

影响花叶开唇兰原球茎与丛生芽形态建成、 生根与移栽因素的试验研究*

Factors Influencing Shape Building of Protocorm and Cespitose Bud, Rooting and Transplanting of *Anoectochilus roxburghii*

李海鹰 王桂文 范嘉晔 周兴
Li Haiying Wang Guiwen Fan Jiaye Zhou Xin

(广西科学院生物研究所 南宁市大岭路2号 530003)

(Institute of Biology, Guangxi Academy of Sciences, 2 Dalinglu, Nanning, Guangxi, 530003, China)

摘要 通过对比试验和正交试验研究花叶开唇兰原球茎与丛生芽形成、生根与移栽的影响因素。结果表明,在BA诱导下,不带顶芽的外植体比带顶芽的外植体容易形成原球茎和丛生芽,但诱导率高低与BA浓度关系不大;NAA是影响组培苗生根的关键因子,IBA和大量元素用量对生根率影响不大,但添加IBA和使用全量MS有利于生根苗发根和壮苗;保持较高湿度及适宜的温度(18°C~23°C)并适当遮荫,可以保证移栽的生根苗获得很高的成活率,但植株生长极缓慢。

关键词 花叶开唇兰 原球茎 丛生芽 生根 移栽

中图分类号 S 682.31

Abstract The factors influencing shape building of protocorm and cespitose bud, rooting and transplanting of *Anoectochilus roxburghii* were researched by comparative test and orthogonal test. The results demonstrated that under the inducement of BA, the explants without terminal bud generating protocorms and cespitose buds were more easier than the one with terminal bud, and the rate of inducement has little to do with the consistency of BA. The key factor influencing the rooting of tissue culture seedlings is NAA. The content of IBA and macronutrient have little influence on the rooting rate, but adding IBA to the medium and using total MS may heighten the stalks, strenghten the seedlings and increase the number of roots. Transplanting the rooted seedlings, at high moisture, proper temperature (18°C~23°C) and shaded surroundings, had higher survival rate, but the plants grew quite slowly.

Key words *Anoectochilus roxburghii*, protocorms, cespitose buds, rooting, transplantate

笔者在研究影响花叶开唇兰 [*Anoectochilus roxburghii* (Wall) Lindl] 即金线莲初级培养成活率因素的基础上^[1],对影响金线莲原球茎和丛生芽形态建成、生根与移栽因素进行了系列试验研究,现将结果报道如下。

1 材料与方 法

1.1 材 料

以广西花叶开唇兰的组织培养苗为试验材料。基本培养基选用改良MS, pH值5.8, BA、蔗糖、琼脂粉等,依试验需要而改变特定测试因素。

1.2 方 法

1.2.1 不同部位对丛生芽与原球茎形态建成试验

选用配方: (1) BA3.0 mg/L+ MS+ 蔗糖3.5% + 琼脂0.6%; (2) BA4.0 mg/L+ MS+ 蔗糖3.5% + 琼脂0.6%。取高3 cm~ 3.5 cm,带顶芽和2个侧芽的组培苗14株,将其截成两段,一段带顶芽和一个侧芽,另一段带一个侧芽,分别接入(1)、(2)配方,培养43 d统计实验结果。

1.2.2 BA配比对丛生芽与原球茎形态建成试验

选用配方: (1) BA1.0 mg/L+ MS+ 蔗糖3.5% + 椰乳10% + 琼脂粉0.53%; (2) BA2.0 mg/L+ NAA0.2 mg/L+ MS+ 蔗糖3.5% + 椰乳10% + 琼脂粉0.53%。取高约1.5 cm,带一个侧芽的组培苗作为试验外植体,(1)、(2)分别接入10段,培养55 d统计实验结果。

1.2.3 生根试验

采用L₉(3⁴)正交表进行正交试验,设大量元素用

量 (A)、NAA(B)、IBA(C)、活性炭(D) 4个因素,每因素设 3个水平,即:大量元素用量: MS(x_{A1}), 1/2MS(x_{A2}), 1/4MS(x_{A3}); NAA: 0 mg/L(x_{B1}), 0.5 mg/L(x_{B2}), 1.0 mg/L(x_{B3}); IBA: 0 mg/L(x_{C1}), 0.5 mg/L(x_{C2}), 1.0 mg/L(x_{C3}); 活性炭: 0(x_{D1}), 0.1% (x_{D2}), 0.3% (x_{D3})。每个试验号分别接入高约 4.5 cm的无根组培苗 15株(每瓶 10株),培养 60 d后随机抽取 1瓶(5株)统计实验结果

1.2.4 栽培季节与生物量的相关性观察

从 1995年 5月开始到 1995年 11月止,每月定期于 MS+ BA1.0 mg/L+ NAA0.2 mg/L+ 蔗糖 3%+ 琼脂 0.45%的培养基中接入高 1.5 cm左右带一个侧芽的组培苗,每瓶接入 10株,培养 45 d统计实验结果。

1.2.5 移栽试验

把生根组培苗从瓶中取出,洗净后移栽到下列培养基质: (1) 在菜园土上铺一层 4 cm~ 5 cm高的河沙; (2) 在菜园土上铺沙子加食用菌的废料 4 cm~ 5 cm厚(沙与废料掺半),用塑料薄膜覆盖,隔天喷叶面肥(KH₂PO₄, 尿素, 托布津各 0.1%)。移栽 92 d后,在 (1)、(2) 不同栽培基质中随机取样 5点,每点 0.11m²(合计 0.55m²),采集的花叶开唇兰,称重;对生长于 (1)、(2) 栽培基质及培养瓶中的生根组培苗随机取 20株,统计比较其重量、叶面积、株高、茎粗等

2 结果与分析

2.1 不同取材部位对原球茎与丛生芽形态建成的影响

从表 1 可看出,在 BA 浓度相同的条件下,植株下部比上部产生丛生芽与原球茎的比率高出许多。这是因为:上部的顶芽具有顶端优势,不易产生丛生现象;顶芽与培养基没有直接接触,分裂素对植株的

表 1 取材不同部位对原球茎与丛生芽形态建成的影响

Table 1 The influence of collecting in different location on the morphogenesis of protocorms and cespitose

BA 浓度 Concentration (mg/L)	BA 接入外植体 部位 Part of explant	接入外植体 数 Total explants inoculated	形成丛生芽数 与原球茎数 No. of explants with protocorms and cespitose	百分比 Percent (%)
3.0	上部 Upperstem	6	1	16.67
	下部 Understem	5	4	80.0
4.0	上部 Upperstem	8	1	12.50
	中部 Middlestem	1	0	0
	下部 Understem	5	5	100

诱导作用减弱。反之下部的侧芽没有自身因素的制约,与培养基直接接触,激素对其产生的诱导性强

2.2 BA浓度对原球茎与丛生芽形态建成的影响

从表 2 结果看,BA1.0 mg/L与 2.0 mg/L对丛生芽与原球茎形成的影响差异不明显,但诱导率偏低,为使增殖率达到较理想的程度,并考虑激素在植株内的积累,在继代培养中 BA 浓度宜高低交替使用。

表 2 BA浓度对原球茎与丛生芽形态建成的影响

Table 2 The influence of the BA concentrations on the morphogenesis of protocorms and cespitose

BA 浓度 Concentration (mg/L)	BA 外植体数量 Total explants inoculated	形成丛生芽或 原球茎外植体数 Total explants with protocorms and cespitose	诱导率 Rates of reducement (%)
1.0	190	40	21.05
2.0	230	55	23.91

2.3 生根与壮苗

生根正交试验结果见表 3,对生根率做方差分析,对其他项目内容做新复极差分析^[5]。结果表明: NAA 对诱导花叶开唇兰组培苗生根有极显著的作用 ($F=7.18 > F_{0.01}=5.25$),添加 NAA 可以较大地提高生根率;新复极差测验证明 NAA0.5 和 NAA1.0 两处理与 NAA0 处理之间的生根率有极显著差异 ($|\bar{x}_{B_2} - \bar{x}_{B_1}| = 23.3 > LSR_{0.01} = 19.75, |\bar{x}_{B_3} - \bar{x}_{B_1}| = 24.6 > LSR_{0.01} = 20.62$),但 NAA0.5 与 NAA1.0 之间无差异 ($|\bar{x}_{B_2} - \bar{x}_{B_3}| = 1.3 < LSR_{0.05} = 14.79$)。其次活性炭对生根率有显著影响 ($F=3.28 > F_{0.05} = 3.26$),但是添加活性炭既降低了生根率也降低发根数和生根长度,这可能是活性炭吸附了生长素的缘故;新复极差分析也说明添加活性炭仅对株高有促进作用 ($\bar{x}_{D_3} = 27.97 > \bar{x}_{D_1} = 24.71, \bar{x}_{D_2} = 27.61 > \bar{x}_{D_1} = 24.71$),因此,在花叶开唇兰生根过程中不必加入活性炭。IBA 和大量元素用量对生根率的影响不大 ($F_A = 0.30 < F_{0.05} = 3.26, F_C = 1.55 < F_{0.05} = 3.26$),但添加 IBA 并使用全量大量元素对植株生长有好处,其生根苗的平均发根数、根长、株高和鲜重比其他水平的高(表 3),有利于生产中出好苗、壮苗。综合考虑生根和壮苗,生根阶段的适宜配方为 MS+ NAA1.0+ IBA1.0+ 蔗糖 2.5%+ 琼脂粉 0.56%, pH 值 5.8

对在瓶中培养了 6 个月生根组培苗进行测试的结果表明,其株高可达 10 cm~ 15 cm,有 6~ 12 节,但叶片一般只有 3 片,叶宽 0.6 cm× 0.3 cm,茎粗 0.127~ 0.19 cm,与野生种相比,株高可达一般水平,但茎粗、叶宽则相差较远。

表3 不同试验因素组合对花叶开唇兰生根的影响结果

Table 3 Effects of different factor combinations on rooting of *Anoectochilus roxburghii*

实验号 No. of experiments	生根率 Rates of rooting (%)	平均发根 条数 Mean number of rooted seedlings	平均 根长 Mean length of roots (cm)	平均 株高 Mean height (cm)	平均 株重 Mean weight (g)
1(全量 MS+ NAA0+ BA1.0+ AC0.1%)	54.2	1.6	1.20	10.15	0.251
2(1/2MS+ NAA0+ IBA0+ AC0)	84.0	1.7	0.99	6.48	0.189
3(1/4MS+ NAA0+ IBA0.5+ AC0.3%)	56.8	1.8	1.10	9.67	0.209
4(全量 MS+ NAA0.5+ IBA0.5+ AC0)	91.1	2.8	1.31	9.98	0.303
5(1/2MS+ NAA0.5+ IBA1.0+ AC0.3%)	80.0	1.9	1.13	9.00	0.235
6(1/4MS+ NAA0.5+ IBA0+ AC0.1%)	94.0	1.7	0.91	8.68	0.205
7(全量 MS+ NAA1.0+ IBA0+ AC0.3%)	85.7	2.3	1.44	9.30	0.214
8(1/2MS+ NAA1.0+ IBA0.5+ AC0.1%)	82.0	2.0	1.29	8.78	0.233
9(1/4MS+ NAA1.0+ IBA1.0+ AC0)	100.0	2.7	1.90	8.25	0.284

2.4 栽培季节与生物量的关系

连续对 7 批次栽培观察与统计, 结果表明 (表 4), 广西南宁室内自然气温条件下, 其栽培生物量以 5 月、6 月最高, 9 月、10 月、1 月次之, 7 月、8 月最低。在持续高温下, 外植体不但生长缓慢, 而且团状丛生芽与原球茎在瓶中自然死亡比例高。因此, 在南宁若规模生产, 7 月、8 月应考虑进行人工控温或减少生产量。

表 4 不同月份栽培花叶开唇兰的生物量

Table 4 Biomass of the individuals of *A. roxburghii* cultured in different months

月份 Month	总重 Total weight (g)	瓶数* Total bottles	平均每瓶湿重 Mean weight per bottle (g)	株高 Plant height (cm)
5	162.00	20	8.10	5.5
6	247.30	24	10.30	9.0
7	53.80	23	2.34	5.0
8	64.80	25	2.59	5.0
9	80.20	21	3.82	7.0
10	86.20	20	4.31	6.0
11	80.43	21	3.83	5.5

每批接入 25 瓶, 因污染所致, 获得瓶数不一。25 bottles were employed in each month. Difference of total bottles between months is results of pollution.

2.5 移栽

试验结果表明: 在保持较高的湿度和较低的温度 (18°C~23°C) 和荫蔽的环境下, 移栽的生根苗在参试的栽培基质中种植, 成活率相当高。花叶开唇兰的生根组培苗移栽到不同培养基质, 其产量略有差异 (表 5), 但 1 种基质栽培的植株与尚未移栽的生根组培苗比较, 除叶面积增殖较明显外, 其余指标增殖不明显 (表 5), 说明该植物生长极缓慢。这可能与花叶开

唇兰的野生植株矮小 (10 cm~15 cm), 叶面积小, 根系不发达, 生长发育极其缓慢 (3 年~4 年) 的生物学特性有关。

表 5 不同培养基质栽培花叶开唇兰的生物量比较

Table 5 Biomass of the individuals of *A. roxburghii* in different mediums

培养基质 Medium	0.55 m ² 的产量 Weight at 0.55m ² (g)	200 株 总量 Total weight of 200 indi- viduals (g)	叶面积 (长×宽) Leaf area (Long× Widths) (cm×cm)	株高 Plant height (cm)	茎粗 Stem diameter (cm)
菜园土 + 河沙 (4cm~5cm 厚) Vegetable soil + sand (4 cm to 5 cm thickness)	156	79	1.87×1.49	8.88	0.172
菜园土 + 50% 沙 + 50% 食用菌废料 Vegetable soil + 4 cm to 5 cm thickness of sand mixed with 50% waste medium of mushroom	226	85	2.16×1.7	10.00	0.169
生根组培苗 Rooted seedlings		79	0.8×0.5	0.75	0.135

* 随机取样 20 株的单株平均值。Average of individuals from 20 strains sampled randomly.

3 结语

花叶开唇兰组培苗在 BA 诱导下, 不带顶芽的外植体比带顶芽的外植体产生原球茎和丛生芽的比率高, 但诱导比率高低与 BA 浓度关系不大。NAA 是其组培苗生根的主要影响因子。IBA 和大量元素 MS 对其生根率影响不大, 但添加 IBA, 全量 MS 对株高、壮苗、发根数有利。在遮阴的环境下, 保持较高的湿度与适宜的温度 (18°C~23°C), 其移栽的生根组培苗存活率高, 但生长极缓慢。花叶开唇兰的生根组培苗移栽后生长缓慢, 增值不显著; 能否通过有关的农艺措施或生物技术提高其生长速度, 有待进一步探讨。

参考文献

- 1 周兴, 李海鹰, 王桂文等. 影响花叶开唇兰初级培养成活率的因素及其再生途径的研究. 广西科学, 1999, 6 (2): 157~159.
- 2 钟岑生. 金线莲的药用价值与开发. 广西农业科学, 1997, 2: 102~104.
- 3 陈裕, 林坤瑞, 管其宽等. 金线莲若干栽培技术研究. 亚热带植物通讯, 1994, 23 (1): 46~51.
- 4 陈裕, 林坤瑞, 管其宽等. 金线莲生物学特性及生境特点的研究. 亚热带植物通讯, 1994, 23 (1): 18~24.
- 5 韩於羹. 应用数理统计. 北京: 北京航空航天大学出版社, 1989. 251~260.

(责任编辑: 邓大玉)