

# Experimental Research on Rapid Propagation and Domestication of Wild Bletilla Seedling

Senfu Xu, Haifeng Chen, Yitao Chen

Taizhou Vocational College of Science & Technology, Taizhou Zhejiang  
Email: xdneyx@163.com

Received: Jan. 2<sup>nd</sup>, 2016; accepted: Jan. 18<sup>th</sup>, 2016; published: Jan. 22<sup>nd</sup>, 2016

Copyright © 2016 by authors and Hans Publishers Inc.  
This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).  
<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

---

## Abstract

Tissue culture and rapid propagation research was done on wild bletilla. The results showed that: 1) MS + 2.5 mg·L<sup>-1</sup> BA + 0.2 mg·L<sup>-1</sup> NAA has the best induced effect, whose induction rate can reach 98%; 2) MS + IAA 2.5 mg·L<sup>-1</sup> + 2.5 mg·L<sup>-1</sup> BA + 2.0 mg·L<sup>-1</sup> NAA has the best effect of induced proliferation, whose proliferation rate can be up to 3.8 times after 40 d culture; 3) 1/2 MS + 0.01 mg·L<sup>-1</sup> NAA + 0.01 mg·L<sup>-1</sup> IAA is conducive to take root and plants grow strong. The best rotten leaves seedling substrate consists of 60% leaf mold + 30% perlite + 10% vermiculite. The seedling survival rate can be improved in temperature of 23°C - 28°C and air relative humidity of 80% - 90%.

## Keywords

Wild Bletilla, Tissue Culture, Proliferation, Domestication

---

# 野生白芨种苗快繁与驯化试验研究

徐森富, 陈海锋, 陈依桃

台州科技职业学院, 浙江 台州  
Email: xdneyx@163.com

收稿日期: 2016年1月2日; 录用日期: 2016年1月18日; 发布日期: 2016年1月22日

## 摘要

对野生白芨进行组培快繁研究, 结果表明: 1) MS + 2.5 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA + 0.2 mg·L<sup>-1</sup> NAA 诱导效果最好, 诱导率可达98%; 2) MS + 2.5 mg·L<sup>-1</sup> IAA + 2.5 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA + 2.0 mg·L<sup>-1</sup> NAA 诱导增殖的效果最好, 培养40 d后增殖率可达3.8倍; 3) 1/2 MS + 0.01 mg·L<sup>-1</sup> NAA + 0.01 mg·L<sup>-1</sup> IAA 有利于生根, 且植株长势健壮。炼苗基质以60%腐叶土 + 30%珍珠岩 + 10%蛭石为佳; 炼苗温度23℃~28℃, 空气相对湿度80%~90%有利于提高炼苗成活率。

## 关键词

野生白芨, 组织培养, 增殖, 驯化

## 1. 引言

白芨(*Bletilla striata*)是兰科白芨属的一种多年生草本植物。又名白根、地螺丝、白鸡儿、白鸡娃等。株高30~60厘米。块茎肉质, 白色, 具2~3叉呈菱角状, 有须根, 常数个并生, 总状花序顶生, 常有花3~8朵; 花淡紫红色, 花瓣不整齐。蒴果圆柱形, 上有6条纵棱, 两端稍尖。种子细小, 多数。花期4~5月, 果期7~8月。地下有粗厚的根状茎, 如鸡头状, 富粘性, 含白芨胶质, 即白芨甘露聚糖, 可供药用, 有止血补肺、生肌止痛之效, 也可供作糊料, 花美丽, 也可供观赏[1]。传统的栽培主要靠分株繁殖, 但分株繁殖周期长, 且繁殖率很低, 不能满足大规模生产的需求。虽然也可采用种子繁殖, 但种子非常细小且无胚乳, 因此在自然条件下很难萌发和生长, 实生苗的栽培较难成活[2][3]。作为中药的白芨销售前景看好, 但扩大基地需要大量种苗, 野生种又面临数量少较难大规模推广, 且容易积累病毒, 造成品种退化, 严重影响产量和品质[4]-[6]。利用组织培养技术可以在短时间内繁殖大量优质种苗, 一定程度上可以满足生产上对白芨苗的需要, 因此采用组培方法开展系列试验与研究。

## 2. 材料与方法

### 2.1. 材料来源

白芨材料全部来自浙江省温岭市华翰白芨专业合作社, 品种为野生白花白芨(*Bletilla striata* (Thunb.) Reichb. f. var. alba Hort)。

### 2.2. 材料处理

- 1) 预处理用肥皂水和软毛刷将白芨果荚表面清洗干净, 然后用自来水冲洗10 min, 每个果荚修理好备用。
- 2) 乙醇消毒在超净工作台上将果荚移入无菌瓶, 倒入75%的乙醇浸没材料, 轻摇1 min后倒出乙醇, 用无菌水冲洗1次。
- 3) HgCl<sub>2</sub>消毒用0.1% HgCl<sub>2</sub>浸没上述材料, 轻摇6~8 min后倒出HgCl<sub>2</sub>液。
- 4) 无菌水清洗注入无菌杯适量的无菌水, 晃动数次将水倒掉, 如此重复5次, 无菌纸吸干材料水分备用。

### 2.3. 培养及配置

以MS为基本培养基(含蔗糖3%, 琼脂0.7%, pH为5.7), 并附加NAA和6-BA及IAA不同浓度组合的激素, 制好后分装入150 mL组培瓶灭菌冷却待用[7][8]。

### 3. 结果与分析

#### 3.1 进行外植体预处理

选品性表现良好的植株，做上标记，然后对其进行外围杀菌处理。

#### 3.2. 进行果荚诱导试验

在晴天采取健康白芨果荚，进行清洗和消毒处理，将已消毒的果荚内的种子用镊子取出放入诱导培养基，进行芽诱导培育[9] [10]。

将诱导出的白芨幼苗接种到 MS 并附加 NAA 和 6-BA 不同浓度组合的培养基上进行培养。M1、M2、M3、M4 分别为  $1.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  6-BA +  $0.2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  NAA、 $2.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  6-BA +  $0.2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  NAA、 $2.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  6-BA +  $0.2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  NAA、 $3.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  6-BA +  $0.2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  NAA。实验结果表明(见表 1)，以 MS +  $2.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  6-BA +  $0.2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  NAA 诱导效果最好这一组合的培养基为最适，诱导率可达 98%；接种 5 d 后，幼苗开始生长，25 d 后长至 2~2.5 cm。

#### 3.3. 进行白芨幼苗增殖试验

将已诱导出来的幼苗从植株分离，将其接种至增殖培养基中，M5、M6、M7、M8、M9、M10、M11、M12 分别为不同 IAA、6-BA 与 NAA 激素组合(见表 2)。试验结果表明以 MS +  $2.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  IAA +  $2.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  6-BA +  $2.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  NAA 这一组合的培养基为最适，芽生长健壮，增殖达到 3.8 倍[11]。

#### 3.4. 进行白芨幼苗生根试验

将经过增殖出来的幼苗放入生根培养基，经过生根培育使其达到完整植株的成苗为止，要求苗壮根肥为标准。M13、M14、M15、M16 分别为不同 NAA 与 IAA 激素组合(见表 3)，试验结果表明以  $1/2$  MS +  $0.01 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  NAA +  $0.01 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  IAA 这一组培养基为最适，生根质量较好。

Table 1. Different culture medium on the germ induced effects

表 1. 不同培养基对幼芽诱导影响

处理	接种数	出芽数	出芽率(%)
M1	50	36	72
M2	50	46	92
M3	50	49	98
M4	50	42	84

Table 2. The influence of different culture medium for differentiation

表 2. 不同培养基对幼苗分化影响

处理	接种数	增殖数	增殖倍数
M5	50	70	1.4
M6	50	75	1.5
M7	50	135	2.7
M8	50	165	3.3
M9	50	180	3.6
M10	50	190	3.8
M11	50	185	3.7
M12	50	155	3.1

**Table 3.** The influence of different culture medium to take root  
**表 3.** 不同培养基对幼苗生根影响

处理	接种数	生根数	生根率(%)
M13	50	41	82
M14	50	45	90
M15	50	44	88
M16	50	42	84

**Table 4.** Effects of different matrix on survival of *Bletilla striata* after transplant  
**表 4.** 不同基质对驯化苗影响

处理	成活率(%)	新抽叶数(片)	叶宽(cm)
蛭石	80	3.75	0.60
珍珠岩	75	3.67	0.59
草炭土 + 蛭石	90	3.80	0.63
草炭土 + 珍珠岩	85	3.51	0.61
草炭土 + 蛭石 + 珍珠岩	96	3.95	0.65

### 3.5. 进行白芨成苗出苗移栽

将已生根的完整健康植株从组培瓶中移栽出来, 在大棚内进行驯化, 然后炼苗种植。在炼苗期间, 应严格控制温湿度, 防治病虫害。

当生根苗长出发达根系, 株高达 3~4 cm 时, 移入温室打开瓶口, 保持 3 d, 洗净根系上的培养基, 移入 72 穴育苗盘, 基质配比为草炭土: 珍珠岩: 蛭石(1:1:1)(见表 4)。将育苗盘置于小荫棚培养, 2 周后根系长满, 撤去荫棚, 移入 10cm×10cm 营养钵, 成活率达 96%。

## 4. 讨论与结论

初代培养中将培养茎段上长出的新芽切下用于继代培养后, 若原茎段还没有枯干时, 将其重新接入新的培养基中, 20 d 后可从切口处长出 1~3 个新芽, 这样可在短期内迅速建立大量无性系[12]。

在 MS 培养基的基础上对影响白芨生长因素进行了试验, 结果表明在不同光照时长白芨原球茎生长影响较大, 随着光照时间的延长, 白芨原球茎生长量也随着增长, 当光照时间不足时白芨原球茎出现白化现象, 甚至死亡[13]。当光照时间达到 12 h 以上时, 白芨原球茎的生长较为旺盛, 因此在实际应用时可以采用 12 h 光照时长。另外还试验了 PH 值对白芨生长的影响, 白芨生长最佳 PH 为 5.7~6.6 [14]。

在白芨组织培养快繁过程中, 细胞分裂素 BA 和生长素 NAA 均可促进原球茎的诱导和增殖, 培养基中激素种类和浓度对白芨增殖有很大影响。6-BA 和 NAA 同时影响白芨丛生芽的增殖, NAA 对增殖的影响大于 6-BA, 是白芨丛生芽增殖的主导因子。对野生白芨进行组培快繁研究表明: MS + 2.5 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA + 0.2 mg·L<sup>-1</sup> NAA 诱导效果最好; MS + 2.5 mg·L<sup>-1</sup> IAA + 2.5 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA + 2.0 mg·L<sup>-1</sup> NAA 诱导增殖的效果最好; 1/2 MS + 0.01 mg·L<sup>-1</sup> NAA + 0.01 mg·L<sup>-1</sup> IAA 生根效果最好。炼苗基质以 60%腐叶土 + 30%珍珠岩 + 10%蛭石为佳; 炼苗温度 23℃~28℃, 空气相对湿度 80%~90%有利于提高炼苗成活率。

## 基金项目

2015 年度浙江省大学生科技创新项目(2015R463001)。

## 参考文献 (References)

- [1] 刘文萍. 月季脱毒苗的快繁技术[J]. 中国农学通报, 1997, 13(3): 59-60.
- [2] 朱玉球, 王雪根黄花白芨组织快繁技术[J]. 浙江林学院学报, 1999, 16(2): 164-169.
- [3] 王小蓉, 汤浩茹, 邓群仙. 中国树莓属植物多样性及品种选育研究进展[J]. 园艺学报, 2006, 33(1): 190-196.
- [4] 徐娥, 李岩. 树莓的组织培养及快速繁殖[J]. 中国野生植物资源, 2006, 25(1): 64-65.
- [5] 曹春英. 植物组织培养[M]. 北京: 中国农业出版社, 2006.
- [6] 李胜, 李唯. 植物组织培养原理与技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2008.
- [7] 管常东, 叶静, 郑晓君, 等. 白芨组织快繁育苗技术研究进展[J]. 云南大学学报: 自然科学版, 2010, 32(S1): 416-421.
- [8] 陆峻波, 刘亚辉, 杨永红, 孙乐乐, 夏翔, 周敏, 黄春球. 从文献分析看我国白芨研究进展[J]. 云南农业大学学报, 2011, 26(2): 288-292.
- [9] 郑春明, 等. 植物组织培养[M]. 杭州: 浙江大学出版, 2011.
- [10] 陆峻波, 刘亚辉, 杨永红, 等. 从文献分析看我国白芨研究进展[J]. 云南农业大学学报, 2011, 26(2): 288-292.
- [11] 刘军凯. 白芨细胞悬浮体系的建立及其次生代谢产物的测定[D]: [硕士学位论文]. 昆明: 云南农业大学, 2012.
- [12] 张永为, 蒋福升, 王寅, 等. 白芨产业现状及可持续发展的探讨[J]. 中华中医药学刊, 2012, 30(10): 2264-2266.
- [13] Ardtttj, J., Michaud, J.D. and Healey, P.L. (1980) Norphometry or Orchid Seeds II. Native California and Related Species of Calypso, Cephalanthera, Corallodai and Epipeetis. *American Journal of Botany*, **67**, 347-360. <http://dx.doi.org/10.2307/2442345>
- [14] Miyoshil, K. and Mii, M. (1995) Phytohormone Pre-Treatment for the Enhancement of Seed Germination and Pro-toeonn Formation by the Terrestrial Orchid, Calanthe Discolor (Orch/Daceae), in Asymbiotic Culture. *Seientia Horti-culturae*, **63**, 263-267. [http://dx.doi.org/10.1016/0304-4238\(95\)00813-9](http://dx.doi.org/10.1016/0304-4238(95)00813-9)