

江鸣涛, 张艺祎, 李云霞, 等. 云南独蒜兰 × 陈氏独蒜兰种子萌发与幼苗生长研究[J]. 江苏农业科学, 2018, 46(4): 110–113.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.04.027

云南独蒜兰 × 陈氏独蒜兰种子萌发与幼苗生长研究

江鸣涛^{1,2}, 张艺祎^{1,2}, 李云霞^{1,2}, 黄继芬¹, 吴沙沙^{1,2}

(1. 福建农林大学园林学院, 福建福州 350002; 2. 福建农林大学海峡兰花保育中心, 福建福州 350002)

摘要:以云南独蒜兰(*Pleione yunnanensis*) × 陈氏独蒜兰(*P. chunii*) 授粉 120 d 成熟未开裂蒴果的种子作为试验材料, 研究不同浓度 6-BA、NAA 和花宝 2 号对其种子萌发及幼苗生长的影响。结果表明: 种子萌发的适宜培养基为 3 g/L 花宝 2 号 + 0.5 mg/L 6-BA + 1 mg/L NAA + 20 g/L 蔗糖 + 50 g/L 马铃薯 + 50 g/L 香蕉 + 2 g/L 蛋白胨 + 2 g/L 活性炭 + 7 g/L 琼脂, 萌发率(94.45%) 显著高于其他处理组, 且萌发后植株生长速度最快; NAA 对该杂交种无菌萌发具有明显的促进作用, 而细胞分裂素 6-BA 则在一定程度上抑制其萌发。针对假鳞茎膨大和植株高度 2 个指标, 幼苗生长的适宜培养基为 1 g/L 花宝 2 号 + 0.5 mg/L 6-BA + 1.0 mg/L NAA + 25 g/L 蔗糖 + 1 g/L 蛋白胨 + 1 g/L 活性炭 + 7 g/L 琼脂, 在所研究的 3 个因素中花宝 2 号对该杂交种假鳞茎膨大作用最大, NAA 对植株高度促进作用最大。

关键词:云南独蒜兰 × 陈氏独蒜兰; 无菌萌发; 原球茎诱导; 假鳞茎膨大

中图分类号: S682.310.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)04-0110-03

独蒜兰属(*Pleione*) 是兰科植物中具有较高观赏价值的一个属^[1], 该属植物花色鲜艳, 花型奇特, 深受欧美和日本人士的喜爱, 具有极高的园艺价值。在欧洲、美国、日本等地已广泛栽培应用, 在英国已规模化生产^[2], 并已培育出约 2 000 个品种^[3]。我国台湾省每年外销到日本的台湾独蒜兰种球即可达 20 万球^[4]。独蒜兰属约 26 种, 我国有 23 种, 其中 12 种为我国特有, 是独蒜兰属植物的分布中心, 资源众多^[1]。但由于其栽培环境条件要求较高, 开发利用滞后, 我国目前仅中国科学院昆明植物研究所培育出 2 个新品种^[5], 台湾大学培育出少量几个品种^[6]。因此加快我国独蒜兰属植物种质资源的保护和育种开发具有重要意义。

独蒜兰属植物因其分球和顶球繁殖率低, 无菌播种和假鳞茎作为外植体器官发生成苗速度快, 但养成开花球时间长、成本高而严重制约其规模化生产^[6], 种子无菌播种繁殖在新品种培育过程中具有重要意义。同时, 与兰科其他种一样, 独蒜兰属植物的种子由于自身不透水、不透气等原因, 自然状态下萌发率极低^[7-8], 利用无菌播种组织培养技术能够快速、大量繁殖。

云南独蒜兰(*P. yunnanensis*) 具有重要的药用价值^[9], 且其花淡紫、粉红或近白色, 唇瓣具紫或深红色斑^[10]; 陈氏独蒜兰(*P. chunii*) 原产于中国云南西部和广东北部, 花大, 淡粉红色至玫瑰紫色, 色泽通常向基部变浅, 唇瓣中央具 1 条黄色或橘黄色条纹和多数同样色泽的流苏状毛^[1], 深受人们的喜爱, 具有较高园艺观赏价值。二者进行杂交, 可能培育出花色

丰富、唇瓣色彩和结构多变的新品种, 因此有必要对其杂交种进行无菌播种研究。

本研究以云南独蒜兰为母本、陈氏独蒜兰为父本杂交的成熟未开裂蒴果为试验材料, 以花宝 2 号作为基本培养基探讨不同浓度细胞分裂素 6-苄基腺嘌呤(6-benzyladenine, 6-BA) 和生长素 α -萘乙酸(α -naphthalene acetic acid, NAA) 对该杂交种无菌萌发和幼苗生长的影响, 以期得到适宜的无菌萌发和幼苗生长培养基配方, 从而为今后独蒜兰杂交种快速繁殖和新品种培育提供一定的参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以人工授粉 120 d 的云南独蒜兰 × 陈氏独蒜兰杂交种的成熟未开裂蒴果作为种子萌发试验材料。以经过 90 d 无菌培养得到的云南独蒜兰 × 陈氏独蒜兰杂交小苗作为继代培养材料。

1.2 试验方法

1.2.1 灭菌及无菌播种 将采收的杂交果实放在自来水下冲洗 30 min 后转入超净工作台, 用 75% 乙醇表面消毒 30 s, 然后用 0.15% HgCl₂ 溶液浸泡 30 min, 最后用无菌水漂洗 3 次。将消毒后的果实平放在经灭菌的滤纸上, 吸干水分后, 用解剖刀将蒴果纵向切开, 将种子均匀播种到培养基表面, 轻轻摇晃培养瓶使种子均匀分散。

1.2.2 原球茎诱导 杂交种萌发基础培养基为 3 g/L 花宝 2 号 + 20 g/L 蔗糖 + 2 g/L 蛋白胨 + 50 g/L 香蕉 + 50 g/L 马铃薯 + 2 g/L 活性炭 + 7 g/L 琼脂(pH 值 5.6), 探讨 6-BA 和 NAA 这 2 个因素不同浓度配比对种子萌发的影响, 按表 1 进行 9 组处理, 每组接种 10 瓶, 3 次重复。于 2015 年 12 月 27 日配制培养基并接种, 黑暗培养, 至种子明显膨大后转至光照度为 1 500 lx 的日光灯下进行培养, 培养温度为 (25 ± 2) °C, 平均光照时间为 12 h/d。培养 90 d 后统计原球茎分化率和植株平均高度。

收稿日期: 2016-08-26

基金项目: 福建省教育厅新教师项目(编号: JA13123); 福建省自然科学基金(编号: 2014J0102); 国家教育部博士点基金(编号: 20133515120017)。

作者简介: 江鸣涛(1990—), 男, 福建漳州人, 博士研究生, 主要从事园林植物资源与应用研究。E-mail: mtjiang1990@126.com。

通信作者: 吴沙沙, 博士, 副教授, 主要从事园林植物资源与应用研究。E-mail: shashawu1984@126.com。

表 1 种子萌发培养基配方设计

处理组	6-BA 浓度 (mg/L)	NAA 浓度 (mg/L)
1	0	0
2	0	0.5
3	0	1.0
4	0.5	0
5	0.5	0.5
6	0.5	1.0
7	1.0	0
8	1.0	0.5
9	1.0	1.0

1.2.3 幼苗培养 幼苗培养的基础培养基配方为 1 g/L 蛋白胨 + 25 g/L 蔗糖 + 1 g/L 活性炭 + 7 g/L 琼脂 (pH 值 5.6), 以 6-BA、NAA 和花宝 2 号 3 个不同浓度 (表 2) 进行 3 因素 3 水平正交试验设计, 共 9 组。每组接种 5 瓶, 每瓶转接 3 丛大小接近的无菌萌发培养 90 d 的小苗, 3 次重复。于 2016 年 3 月 28 日配制幼苗培养基并转接。培养 60 d 后统计原球茎平均直径和植株平均高度。培养条件与无菌播种萌发后光照培养条件相同。

表 2 幼苗培养基配方正交试验设计

水平	6-BA 浓度 (mg/L)	NAA 浓度 (mg/L)	花宝 2 号浓度 (g/L)
1	0	0.5	1.0
2	0.1	1.0	2.0
3	0.5	1.5	3.0

1.3 测定指标及数据分析

无菌播种培养 90 d 后, 从每组处理中随机挑选出 3 瓶, 分别用镊子夹出原球茎放在培养皿中, 在体视显微镜 (Nikon, SMZ18, 日本) 下观察 9 个不同视野, 以叶片突破原球茎的植株视为分化成功, 以叶片突破原球茎的植株数/视野中原球茎总数 $\times 100\%$ 作为原球茎分化率。在体视显微镜下拍照, 于 AutoCAD 2007 中测量植株高度。

植株在幼苗培养培养基中培养 60 d 后, 每组处理随机选取 3 瓶, 随机选出 10 株植株, 置于坐标纸上拍照 (图 1), 于 CAD 软件中测量植株高度和原球茎直径。

用 Excel 2007 进行数据整理, 采用 SPSS 19.0 软件 (IBM, 美国) 的 Duncan's 方差分析法进行数据的显著性分析。

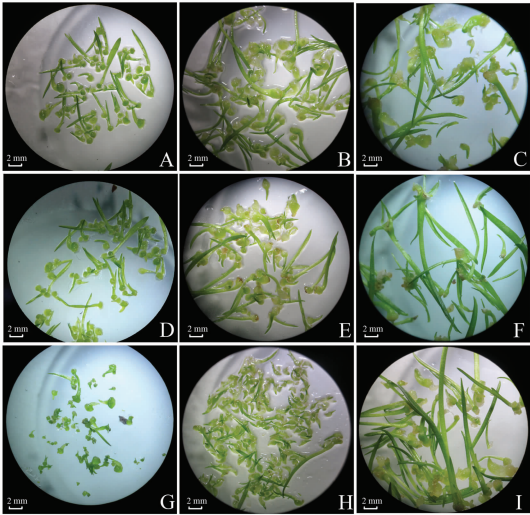
2 结果与分析

2.1 无菌萌发形成原球茎

2.1.1 种子无菌萌发过程 种子无菌播种在黑暗条件下培养 20 d 时开始膨大, 后转至光照条件下继续培养, 种子开始形成一些淡黄色小突起, 即为原球茎开始形成。随着时间的推移, 颜色开始由淡黄色变成浅绿色, 原球茎分化逐渐形成。培养 90 d 后, 可观察到萌发的种子已经形成极小的原球茎, 部分原球茎长出幼嫩叶片 (图 1), 且根部有白色绒毛。

2.1.2 原球茎分化及株高的差异 9 组处理原球茎分化率分为 3 个水平, 处理 6 和处理 9 的原球茎分化率水平显著高于其他组, 其中处理 6 原球茎分化率高达 94.45%, 处理 9 分化率为 87.19%; 处理 1、处理 2、处理 3、处理 5 和处理 8 分化

率水平居中, 在 53.92% ~ 63.38% 之间; 处理 4 和处理 7 原球茎分化率显著低于其他组合 (图 1-D、图 1-G), 分化率分别为 37.58% 和 29.75% (表 3)。



A ~ I—种子萌发处理 1 ~ 9

图 1 无菌播种 90 d 后原球茎发生情况

另外, 植株平均高度差异分为 6 个水平, 处理 6 植株平均高度显著高于其他组, 达到 1.56 cm (图 1-F); 处理 3 (图 1-C) 和处理 9 (图 1-I) 次之, 植株平均高度分别为 1.15 cm 和 1.21 cm; 植株平均高度最低的为第 7 组, 仅为 0.22 cm (表 3)。

表 3 种子无菌萌发情况统计

处理组	6-BA 浓度 (mg/L)	NAA 浓度 (mg/L)	原球茎分化率 (%)	植株平均高度 (cm)
1	0	0	55.82 \pm 10.85b	0.52 \pm 0.20d
2	0	0.5	68.38 \pm 10.87b	0.73 \pm 0.29c
3	0	1.0	64.81 \pm 6.78b	1.15 \pm 0.70b
4	0.5	0	37.58 \pm 13.34c	0.50 \pm 0.27d
5	0.5	0.5	61.18 \pm 5.97b	0.73 \pm 0.27c
6	0.5	1.0	94.45 \pm 3.01a	1.56 \pm 0.52a
7	1.0	0	29.75 \pm 3.17c	0.22 \pm 0.15f
8	1.0	0.5	53.92 \pm 8.67b	0.32 \pm 0.14e
9	1.0	1.0	87.19 \pm 4.58a	1.21 \pm 0.51b

注: 同列数据后不同小写字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$)。表 4 同。

2.2 幼苗生长

2.2.1 原球茎直径的差异 杂交子代原球茎在不同浓度花宝 2 号添加 6-BA 和 NAA 不同配比的培养基中培养 60 d 后, 植株发育成具 1 ~ 2 张叶片的小苗, 植株高度和原球茎直径均有不同程度的增加。处理 1 假鳞茎膨大显著大于其他处理, 且植株生长健壮。处理 6、处理 8 和处理 9 次之, 假鳞茎膨大后直径均约 0.3 cm; 处理 5 中原球茎直径最小, 仅为 0.14 cm (表 4), 且出现部分植株褐化后停止生长的现象。3 个研究因素对于假鳞茎膨大的 R 值排序为花宝 2 号 (0.153) > NAA (0.092) > 6-BA (0.043), 表明花宝 2 号对该独蒜兰杂交种假鳞茎膨大促进作用最强, NAA 次之, 6-BA 作用最弱。

2.2.2 平均株高的差异 处理 8 植株平均高度显著高于其他组, 达到 4.38 cm (表 4), 这与原球茎诱导培养基中植株高

表 4 不同添加物处理对杂交种幼苗生长的影响

处理组	A;6-BA 浓度 (mg/L)	B;NAA 浓度 (mg/L)	C;花宝 2 号浓度 (g/L)	假鳞茎平均直径 (cm)	植株平均高度 (cm)
1	0	0.5	1.0	0.36 ± 0.44a	2.51 ± 0.36bcd
2	0	1.0	2.0	0.19 ± 0.43cd	2.43 ± 0.40bcd
3	0	1.5	3.0	0.15 ± 0.22de	2.29 ± 0.25cd
4	0.1	0.5	2.0	0.22 ± 0.38c	1.35 ± 0.26e
5	0.1	1.0	3.0	0.14 ± 0.19e	2.10 ± 0.48d
6	0.1	1.5	1.0	0.27 ± 0.46b	2.70 ± 0.39bc
7	0.5	0.5	3.0	0.19 ± 0.61cd	2.11 ± 0.39d
8	0.5	1.0	1.0	0.29 ± 0.80b	4.38 ± 1.21a
9	0.5	1.5	2.0	0.28 ± 0.55b	2.83 ± 0.35b

度最高的处理 6 中的激素含量相同,说明 1.0 mg/L NAA + 0.5 mg/L 6-BA 有利于叶片生长。处理 1、处理 2、处理 6 和处理 9 次之,植株平均高度均小于 3 cm;处理 4 中植株平均高度值最低,仅为 1.35 cm(表 4),但该处理中植株高度整齐一致,有利于后期统一出瓶和管理。对于幼苗平均株高而言,3 个因素的 *R* 值排序为 NAA(1.70) > 花宝 2 号(1.51) > 6-BA(0.43),表明 NAA 对于植株的促进作用最强,花宝 2 号次之,6-BA 最弱。

3 讨论与结论

3.1 激素对原球茎分化率及株高的影响

在没有外源添加 6-BA 和 NAA 的培养基中,原球茎分化率即可达到 50% 以上,在此基础上添加 6-BA(0.5 mg/L 或 1.0 mg/L),原球茎诱导率降低,说明单独添加 6-BA 具有抑制原球茎分化的作用。当培养基中仅添加 NAA(0.5 mg/L 或 1.0 mg/L)时,对原球茎分化促进作用不明显,与不添加 NAA 对原球茎分化率没有差异。当 NAA 浓度达到 1.0 mg/L 时,添加低浓度 6-BA(0.5 mg/L 或 1.0 mg/L)对原球茎诱导具有明显的促进作用。表明细胞分裂素 6-BA 和生长素 NAA 共同作用对该杂交种种子萌发形成原球茎具有明显促进作用。

黄家林等研究云南独蒜兰(*P. yunnanensis*)种子无菌萌发发现,仅添加细胞分裂素 6-BA 或 KT 对其萌发具有抑制作用^[11],本研究结果与之相同。同样,对云南独蒜兰无菌萌发研究发现,单独添加 6-BA 具有抑制作用,单独添加 NAA 对种子萌发具有一定的促进作用^[12],本研究结果与之相同;而 B5 培养基 +0.25 mg/L 6-BA +0.5 mg/L NAA 同样具有抑制种子萌发的作用^[13],本研究结果与之不同,但本研究陈氏独蒜兰种子萌发结果与之一致,说明激素对于不同种质种子萌发的作用存在差异。

当 6-BA 浓度为 0 mg/L 时,NAA 对种子萌发后植株高度具有促进作用,随着 NAA 浓度的增加,植株高度明显增高。当不添加 NAA 时,随着 6-BA 浓度的增加,植株高度呈现降低的趋势,说明 6-BA 对于植株高度具有抑制作用。虽然在此阶段植物叶片的生长对于后期假鳞茎的形成具有重要作用,但是由于该培养阶段重点关注的是原球茎的分化,所以现有的研究报道对平均株高指标关注不多。

综合种子萌发过程中原球茎分化率和植株高度 2 个指

标,处理 6 为所有处理中最佳,即 3 g/L 花宝 2 号 + 0.5 mg/L 6-BA + 1 mg/L NAA + 20 g/L 蔗糖 + 50 g/L 马铃薯 + 50 g/L 香蕉 + 2 g/L 蛋白胨 + 2 g/L 活性炭 + 7 g/L 琼脂为种子无菌萌发最佳培养基。

3.2 花宝 2 号和激素对幼苗生长的影响

已有的研究报道,多是在原球茎诱导后进行增殖培养方面,缺少专门针对假鳞茎膨大培养健壮植株的过程^[12-14],陈之林等研究白花独蒜兰(*P. albiflora*)原球茎诱导出来后接种到 2 g/L 花宝 2 号 + 0.5 mg/L NAA + 100 ml/L 香蕉匀浆 + 2 g/L 活性炭培养基上培养 60 d 假鳞茎直径可达 5 mm^[15]。疣鞘独蒜兰(*P. praecox*)和岩生独蒜兰(*P. saxicola*)原球茎在 1/2 MS + 0.5 mg/L NAA + 1.0 mg/L 6-BA 培养 60 d 后可长为高 2~5 cm、假鳞茎直径 5 mm 的植株^[16]。对台湾独蒜兰无菌播种假鳞茎膨大研究表明,MS + 0.2 mg/L 6-BA + 1.0 mg/L NAA + 100 g/L 马铃薯有利于假鳞茎膨大,培养 90 d 后假鳞茎直径可达 0.33 cm^[17],略小于本研究培养 60 d 所得到的 0.36 cm 的结果。

从研究的结果可知,花宝 2 号对该杂交种原球茎膨大有着明显的促进作用,NAA 对幼苗叶片生长具有明显的促进作用,综合植株膨大和植株平均高度 2 个指标,适合该杂交种幼苗生长的培养基为 1 g/L 花宝 2 号 + 0.5 mg/L 6-BA + 1.0 mg/L NAA + 1 g/L 蛋白胨 + 25 g/L 糖 + 1 g/L 活性炭 + 7 g/L 琼脂。

已有的研究报道表明,独蒜兰属植物组培生根相对容易。此外,在前期的研究中发现,组培苗生根与否对于炼苗移栽的影响不大,假鳞茎的大小对于移栽成活和后期植株生长的作用更重要(未发表),故本研究没有专门针对生根进行研究。由于组培苗移栽后真正生长成为新植株的为假鳞茎基部的芽,而芽的生长初期营养主要来自已有的假鳞茎,所以组培苗培养中假鳞茎膨大是重点要解决的问题,尤其是针对缩短膨大时间和提高膨大效率方面值得进一步深入研究。

参考文献:

[1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志:第 18 卷[M]. 北京:科学出版社,1999:377-378.
[2] 陈宇勒. 独蒜兰及其栽培[J]. 花卉,2003(2):29.
[3] 沈崇灵. 法理学[M]. 北京:北京大学出版社,1994:51-52.
[4] 华 健. 台湾一叶兰生产技术[J]. 台湾农业探索,2004(2):37-38.
[5] 中国科学院. 云南野生兰花新品种研发成果喜人[Z]. (2004-09-21)[2016-08-26]. http://www.cas.cn/xw/zyxw/tpxw/200409/t20040921_1011941.shtml.
[6] 杨 颢. 台湾一叶兰‘梅雪’与‘枫星’之微体繁殖[D]. 台北:台湾大学,2013.
[7] 蓝家望,桂 阳,张丽娜,等. 独蒜兰种子自然萌发特性分析[J]. 湖北农业科学,2013,52(9):2077-2082.
[8] 蓝家望,桂 阳,张丽娜,等. 独蒜兰种子的自然萌发特性(Ⅱ)[J]. 贵州农业科学,2013,41(6):59-62.
[9] 董海玲,郭顺星,王春兰,等. 山慈菇的化学成分和药理作用研究进展[J]. 中草药,2007,38(11):1734-1738.
[10] Cribb P, Butterfield I, Tang C Z. The genus *Pleione*[M]. Timber Press, 1988:91-95.

邓 坦,周 逊,张 念. 不同培养条件对紫萁原叶体发育的影响[J]. 江苏农业科学,2018,46(4):113-115.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.04.028

不同培养条件对紫萁原叶体发育的影响

邓 坦^{1,2}, 周 逊¹, 张 念¹

(1. 遵义师范学院生物与农业科技学院, 贵州遵义 563006; 2. 贵州省赤水河流域植物资源保护与应用研究特色重点实验室, 贵州遵义 563006)

摘要:研究不同碳源浓度、不同激素水平、不同孢子成熟度等条件对紫萁(*Osmunda japonica* Thund.)原叶体萌发的影响。结果表明,蔗糖浓度为 2% 的培养基有利于孢子的萌发和原叶体的形成;随着无机盐浓度的降低,孢子萌发率上升,以 1/4MS 浓度最佳;1.0 mg/L 6-BA 更有利于原叶体的发育;0.01 mg/L NAA 上的原叶体长势较好;0.1 ~ 1.0 mg/L 2,4-D 均有利于原叶体的发育,以 0.5 mg/L 为最佳浓度;还未完全成熟的孢子的萌发率较高,最高达 50% 以上。培养基配方为 2% 蔗糖 + 1/4MS + 1 mg/L 6-BA + 0.01 mg/L NAA + 0.5 mg/L 2,4-D 和孢子未完全成熟等条件更有利于紫萁原叶体的发育。

关键词:紫萁;培养条件;原叶体;发育

中图分类号: Q94-331 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)04-0113-03

紫萁(*Osmunda japonica* Thunb)属蕨类植物门真蕨类原始厚囊蕨纲紫萁目紫萁科紫萁属的一种多年生草本植物,既是一种山野菜又是一种名贵中药材^[1]。其拳卷幼叶经过干制处理,称为薇菜,是出口日、韩的名贵山野菜。紫萁根茎入药,具有一定的应用价值,很多研究表明,薇菜含有钙(Ca)、铁(Fe)、锌(Zn)等元素和多种氨基酸,具有较高的营养成分^[2-3],但其自然繁殖能力弱,不利于种群的扩大和人工栽培。目前,中国产的薇菜均为采自山区的野生紫萁,质优,无污染。近年来,由于滥采,其野生资源日渐枯竭,产品供不应求,为合理开发这一珍稀资源,提高其品率,满足市场需求,进行人工规模栽培势在必行,而人工栽培的关键是解决紫萁成苗问题,对其孢子萌发条件的研究是解决其有性生殖问题的重要条件之一。

国内外对紫萁孢子的人工繁殖已有研究^[1,4-11],但对一些控制紫萁孢子萌发和原叶体发育的因素还有待更深入的研究。本试验就不同碳源浓度、不同激素水平、不同成熟度的紫萁孢子这几个因素对紫萁原叶体发育的影响进行探究。

收稿日期:2016-09-21

基金项目:贵州省遵义市科技计划(编号:遵市科合社字[2009]25);贵州省科技创新人才团队建设项目[编号:黔科合人才团队(2012)4004];贵州省“125 计划”重大科技专项(编号:黔教合重大专项字[2014]036)。

作者简介:邓 坦(1972—),男,贵州湄潭人,硕士,高级实验师,主要从事植物资源学方向的研究。E-mail:gzzydeng@163.com。

1 材料与方法

1.1 试验材料

紫萁孢子体材料于 2013 年 4 月中旬采自贵州遵义大板水国家级森林公园,所采集的试验材料由遵义师范学院生命科学学院植物资源实验室鉴定,并保存标本。采集不同成熟度的孢子叶穗,放入洁净的密封袋中,置于 5 ℃ 冰箱中保存供使用。

1.2 不同培养基的配制

无机培养基采用 MS、1/2MS、1/4MS(1/2MS、1/4MS 培养基的大量元素含量分别为 MS 培养基全量的 1/2、1/4,铁盐和有机物的含量与 MS 培养基相同),pH 值为 6.0,培养基配制好后分装到培养瓶中,培养基于 121 ℃ 高压灭菌 120 min。

1.3 消毒方式

取适量不同成熟度的孢子体,先用适量洗衣粉洗 10 min,洗去表面杂质,然后用自来水冲洗 30 min,再然后用 75% 乙醇处理 1 min 后用无菌水清洗 3~4 次,再用 0.1% 氯化汞处理 8 min,最后用无菌水清洗 3~4 次后就可进行接种。

1.4 正交试验

本试验分 3 个组合:组合 1 以 MS、1/2MS、1/4MS 为基本培养基,附加不同浓度的蔗糖,pH 值 6.0,培养不同成熟度的外植体;组合 2 以 MS、1/2MS 为基本培养基,附加不同浓度的 6-BA 和 NAA,pH 值 6.0,培养不同成熟度的外植体;组合 3 以 MS、1/2MS 为基本培养基,附加不同浓度的 6-BA、2,4-D,pH 值 6.0,培养未完全成熟的外植体。

[11]黄家林,胡 虹,李树云. 云南独蒜兰的种子无菌萌发研究[J]. 园艺学报,2005,32(2):313-313.

[12]于晓娟,纳海燕,胡晓丽,等. 毛唇独蒜兰的离体快速繁殖研究[J]. 四川大学学报(自然科学版),2007,44(4):891-894.

[13]于晓娟. 独蒜兰组织培养及其生物多样性的 ISSR 分析[D]. 成都:四川大学,2007.

[14]涂艺声,刘如龙,黄文敏. 井冈山独蒜兰再生体系构建研究[J].

安徽农业科学,2009,37(9):3931-3932.

[15]陈之林,叶秀麟,梁承邨,等. 白花独蒜兰的组织培养和快速繁殖[J]. 植物生理学报,2004,40(4):455-455.

[16]易 瑾,龙春林,程治英. 疣鞘独蒜兰和岩生独蒜兰的组织培养与快速繁殖[J]. 植物生理学报,2008,44(3):533-534.

[17]卓孝康,兰思仁,彭东辉,等. 台湾独蒜兰无菌萌发与植株再生研究[C]//中国观赏园艺研究进展. 2015.