

文章编号: 1000-5692(1999)02-0170-05

金线莲组培快繁技术

何云芳¹, 杨霞², 余有祥¹, 裘丽珍¹, 江胜德¹

(1. 浙江省林业厅种苗站, 浙江杭州 310004; 2. 浙江省杭州市农业科学研究所, 浙江杭州 310008)

摘要: 用金线莲的茎段作外植体, 比较不同的培养基、细胞分裂素、生长素、植物添加剂等因素对丛生芽生成的影响。实验证明 B₅ 及 MS 较好, BA 的作用优于 KT 和 ZT, 最适质量浓度为 $4.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; NAA $0.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 GA₃ $0.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 对丛生芽的生成和伸长有较好的效果。比较不同的培养基、蔗糖质量浓度、生长素质量浓度和茎段放置方法对金线莲生根的影响。实验证明 1/10 MS 的培养基, $20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的蔗糖质量浓度, NAA $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的生长素质量浓度生根效果较好; 培养体放置方法以立于培养基表面为好。表 6 参 4

关键词: 金线莲; 组织培养; 快速繁殖

中图分类号: Q945.51 **文献标识码:** B

金线莲 (*Anoectochilus formosanus*) 属兰科开唇兰属的药用种类^[1], 性极耐荫, 适合室内盆栽观赏。金线莲对生态环境要求严格, 生长缓慢; 种子不易萌发, 自然繁殖很困难; 且虫、鸟等动物喜食, 自然资源稀少。虽然金线莲组培已有报道^[2~4], 但没有提供系列技术资料。为此, 我们于 1994 年开始, 进行金线莲的组培快繁研究, 以建立商品化生产程序。

1 材料和方法

1.1 组织培养条件的筛选

1.1.1 材料 金线莲由台湾新高生物技术有限公司提供。

1.1.2 方法 选取在相同条件下的金线莲无菌苗, 切取 2~3 个茎段作外植体, 接种于培养基上, 进行腋芽的诱导; 切取金线莲 4~5 cm 带茎尖的芽梢, 接种在不同生根培养基上, 进行根诱导。每个配方接种 12 瓶, 每瓶 3 个材料, 记录每个外植体生长的芽数、芽高、芽茎及生根数量。

1.1.3 培养条件 光照 $12 \text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$, 温度 $(25 \pm 2) ^\circ\text{C}$ 。

收稿日期: 1998-05-12; 1998-09-20

作者简介: 何云芳(1960-), 女, 浙江东阳人, 高级工程师, 从事植物组织培养研究。

1.2 试验方法

1.2.1 基本培养基为 MS, 1/2MS, White, KD 和 B₅ 等 5 种, 比较诱导金线莲嫩梢增殖的影响。

1.2.2 基本培养基相同, 附加细胞分裂素苄氨基嘌呤(BA), 激动素(KT), 玉米素(ZT)的不同质量浓度对金线莲嫩梢增殖的影响。

1.2.3 在相同基本培养基中加入吲哚丁酸(IBA)、萘乙酸(NAA)、2,4-二氯苯氧乙酸(2,4-D)和赤霉素(GA₃)不同质量浓度对金线莲嫩梢生长的影响。

1.2.4 在相同基本培养基中附加绿宝、喷施宝、花宝及胰蛋白胍等添加剂, 比较对金线莲嫩梢生长的影响。

1.2.5 基本培养基 1/2 MS, 1/4 MS, 1/10 MS 等不同质量浓度对金线莲根诱导的影响。配方: 基本培养基+NAA 0.5 mg·L⁻¹+IBA 0.5 mg·L⁻¹+活性炭 1.0 g·L⁻¹

1.2.6 不同质量浓度蔗糖 30 g·L⁻¹, 20 g·L⁻¹, 15 g·L⁻¹, 10 g·L⁻¹对金线莲生根的影响。

1.2.7 培养体放置方法对金线莲生根的影响。培养基: 1/10 MS+NAA 0.5 mg·L⁻¹+活性炭 3.0 mg·L⁻¹。①培养体基部竖直插入培养基中; ②培养体竖直立于培养基上仅基部接触到培养基而不插入, 培养 60 d, 观察统计生根情况。

2 结果与分析

2.1 嫩梢诱导

2.1.1 基本培养基对嫩梢诱导的影响 金线莲外植体在培养基中培养 10 d 左右, 茎节间的腋芽开始突出, 并逐渐伸长。25 d 左右新生腋芽的基部又长出新的腋芽, 2 个月后由于细胞分裂素的影响, 茎节间缩短, 形成丛生状的小苗。在 5 种培养基中生长结果见表 1。

从表 1 中可以看出, 在诱导嫩梢的数量上以 B₅ 最多, 嫩梢个数从 1 个增加到 11.4 个, MS 次之; 但从芽径看, 以 MS 最佳, 为 2.2 mm, B₅ 次之, 为 1.8 mm。考虑到 MS 基本培养基的元素种类较多, 较能满足材料生长的营养要求, 所以试验选用 MS 作为金线莲的基本培养基。

2.1.2 细胞分裂素质量浓度及种类对金线莲嫩梢增殖的影响 从表 2 可以看出, BA 质量浓度为 4.0 mg·L⁻¹时, 增殖的芽数最多, 为 10.8 个。但芽径随着 BA 质量浓度的增加有所变细。BA 3.0 mg·L⁻¹时, 芽径粗为 1.5 mm, KT 为 4.0 mg·L⁻¹时, 芽数为 5.3 个, 芽径为 1.3 mm, ZT 在 2.0 mg·L⁻¹时芽数为 5.9 个, 芽径为 1.6 mm。综合分析以上 3 种细胞分裂素 12 种质量浓度对金线莲嫩梢数量与茎粗的影响, 所以选定 BA 4.0 mg·L⁻¹。

2.1.3 生长素种类及质量浓度对金线莲嫩梢生长的影响 我们分别对 NAA, IBA, 2,4-D 及 GA₃ 4 种生长素设计了质量浓度为 0, 0.1 mg·L⁻¹, 0.3 mg·L⁻¹, 0.5 mg·L⁻¹共 16 种组合, 对金线莲嫩梢的生长进行了观察比较。从试验结果看, 当 GA₃ 质量浓度为 0.3 mg·L⁻¹时, 对

表 1 基本培养基对金线莲嫩梢诱导的影响

Table 1 Influence of different basic medium on generating buds

培养基	芽数/个	芽径/mm
MS	10.2	2.2
1/2MS	8.1	1.7
White	5.5	1.3
KD	6.3	1.7
B ₅	11.4	1.8

说明: 培养时间 60 d

金线莲嫩梢的形成和伸长有较强的促进作用。

表2 细胞分裂素对金线莲嫩梢生成的影响

Table 2 Influence of different cytokinin on generating of buds

激素	质量浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	芽数/个	芽径/mm	芽高/cm	根数/条
BA	0	1.0	1.0	0.6	1.0
	1.0	3.2	1.1	0.6	1.0
	2.0	5.4	1.3	0.7	1.4
	3.0	7.6	1.5	0.7	1.6
	4.0	10.8	1.3	0.8	0.9
KT	1.0	0.8	1.2	0.6	2.2
	2.0	3.1	1.3	0.9	2.2
	3.0	4.5	1.2	0.8	1.2
	4.0	5.3	1.3	0.8	1.1
ZI	0.5	2.0	1.2	0.8	1.9
	1.0	4.4	1.3	0.7	2.0
	1.5	5.1	1.6	0.5	1.7
	2.0	5.9	1.6	0.5	1.6

说明: 基本培养基 MS 每种质量浓度接种 5 瓶, 每瓶 3 个芽, 培养 45 d 统计计算平均数

2.1.4 植物添加剂对金线莲嫩梢生长的影响 在兰科植物组织培养中, 常常添加一些其他物质来促进组培苗的生长。根据前人的经验以及掌握的添加剂性质, 我们选择了 4 种添加剂(表 3), 进行添加剂对金线莲嫩梢生长影响的比较。从比较结果看绿宝对金线莲嫩梢芽数的影响最显著, 其次是花宝和喷施宝。

表3 植物添加剂对金线莲嫩梢生长的影响

Table 3 Influence of different additive on the growth of buds

附加成分	芽数/个	芽径/mm
对照	10.0	1.4
$2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 绿宝	15.5	1.6
$5.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 花宝	14.0	1.5
$2.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 喷施宝	10.5	1.8
胰蛋白胨	10.1	1.9

说明: 基本培养基 MS+BA $4.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +GA $0.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +NAA $0.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$

2.2 诱导生根结果分析

2.2.1 不同比例基本培养基对生根的影响 基本培养基是组培苗生根的营养来源, 一般低浓度的营养成分有利于组培苗的根诱导。在 $1/2 \text{ MS}$, $1/4 \text{ MS}$, $1/10 \text{ MS}$ 3 种基本培养基上经 70 d 生根培养后结果见表 4。

从表 4 可以看出, 基本培养基的不同比例对金线莲的根诱导有明显的影响。3 种比例中以 $1/10 \text{ MS}$ 的效果最好, 平均生根数达 $2.7 \text{ 条} \cdot \text{株}^{-1}$, 每株具 2 条根以上的占 93%。 $1/4 \text{ MS}$ 生根效果次之, $1/2 \text{ MS}$ 的较差。

表 4 不同比例基本培养基对生根的影响

Table 4 Influence of different basic medium on plant establishment

基本培养基	接种数 /株	生根率 /%	平均生根数 /条·株 ⁻¹	平均根长 /cm	生 2 条以上根 /%
1/2 MS	36	100	2.3	1.2	73
1/4 MS	36	100	2.4	2.0	83
1/10 MS	36	100	2.7	1.0	93

2.2.2 培养基中蔗糖质量浓度对根诱导的影响 蔗糖是培养基中主要能量来源。适量的碳源有利于根的诱导。因此,为了寻求金线莲组培苗根诱导中碳的最适宜质量浓度,我们进行了不同蔗糖用量的比较试验。结果见表 5。

表 5 蔗糖质量浓度对根诱导的影响

Table 5 Influence of different concentrate of sugar on plant establishment

蔗糖质量浓度 /g·L ⁻¹	接种数 /株	平均生根率 /%	平均生根数 /条·株 ⁻¹	平均根长 /cm	生 2 条以上根 /%
30	20	67	0.7	0.59	0
20	20	94	1.1	0.50	19
15	20	77	0.8	0.41	6
10	20	80	0.8	0.49	6

说明: 培养基: 1/10 MS+NAA 0.5 mg·L⁻¹

由表 5 所示,4 种蔗糖质量浓度中,以 20 g·L⁻¹为最好,培养 30 d 时,生根率为 94%,生根数为 1.1 条·株⁻¹,1 株具 2 条根以上的数量也较多。

2.2.3 金线莲培养体不同放置方法对生根的影响 根据金线莲生态环境,采用了在培养基相同成分情况下,将嫩梢立于培养基上,而不插入培养基中(B)与插入培养基中(A)进行生根情况的比较。经过 2 个月培养,统计生根率和每株具 2 条以上及 3 条根以上的百分比。结果见表 6。

表 6 培养体放置方法对生根的影响

Table 6 Influence of plants laying style on plant establishment

放置方法	接种数 /瓶	生根率 /%	平均根数 /条·株 ⁻¹	平均根长 /cm	每株 2 条根以上 /%	每株 3 条根以上 /%
A	30	97	2.5	1.3	85	55
B	20	100	3.3	1.6	100	75

说明: 培养基为 1/10 MS+NAA 0.5 mg·L⁻¹+活性炭 1.0 g·L⁻¹; 培养时间 70 d

金线莲的生根也许需要较多的氧气。从表 6 可以看出,嫩梢立于培养基表面而不插入的培养结果较好,比插入培养基中的生根率高出 20%。试验证明金线莲生根需要较多的氧气。

3 结论

3.1 MS 和 B₅ 培养基是诱导金线莲形成丛生芽的适宜培养基。

- 3.2 细胞分裂素苄氨基嘌呤 BA $4.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 诱导金线莲嫩梢的增殖效果最佳。
- 3.3 在培养基中加入 $2.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 绿宝诱导金线莲丛生芽最佳。
- 3.4 诱导金线莲生根基本培养基以 1/10MS 最佳, 每株平均生根数为 2.7 条。
- 3.5 金线莲嫩梢诱导生根立于培养基上而不插入, 能获得较好的生根效果。试验结果证明, 生根培养时间相同, 不插入法比插入法平均生根数增加 $0.7 \text{ 条} \cdot \text{株}^{-1}$ (插入法 $2.3 \text{ 条} \cdot \text{株}^{-1}$, 不插入法 $3.0 \text{ 条} \cdot \text{株}^{-1}$)。这说明金线莲生根需要较多的氧气。

参考文献:

- 1 邱年永. 台湾药用植物之宝金线莲[J]. 明医通药, 1992 (8): 30~32
- 2 陈雪贞. 台湾金线莲之微体繁殖[J]. 科学农业, 1986 34(3~4): 105~107
- 3 戴国兴. 珍贵药用植物金线兰之组织培养繁殖[J]. 中华农学丛刊, 1987, 137: 4 245
- 4 黄德贵. 金线莲组织培养与人工栽培的研究[J]. 亚热带植物研究, 1994, 23(1): 45~41

Techniques of tissue culture and rapid propagation for *Anoectochilus formosanus*

HE Yun-fang¹, YANG Xia², YU You-xiang¹, QIU Li-zhen¹, JIANG Sheng-de¹

(1. Seed and Seedling Station of Zhejiang, Hangzhou 310004, China; 2. Agriculture Research Institute of Hangzhou, Hangzhou 310008, China)

Abstract: The cluster shoots and roots induced from stem segments of *Anoectochilus formosanus* in tissue cultures was studied. The results showed that B5 and MS media, BA, NAA, GA, with the concentrations of $4.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, $0.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, $0.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ respectively, and LB were suitable for cluster buds generating and growing. 1/10 MS medium, $20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ sucrose and $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA were suitable for roots, and the segments vertically put on the surface of the medium rooted better.

Key words: *Anoectochilus formosanus*; tissue culture; rapid propagation