 | 根系发达 |
| 未添加 | 6.7 | 5.2 | 根较细 |

2.4 NAA、GA₃ 和马铃薯汁配合使用对壮苗生根的影响

因高浓度的 NAA 对生根无效,GA₃ 有利于壮苗,所以选用中低浓度的 NAA 与 GA₃ 配合使用。培养 15 d 时,各试验组均有根系发生,同时叶片伸长,植株增高。30 d 后,大多数处理均长出根系,植株高约 6~10 cm 不等。统计培养 40 d 时的壮苗指标和生根指标。由表 5 可知,生根率很高,多数在 93% 以上,有 3 个试验组达到 99%,说明大花蕙兰的生根比较容易。苗高差异比较显著,平均最高高度达到 9.04 cm,最低的为 7.45 cm。根生长的情况普遍较好,但粗细不一,长短有别。经试验证明,根的长度对驯化移栽没有绝对的影响,而根的粗细则是重要的因素。有 3 个处理产生的根较为细弱,对驯化移栽没有实际帮助。

表 5 壮苗指标和生根指标统计

Table 5 The statistical datas of seedlings and rooting indexes

| 试验组 | 因素 Factors A(NAA) | B(GA ₃) | C(马铃薯汁) | 生根率 /% | 苗高 /cm | 根生长情况 |
|-----|----------------------|---------------------|------------|-----------|-----------|---------|
| 1 | 1(0.1 mg/L) | 1(0.5 mg/L) | 1(70 g/L) | 99.54 | 7.45 | 长势较好,粗长 |
| 2 | 1 | 2(1.0 mg/L) | 2(100 g/L) | 99.76 | 8.82 | 长势较好,粗长 |
| 3 | 1 | 3(2.0 mg/L) | 3(130 g/L) | 99.43 | 8.22 | 长势较好,略细 |
| 4 | 2(0.5 mg/L) | 1 | 2 | 97.33 | 8.10 | 长势一般,较短 |
| 5 | 2 | 2 | 3 | 97.89 | 9.04 | 长势较好,较短 |
| 6 | 2 | 3 | 1 | 97.78 | 7.78 | 长势一般,较短 |
| 7 | 3(1.0 mg/L) | 1 | 3 | 93.56 | 8.28 | 长势一般,细长 |
| 8 | 3 | 2 | 1 | 93.67 | 8.56 | 长势一般,细长 |
| 9 | 3 | 3 | 2 | 93.22 | 8.05 | 长势一般,细长 |

为了进一步了解各因素对生根和壮苗的影响,分别对生根率和平均苗高进行方差分析。在对平均苗高的方差分析中,NAA 的 P 值 >0.05 ,GA₃ 的 P 值 <0.05 ,马铃薯汁的 P 值 >0.05 。结果显示,GA₃ 和马铃薯汁对壮苗的作用显著,NAA 不显著,说明 GA₃ 和马铃薯汁是大花蕙兰壮苗生根中壮苗的主导因子,而 NAA 对壮苗的作用不大。由表 6 可知,A 因素 3 水平之间差异极显著,其中 A1 平均值最大,为 99.58%;A3 平均值最小,为 93.48%。生根率随着因素 A 浓度的增加而降低。由于因素 A 为壮苗生根培养中生根最主要的影响因素,所以选择 A1,即 NAA 0.1 mg/L。B 因素(GA₃)3 水平之间 B2 与 B3、B1 差异显著,B3 与 B1 间无明显差异。其中 B2 平均值最大,为 8.81 cm。由于因素 B 为壮苗生根培养中壮苗

最主要的影响因素之一,所以选择 B2,即 GA₃ 1.0 mg/L。C 因素(马铃薯汁)3 水平之间差异显著。从平均值看,C3 的平均苗高值最大,C2 次之,2 个水平间无显著差异,即马铃薯汁的用量取 100 g/L 或 130 g/L 皆可。从工厂化生产的经济角度着想,为降低生产成本,马铃薯汁的用量取 100 g/L。

表 6 A、B、C 3 因素 3 水平 Tukey 检验

Table 6 Tukey's three levels test for factor A,B and C

| 水平 | 平均值 | 水平 | 平均值 | 水平 | 平均值 |
|----|---------|----|--------|----|---------|
| A1 | 99.58aA | B2 | 8.81aA | C3 | 8.51aA |
| A2 | 97.67bA | B3 | 8.02bA | C2 | 8.32abA |
| A3 | 93.48cB | B1 | 7.94bA | C1 | 7.93bA |

由以上分析可知,影响大花蕙兰壮苗的主要因素以 GA₃ 1.0 mg/L,马铃薯汁 100 g/L 和 130 g/L 均为最佳处理。影响大花蕙兰生根的主要因素是 NAA,以 0.1 mg/L 为最佳值。

3 结论

大花蕙兰壮苗生根的最优组合为 A1B2C3 或 A1B2C2,但该试验中不包含 A1B2C3 这一组合,因为正交实验是一种均一性试验设计,不可能含有所有处理组合,但依然可以选出较好的处理组合。从该试验结果来看,2 号组合 A1B2C2 的生根率最高,达到了 99.76%,平均苗高为 8.82 cm,稍逊于最高苗高 9.04 cm,是较好的处理组合。而且 C 因素在 C2 水平与 C3 水平上差异不显著,综合考虑经济成本等因素,以 1/2MS+NAA 0.1 mg/L+GA₃ 1.0 mg/L+马铃薯汁 100 g/L 为大花蕙兰壮苗生根的最佳培养基。

参考文献

- [1] 卢思聪. 中国兰与洋兰[M]. 北京:金盾出版社,1994:112-113.
- [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,1991:145.
- [3] 章玉平. 兰花种子繁殖技术概况[J]. 中国花卉园艺,2003(4):22-24.
- [4] 陈振光. 园艺植物离体培养学[M]. 北京:中国农业出版社,1995:89.
- [5] 姚丽娟,陈义增,徐晓薇,等. 大花蕙兰无菌播种技术实验[J]. 浙江林业科技,2006,26(2):30-33.
- [6] 杨玉珍,孙天洲,孙廷,等. 大花蕙兰组织培养和快速繁殖技术研究[J]. 北京林业大学学报,2002,24(2):86-88.
- [7] 熊丽,吴丽芳. 观赏花卉的组织培养与大规模生产[M]. 北京:化学工业出版社,2002:127-128.

Effect of Different Factors on Seedlings and Rooting of *Cymbidium hybridum*

HU Lin

(Nantong Agricultural College,Nantong,Jiangsu 226007)

西瓜花药离体培养影响因素研究

缙艳霞¹, 张明方²

(1. 呼和浩特职业学院 生物化学工程学院, 内蒙古 呼和浩特 010051; 2. 浙江大学 园艺系, 浙江 杭州 310029)

摘要:以具有较多优良性状的 F₁ 代西瓜品种“春光”、“拿比特”和“喜都”的花药为试材, 研究了影响西瓜花药愈伤组织诱导率的因素。结果表明: 西瓜花药在 MS+KT 1.5 mg/L+BA 2.0 mg/L+NAA 1.5 mg/L 上诱导率最高; 固体培养时蔗糖浓度以 6% 效果较好; 4℃ 下低温预处理 72 h 可以提高西瓜花药愈伤组织的诱导率; 30℃ 下高温预培养 72 h 后置于 25℃ 低温下培养也可提高西瓜花药愈伤组织的诱导率; 黑暗条件下比较容易诱导出质地良好的西瓜花药愈伤组织。

关键词:西瓜; 花药培养; 愈伤组织诱导

中图分类号:S 651 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)10-0117-04

西瓜(*Citrullus lanatus*)属葫芦科西瓜属 1a 生草本植物, 是重要的经济作物之一, 也是世界十大水果之一。西瓜除了常规杂交育种外, 以 F₁ 代为材料, 利用单倍体植株诱导可以快速有效地获得真正纯合的育种材料, 然后再进行加倍, 不但可以获得较多的基因型植株, 筛选到符合目标性状的材料, 而且大大缩短纯合的时间, 节省人力和物力。从 20 世纪 80 年代初, 薛光荣等^[1-2]、袁万良等^[3]、魏瑛等^[4-5]相继开展了西瓜花药培养的研究, 且大都偏向于一个或几个影响因素的作用, 缺少比较系统的西瓜花药培养再生体系研究。该试验对影响西瓜花药愈伤组织诱导率的若干因素进行了系统的研究, 以便提高西瓜花药愈伤组织的诱导率。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试的 3 个西瓜品种都是杂交一代, 其名称分别为: “春光”、“拿比特”和“喜都”。

1.2 试验方法

1.2.1 材料的预处理 在西瓜植株进入盛花期时, 采集小孢子发育至单核期的花蕾(花蕾直径约为

4.5~5.5 mm), 用湿纱布包裹, 放入塑料袋中, 进行低温预处理。处理结束后, 用无菌水先将花蕾冲洗 3 遍, 再用 10% (W/V) 饱和次氯酸钠溶液表面消毒 15 min, 最后无菌条件下用无菌水冲洗 5 遍, 然后剥取花药接种于诱导培养基上。

1.2.2 蔗糖浓度的筛选 采集“春光”花药, 针对花药固体培养培养方式, 低温处理后, 分别培养在 3 种不同激素配比和浓度的培养基 (MS+KT 1.5 mg/L+BA 2.0 mg/L+NAA 1.0 mg/L, MS+KT 1.5 mg/L+BA 2.0 mg/L+NAA 1.5 mg/L, MS+KT 0.5 mg/L+BA 0.5 mg/L+NAA 2.0 mg/L) 上, 设计 3%、6% 和 8% 3 种浓度蔗糖液, 共 9 个处理, 每个处理接种 4 瓶, 培养 20 d 后, 观察产生的愈伤组织的大小、颜色并统计数目。

1.2.3 植物激素的筛选 采集“拿比特”和“喜都”花药, 采用以下 15 种激素处理。愈伤诱导培养基: MS+60 g/L 蔗糖+7 g/L 琼脂培养基附加以下激素, 1.0~2.0 mg/L NAA, 0.5~2.0 mg/L BA 和 0.5~1.5 mg/L KT, 0.05~0.5 mg/L 2,4-D, 0.1~1.0 mg/L IAA, pH 调至 5.8。激素共 15 个组合(表 1)。设 4 次重复, 20 d 后统计愈伤组织数目。接种花药后在 30℃ 进行高温预培养 72 h, 然后再置于 25℃、黑暗条件下培养。20 d 后统计愈伤组织诱导频率和愈伤组织生长情况, 并根据其色泽、质地等按优、良、一般和差 4 个等级将 15 种添加不同

第一作者简介:缙艳霞(1978-), 女, 硕士, 讲师, 研究方向为西甜瓜遗传育种改良。

收稿日期:2013-01-16

Abstract: Taking *Cymbidium hybridum* ‘Fukunokam’ as material, the effect of different concentrations of NAA, BA, different additions, combination of NAA, GA₃ and potato juice, on seedlings and rooting of *Cymbidium hybridum* were studied by orthogonal experiment. The results showed that the best medium for promoting seedlings and rooting of *Cymbidium hybridum* was 1/2MS+NAA 0.1 mg/L+GA₃ 1.0 mg/L+Mashed potatoes 150 g/L+Agar 8 g/L+Sugar 20 g/L+Carbon 2.0 g/L, pH 5.4.

Key words: factors; *Cymbidium hybridum*; seedlings and rooting