

蝴蝶兰组织培养研究进展

朱懿, 严红 (大连大学环境与化学工程学院, 辽宁大连 116622)

摘要 按组织培养的一般程序(原球茎的诱导、增殖、分化、生根、移栽)概述了蝴蝶兰组织培养的研究进展, 并介绍了种子的无菌播种快繁和丛生芽繁殖途径, 以及组织培养过程中的褐化问题研究进展, 并对我国未来蝴蝶兰研究发展进行了展望。

关键词 蝴蝶兰; 组织培养; 原球茎

中图分类号 Q943.1 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2008)05-01783-03

Research Progress of *Phalaenopsis* in Tissue Culture

ZHU Yi et al (College of Environment and Chemical Engineering, Dalian University, Dalian, Liaoning, 116622)

Abstract According to the procedure of tissue culture(Protocorm-like body (PLB)'s forming, multiplication, differentiation, rootage, transplant), the research progress of *Phalaenopsis* in tissue culture in recent 10 years was summarized. And the technology of *Phalaenopsis*' aseptis sowing and rapid propagation, its way of cluster shoots and browning problems in culture were introduced briefly. Then the development of *Phalaenopsis* in our country in future was viewed.

Key words *Phalaenopsis*; Tissue culture; Protocorm-like body (PLB)

蝴蝶兰又称蝶兰, 其花形奇特, 色彩艳丽, 花期持久, 具有极高的观赏和经济价值, 是国际上最具有商业价值的四大观赏热带兰之一。由于蝴蝶兰属于单茎性气生兰, 再生能力弱, 很难进行分株繁殖^[1], 且种子非常细小, 在自然条件下很难萌发^[2], 增殖系数很低, 比其他兰花更难以进行常规的无性繁殖, 不能满足日益增长的市场需求。因此, 研究蝴蝶兰的繁殖具有重要的意义。组织培养是蝴蝶兰快速繁殖的有效途径。近些年, 出现了不少以蝴蝶兰的叶片、根尖、茎尖、花梗等外植体进行组织培养的报道, 但尚有许多环节需要改进。蝴蝶兰组织培养程序一般为: 选取外植体(叶片、根尖、茎尖、花梗等)→诱导形成原球茎(PLB)→原球茎大量增殖→分化出小植株→生根壮苗培养→温室移栽。笔者对蝴蝶兰组织培养的研究进展进行了阐述。

1 蝴蝶兰的繁殖

1.1 从离体器官诱导产生原球茎进行繁殖

1.1.1 原球茎的诱导。

(1)以叶片为外植体。以叶片为外植体诱导原球茎具有取材容易、广泛、不损害母株等优点。Ishii 等认为, 在添加蔗糖的培养基中, 以叶片为外植体没有原球茎产生, 叶片诱导比较困难, 一般需要高浓度的植物生长调节剂^[3]。Park 等将无菌苗叶片切成 5 mm×10 mm 大小, 接种于 MS+6-BA 15 mg/L+NAA 1 mg/L 培养基上, 8 周后诱导出原球茎^[4]。刘林取蝴蝶兰花茎茎节在无菌条件下培养长成幼枝上的叶片切块作外植体, 在 MS 培养基上培养, 结果表明, 培养基中加 1 mg/L NAA、10 mg/L 腺嘌呤、10 mg/L 6-BA、1%琼脂和 2%蔗糖, 容易产生原球茎^[5]。蔡斌以花梗芽培养所得的无菌茎芽顶部展开的新叶为外植体进行培养, 一个月后切口边缘的叶面上有白色的原球茎形成。研究同时表明, 6-BA 和 KT 不能使叶块诱导出原球茎, 而培养基中添加椰子汁有利于叶块分化出原球茎^[6]。马杰等取市售瓶苗蝴蝶兰幼嫩叶片, 采用不同培养基对其进行诱导效果比较。结果表明, 香蕉泥和椰乳(CM)对蝴蝶兰外植体原球茎的形成具有明显的促进作用。在 MS+6-BA 5.0 mg/L+NAA 2.0 mg/L+香蕉泥 10.0%+

AC 0.3% 的培养基中, 叶片原球茎的诱导率可达 48.6%^[7]。Chen 等以蒴果授粉萌发出的幼叶为外植体, 接种于 MS 培养基上, 通过试验得出结论: 当 1 cm 长的叶片接种到附加 0.1 mg/L 和 1.0 mg/L NAA 的培养基上后, 外植体几乎全部死亡, 没有原球茎产生; 当添加 TDZ 后 20 d, 叶片表面即有原球茎产生。因此 TDZ 对蝴蝶兰原球茎的形成有明显的促进作用^[8]。

(2)以根为外植体。以根为外植体诱导原球茎的报道较少。黄恩平、张云峰利用蝴蝶兰实生苗根段在 MS 培养基上附加 KT 和 NAA 诱导出原球茎, 诱导率为 9.7%^[9]。张秀清等取蝴蝶兰实生苗的根尖接种于培养基上, 经过 50 d 培养后, 在顶端长出原球茎, 其诱导率在 75%左右^[10]。李进进等用蝴蝶兰新发生的根尖接种于 B5+NAA 1.5 mg/L+CM 150 ml/L+3%蔗糖培养基上, 2 周后, 根端切口处开始膨大, 产生淡绿色瘤状愈伤组织, 并不断扩大, 成功诱导出原球茎^[11]。徐文华等以试管苗的气生根为外植体, 诱导培养基为 MS+NAA 1.0 mg/L+Ad 10 mg/L, 附加不同浓度的 6-BA 和 CW 20%, 试验结果表明, 根尖几乎没有诱导出原球茎^[12]。

(3)以茎尖为外植体。茎尖是细胞分裂最旺盛部分, 成功率较高。潘学峰、黄凤娇以海南蝴蝶兰试管苗茎尖为外植体, 接种于 MS、KC、VW 3 种培养基上, 得出结论: KC 培养基效果最好, 平均诱导率为 77.1%, 其次是 VW, 最差是 MS。单独使用生长素 NAA 也不能产生原球茎; 最好的配比 6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L, 原球茎的诱导率高达 90%^[13]。王芳等以蝴蝶兰小幼苗茎尖为外植体, 接种在 MS 附加激素培养基上, 培养 25~30 d, 仅在低浓度下诱导出原球茎, 6-BA 0.5 mg/L 最好, 诱导率 40%^[14]。张伟等取新长出的茎尖为外植体, 接种在 N6 培养基上, 培养 20 d 后, 在不含 IAA 的培养基中, 茎尖组织不能诱导生成原球茎; 当 KT 为 1.0 mg/L、IAA 为 0.5 mg/L 时, 原球茎的诱导率为 100%^[15]。张元国在硕士论文中提到: 茎尖相对其他外植体诱导率较高, 达 88.5%, 最佳激素组合为 MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L^[16]。

(4)以花梗为外植体。①直接以花梗为外植体。刘福林等将花梗切成约 1.5~2.0 mm 的薄片, 平放在固体培养基 MS+6-BA 1~2 mg/L 上, 培养 2 周左右, 可见外植体膨大, 2 个月, 圆球状的突起增多, 长成桑果状原球茎, 诱导率可达

作者简介 朱懿(1981-), 女, 辽宁大连人, 硕士研究生, 研究方向: 环境生物。

收稿日期 2007-10-16

77%^[17]。鲁雪华等以花梗节间段为外植体,接种后约 30 d 开始出现膨大,2 个月后有原球茎形成。同时得出结论:减少 MS 中大量元素和部分微量元素及有机成分,适当增加少量叶酸和生物素有利于原球茎的形成。在培养基中添加椰乳汁能够明显增加原球茎的发生率。最佳诱导培养基为改良的 MS 培养基+6-BA 5.0~7.5 mg/L+NAA 0.5~1.0 mg/L+椰乳汁 15%^[18]。陈勇等以盆栽苗的花梗切片为外植体,在常用的多种培养基上培养,结果发现花梗切片 MS+10 mg/L KT+5 mg/L NAA 培养基上有少量原球茎诱导产生^[19]。②以由花梗芽萌发的无菌苗离体器官为外植体。秦凡等将花梗切成带腋芽的小段,接种于培养基中,结果表明,6-BA 在浓度为 5.0 mg/L 时萌发效果最好,然后将无根苗去叶取茎尖诱导原球茎,得出茎尖诱导以 M1+6-BA 3.0 为最佳^[20]。张元国等将休眠的花梗腋芽启动,在三角瓶内长成无菌植株,利用无菌植株的茎尖、叶子、根尖等诱导原球茎状体进行快速繁殖。结果表明,培养基 MS+6-BA 3.0 mg/L 出芽率最高,可达 90%;MS+6-BA 5.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L 诱导率最高,可达 100%^[21]。张启香等通过诱导残败花梗上的休眠芽萌发,以萌发的幼叶和去茎尖的茎段为外植体进行组织培养,并筛选出最佳培养基组成:MS+6-BA 3.0 mg/L+ZT 0.5 mg/L+柠檬酸 30 mg/L;MS+6-BA 5.0 mg/L+柠檬酸 30 mg/L+30%椰乳^[22]。曹修才等取新抽出的花梗为外植体,接种到培养基上,40 d 后各种培养基的花梗腋芽都能萌发,再利用叶片诱导原球茎,得出最佳培养基为 1/2 MS+6-BA 10.0 mg/L+NAA 1.0 mg/L,原球茎诱导率为 85%^[23]。

1.1.2 原球茎的增殖。叶晓青等以繁殖系数为指标,在不同激素水平的 MS 培养基上,对蝴蝶兰原球茎的繁殖进行研究。结果表明,在激素水平 6-BA 2.0 mg/L+NAA 1.0 mg/L 的培养基上,繁殖系数达 4 倍以上;NAA 对原球茎的增殖有维持作用;5%的低质量浓度椰乳也有利于原球茎增殖^[24]。周俊辉等就添加 1~7 mg/L 6-BA 和 1 mg/L NAA 的 MS、1/3 MS 和改良 KC 3 种基本培养基对蝴蝶兰原球茎增殖的影响进行了研究。结果表明,改良 KC 的效果最好,1/3 MS 的效果次之,MS 的效果最差。在改良 KC 基本培养基中,加入 6-BA 的浓度以 1 mg/L 对原球茎增殖的效果最好,随 6-BA 浓度的增加原球茎增殖率下降^[25]。刘晓燕等以原球茎为外植体进行培养,比较不同基本培养基、有机添加物和植物激素等因子对蝴蝶兰原球茎增殖效果的影响。结果表明,以改良 VW 为基本培养基对促进原球茎增殖的效果优于 MS 基本培养基,在 MS 为基本培养基时,削减大量元素的用量有利于 PLB 的增殖。使用有机添加物对原球茎增殖有影响,其中以椰乳增殖效果最好,6-BA 及 NAA 的使用浓度决定 PLB 继续增殖或分化的方向以及进行的速度^[26]。叶小曲在硕士论文中提到将原球茎转接到增殖培养基中,通过正交试验得出原球茎增殖最佳培养基 G3+6-BA 10.0 mg/L+NAA 1.0 mg/L+活性炭 0.2%^[27]。Tsu-Hwie 等把原球茎切割成 2 cm×2 cm 小块进行增殖,增殖培养基为 KC+蛋白胨 1 g/L+苹果酸 30 mg/L+椰汁 150 mg/L,同时添加 2%海藻糖或蔗糖以及 1 g/L 活性炭。结果表明,在添加海藻糖的固体培养基上,原球茎的增殖率是添加蔗糖的 2 倍多,同时在固体培养基上培养比在液体培养基上培养获得更高的增殖率^[28]。

1.1.3 原球茎的分化。快速增殖原球茎并诱导分化成苗是

实现蝴蝶兰工厂化生产的关键^[29]。何松林等以蝴蝶兰原球茎为材料,比较不同基本培养基、不同碳源和不同培养基添加物对蝴蝶兰原球茎幼苗分化的影响。结果表明,以 NP 和 VW 为基本培养基时,原球茎分化幼苗优于 MS 培养基;3 种培养基添加物中,椰子汁和马铃薯优于香蕉;3 种碳源相比较,蔗糖有利于苗的分化和生长^[30]。王芳等通过研究激素对蝴蝶兰原球茎分化的影响,得出结论,6-BA 与 NAA 组合配比为 2:1 时分化率达最高值 100%^[14]。姚丽娟等通过试验得出分化率则以 VW 最高,达 57%;NAA 浓度对原球茎增殖分化的影响均不明显^[31]。徐晓薇等以蝴蝶兰花梗诱导的原球茎为材料,对其进行研究,结果表明,较高的蔗糖含量(6%)和植物生长调节剂组合(6-BA 0.01 mg/L+2,4-D 0.1 mg/L)能有效促进原球茎的分化^[32]。

1.1.4 生根培养。在培养基中添加苹果汁、香蕉汁、椰乳、土豆泥、低浓度的生长素和多效唑可促进生根壮苗。胡海英、王建宇将原球茎定植于 KC+NAA 0.2 mg/L+5%马铃薯+10%椰乳的培养基上,15 d 后,其根分化出来,并生长健壮^[33]。Wang 等将原球茎转接在添加 0.1 mg/L IAA 的培养基上,14 d 形成根,生根诱导率为 40%^[34]。杨建国在硕士论文研究中得出:单独使用 NAA 0.5 mg/L 为好;随着 6-BA 浓度的增高,生根率反而下降;诱导生根较为理想的浓度比为 6-BA 0.1 mg/L+NAA 0.5 mg/L,生根率高,根数多,根长^[35]。李丽等选取 NAA、IBA 两种植物生长物质和蔗糖 3 个因子,每个因子取 3 个水平,用正交设计研究生根试验。结果表明,NAA 对蝴蝶兰生根的影响较大,蔗糖次之,而 IBA 的影响最小,得出蝴蝶兰无根苗生根的最佳培养基为:1/2 MS+NAA 0.2 mg/L+IBA 0.1 mg/L+蔗糖 20 g/L^[36]。

1.2 利用种子萌发繁殖 兰花种子的萌发有两种方法,即共生萌发与非共生萌发(无菌播种)。无菌播种适于大多数热带气生兰的种子萌发。姚丽娟等通过对蝴蝶兰杂交种子进行无菌播种培养,得出改良 KC 培养基是适合蝴蝶兰种子发芽、生育的最佳培养基;添加 10%的椰乳或香蕉汁,对种子萌发均有促进作用,椰乳效果好于香蕉汁^[37]。丁峰等取蝴蝶兰不同品种成熟蒴果中的种子进行无菌播种,诱导形成原球茎状球体。结果表明,对各供试成熟蒴果种子的诱导均获成功;最适于种子原球茎产生的培养基为花宝 1 号+6-BA 3 mg/L+NAA 0.05 mg/L+10%~15%香蕉汁,种子萌发率高达 95%^[38]。范五成等取生长 120 d 的蒴果,播种于 MS+6-BA 1 mg/L+NAA 0.1 mg/L+AC 2 mg/L 的培养基中,70 d 左右可出苗,出苗率达 100%^[39]。陈超等通过对种子播种方法的比较,得出稀释法结果较好,种子分布均匀,且原球茎发育健壮整齐^[40]。

1.3 直接诱导丛生芽繁殖 不经过愈伤组织直接诱导丛生芽,是蝴蝶兰快速繁殖的又一个途径。刘荣维等通过花梗腋芽诱导丛生芽,着重研究增殖和壮苗培养。结果表明,随着 6-BA 浓度的提高,丛生芽增殖率上升;添加椰汁有利于增殖率的提高,而且长势较好;适当增加培养室光照并加入香蕉和土豆等有机物能促进根系生长,使蝴蝶兰苗更健壮^[41]。祁素萍在硕士论文研究试验中通过花梗腋芽诱导丛生芽,结果表明,在 MS+6-BA 5.0 mg/L+NAA 1 mg/L 培养基中诱导率最高,达 50%左右;在生根培养中,MS+活性炭 0.6 g/L 培养基的生根效果最好,生根量多,且根粗壮^[42]。潘学峰等诱

导花梗休眠芽转化为营养芽,结果表明,花梗芽在培养基 MS+6-BA 5.0 mg/L+NAA 0.05 mg/L 上能够诱导产生丛生芽;在丛生芽增殖阶段,以 6-BA 12.5 mg/L+NAA 0.05 mg/L 的增殖效果最好;在生根阶段以 1/2 MS+NAA 0.5 mg/L+0.2 %活性炭+10 %椰子水的生根效果较佳,生根率可达 100 %,且植株生长健壮^[43]。王玉英等研究表明,KT 能降低培养基的褐化程度,而 1/2 MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L+8 %香蕉泥最有利于蝴蝶兰丛生芽的增殖,增殖率高,且叶片健壮;1/2 MS+NAA 1.0 mg/L+8 %香蕉泥有利于促进生根^[44]。

2 蝴蝶兰组织培养过程中褐化问题研究

外植体褐变是植物组织培养中遇到的重要问题。有研究表明,导致褐化的主要原因是由多酚氧化酶作用于天然底物酚类物质形成醌而引起的^[45],通过加入抗氧化剂和吸附剂可较好地控制褐化现象发生^[46]。姚丽娟等认为,在培养基中添加 1~2 g/L 活性炭,适时切除培养物的褐化部分,及时更换新鲜培养基,能有效地抑制外植体褐变死亡的发生;培养基中加入 10 %椰子水,能促进原球茎的生长,减少原球茎增殖过程中的褐变^[47]。刘真华等系统研究了吸附剂(活性炭、聚乙烯吡咯烷酮 PVP)与柠檬酸、半胱氨酸、谷胱甘肽、维生素 C 和硫代硫酸钠 5 种抗氧化剂对蝴蝶兰组培中褐化的影响。结果表明,活性炭能有效控制褐化和促进生长,但不利于分化;谷胱甘肽 200 mg/L 控制褐化的效果虽不及活性炭,但综合效果最佳,既能较好地抑制褐化,又能促进生长和分化^[48]。许传俊等通过培养基及光照对蝴蝶兰叶片外植体褐变的影响试验结果表明,蝴蝶兰叶片外植体在 MS 纸桥培养基上培养 10 d 发生褐变率较低,MS、B5 和 N6 培养基中外植体褐变率最高;添加柠檬酸可减轻外植体褐变;而添加活性炭、抗坏血酸或 PVP 对减轻外植体褐变无显著作用;光照强度增加,外植体褐变也严重^[49]。赵伶俐等研究了不同光照强度培养下,蝴蝶兰初代培养过程中外植体内多酚氧化酶(PPO)活性、总酚含量以及褐化百分率的变化规律。结果表明,1 000 lx 和 3 000 lx 光强培养可降低褐化率,2 000 lx 光强培养的外植体褐化严重且 PPO 活性高于其他两处理,差异显著;3 个处理间总酚含量差异不显著。二者相关性分析结果表明,PPO 活性与外植体中总酚含量呈中等相关^[50]。印芳在硕士论文研究中得出,初代培养时,培养基中 Fe、Cu 浓度越高,褐变越严重;一定范围内,培养基中 K、Ca、Zn 浓度越高,褐变程度越轻^[51]。

3 展望

(1) 兰花组织培养技术研究的发展空间非常大,前景广阔。目前虽然国内对蝴蝶兰的组织培养有一些报道,但众多研究表明,蝴蝶兰的组织培养中仍然存在一些问题,对原球茎诱导率、增殖率、褐化、新品种选育等很多问题未能很好解决,需要进一步研究和完善。

(2) 基因工程在蝴蝶兰育种上的应用在国内还是空白。可用于导入蝴蝶兰的基因很多,如绿色荧光基因、花色基因、抗病基因等。而且,在传统育种基础上采用基因工程技术对花卉的基因进行修饰,可以改良花卉的品质特性。虽然蝴蝶兰在花色和抗衰老方面已经有初步报道,但在其他方面还有待于进一步的研究。既具有香味、花型又美观将是未来花卉基因工程研究的重要课题。

参考文献

- [1] 彭立新,王姝,孟广云.蝴蝶兰组织培养繁殖的研究[J].天津农业科学,1999,5(2):27-29.
- [2] 卢思聪.兰花栽培入门[M].北京:金盾出版社,1990:9.
- [3] 李云.林果花菜组织培养快速育苗技术[M].北京:中国林业出版社,2001:6.
- [4] 王怀宇.蝴蝶兰的快速无性繁殖[J].园艺学报,1989,16(1):73-77.
- [5] 王晓丽,朱东昌,顾德凤,等.蝴蝶兰原球茎组织学研究[J].吉林农业大学学报,2003,25(4):397-399.
- [6] ISHII Y, TAKAMURA T, GOI M, et al. Callus induction and somatic embryogenesis of *Phalaenopsis* [J]. Plant Cell Reports, 1998, 17: 446-450.
- [7] PARK S. Y., MURTHY H. N., PAK K. Y. Mass multiplication of protocorm-like bodies using bioreactor system and subsequent plant regeneration in *Phalaenopsis* [J]. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 2000, 63: 67-72.
- [8] 刘林.诱导蝴蝶兰叶片产生原球茎的研究[J].北方园艺,2003(6):51.
- [9] 蔡斌.蝴蝶兰快繁技术的研究[D].扬州大学,2003:21-25.
- [10] 马杰,何蔚荏,崔波.蝴蝶兰原球茎状体的诱导及增殖[J].河南科学,2005,23(1):51-53.
- [11] CHEN J. T., CHANG W. C. Direct somatic embryogenesis and plant regeneration from leaf explants of *Phalaenopsis amabilis* [J]. Biologia Plantarum, 2006, 50 (2): 169-173.
- [12] 黄恩平,张云峰.蝴蝶兰无性繁殖初探[J].云南教育学院学报,1995,11(5):63-65.
- [13] 张秀清,王志武,王春英,等.蝴蝶兰实生苗原球茎诱导研究[J].莱阳农学院学报,1995,12(1):44-46.
- [14] 李进进,廖俊杰,柯丽婉,等.蝴蝶兰根段的组织培养[J].植物生理学通讯,2000,36(1):37.
- [15] 徐文华,范燕萍.蝴蝶兰再生体系优化的研究[J].安徽农业科学,2005,33(6):1030-1031.
- [16] 潘学峰,黄凤娇.海南蝴蝶兰的组织培养研究[J].海南大学学报,1997,15(3):206-208.
- [17] 王芳,文峰,武斌,等.激素对蝴蝶兰快速繁殖的影响[J].新疆农业大学学报,2003,26(4):68-71.
- [18] 张伟,曾伏虎,张苏峰.蝴蝶兰的组织培养与快速繁殖[J].信阳师范学院学报:自然科学版,2004,17(3):335-337.
- [19] 张元国.蝴蝶兰组织培养快繁技术的优化[D].中国农业大学,2005:12-13.
- [20] 刘福林,李淑萍.蝴蝶兰花梗的组织培养和植株再生[J].商丘师范学院学报,2001,12(6):98-99.
- [21] 鲁雪华,郭杰文,徐立晖,等.蝴蝶兰花梗节间段培养繁殖的初步研究[J].园艺学报,2002,29(5):491-492.
- [22] 陈勇,林开县,王君晖.蝴蝶兰的快速繁殖和规模化栽培技术研究[J].浙江大学学报:理学版,2004,31(1):84-87.
- [23] 秦凡,周吉源.蝴蝶兰的组织培养研究[J].生物学杂志,2003,20(3):19-21.
- [24] 张元国,刁家连,刘玉娥,等.蝴蝶兰花梗腋芽组培再生技术体系的研究[J].山东农业科学,2004(6):3-5.
- [25] 张启香,方炎明,张晓平.蝴蝶兰的组织培养和快速繁殖[J].植物资源与环境学报,2004,13(1):38-40.
- [26] 曹修才,杨士辉,朱方平,等.蝴蝶兰组培技术研究产业化开发[J].北方园艺,2006(6):15-151.
- [27] 叶晓青,谢东,魏书.不同激素水平对蝴蝶兰原球茎状体增殖影响[J].江苏林业科技,2000,27(9):42-44.
- [28] 周俊辉,叶超宏,陈旭高.蝴蝶兰原球茎增殖培养的研究[J].仲恺农业技术学院学报,2002,15(3):13-17.
- [29] 刘晓燕,向青云,刘玲玲.基本培养基及附加物对蝴蝶兰原球茎增殖效果的影响[J].种子,2005,24(6):18-20.
- [30] 叶小曲.蝴蝶兰组培快繁技术和水质、温度对其生长发育影响的研究[D].中国农业大学,2005:15-16.
- [31] TSU-HWIE A. L., LIN J. J., WU R. Y. The effects of using trehalose as a carbon source on the proliferation of *Phalaenopsis* and *Doritaenopsis* protocorm-like-bodies [J]. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 2006, 86: 125-129.
- [32] 马子骏,王鲁彤,卢宇广,等.蝴蝶兰工厂化生产技术研究[J].浙江林学院学报,1998,15(2):192-196.
- [33] 何松林,王献,鲁琳.培养基和添加物对蝴蝶兰原球茎分化幼苗的影响[J].中南林学院学报,2003,23(5):11-13.

检验,差异不显著。试验设计为饱和设计,理论值与实际值相吻合,因此,回归数学模型能够反映实际情况^[4]。

该研究采用频数分析法寻优^[4-8],根据模型因子 x_1, x_2, x_3 , 按步长系数为 0.1, 且满足 $\sum x_i = 1$ 的既定设计要求, 从而构成了 66 个心香扦插密度、尿素用量和硫酸钾用量的不同处理组合。结合当地生产实际, 将心香鲜薯产量设定为 27 000 kg/hm² 以上, 结果在 66 套组合方案中, 有 28 套符合产量要求, 其中 x_1 的平均取值为 0.20, x_2 的平均取值为 0.35, x_3 的平均取值为 0.45, 其在 95 % 置信区间内的取值分别为: 0.138 5~0.261 5、0.264 6~0.435 4、0.390 8~0.509 2, 相应的农艺变量取值为: 扦插密度 40 575~44 625 株/hm², 尿素用量 245.25~306.75 kg/hm², 硫酸钾用量 234.45~305.55 kg/hm²。

2.2 效益结果与分析 该研究鲜薯、薯苗、尿素、硫酸钾和过磷酸钙价格分别按 0.60 元/kg、0.03 元/株、1.70 元/kg、2.00 元/kg 和 0.46 元/kg 计算, 并将其换算成每公顷净产值, 则 1~6 号试验小区的净产值分别为 11 536.35、13 377.00、12 015.00、12 412.20、13 678.50、14 589.90 元/hm²。同样, 对试验的净产值结果进行参数估计, 建立了心香的净产值对于不同扦插密度、尿素用量和硫酸钾用量的回归数学模型:

$$\hat{y}_2 = 11\ 536.35 x_1 + 13\ 377.00 x_2 + 12\ 015.00 x_3 - 177.90 x_1 x_2 + 7\ 611.30 x_1 x_3 + 7\ 575.60 x_2 x_3$$

χ^2 测定法检验表明, 上述回归数学模型能够反映实际情况。将心香净产值设定在 13 500 元/hm² 以上, 结果在 66 套组合方案中, 有 35 套符合净产值要求, x_1, x_2, x_3 的取值趋势与鲜薯产量大于 27 000 kg/hm² 的分析结果基本一致。 x_1, x_2 和 x_3 的平均取值分别为 0.22、0.38、0.40, 其在 95 % 置信区间内的取值分别为: 0.160 6~0.279 4、0.295 1~0.465 0、0.339 3~0.460 7, 相应的农艺变量取值为: 扦插密度 41 295~45 225 株/hm², 尿素用量 256.20~317.40 kg/hm², 硫酸钾用量 203.55~276.45 kg/hm²。

(上接第 1785 页)

- [31] 姚丽娟, 徐晓薇, 林绍生, 等. 蝴蝶兰原球茎增殖分化影响因子探讨[J]. 亚热带植物科学, 2004, 33(3): 42-44.
- [32] 徐晓薇, 柴明良, 姚丽娟. 蝴蝶兰类原球茎增殖和脱分化的研究[J]. 浙江农业科学, 2006, (4): 401-403.
- [33] 胡海英, 王建宇. 蝴蝶兰的离体培养和快繁技术研究[J]. 宁夏大学学报, 2002, 23(4): 367-369.
- [34] WANG J W, MING F, YE M M, et al. A reliable protocol for plant regeneration from pedicel axillary bud of *Phalaenopsis in vitro*[J]. 复旦学报: 自然科学版, 2004, 43(2): 230-234.
- [35] 杨建国. 蝴蝶兰组培再生体系的建立及工厂化生产技术研究[D]. 中国农业大学, 2004: 17-19.
- [36] 李丽, 罗君琴, 王海琴, 等. 蝴蝶兰离体培养条件的筛选[J]. 西南园艺, 2005, 33(3): 7-8.
- [37] 姚丽娟, 徐晓薇, 林绍生, 等. 蝴蝶兰无菌播种技术[J]. 北方园艺, 2004(1): 82-83.
- [38] 丁峰, 徐建新, 孙莉, 等. 蝴蝶兰无菌播种快繁技术[J]. 江苏农业科学, 2005(4): 79-80.
- [39] 范成五, 黄燕芬, 刘建英, 等. 蝴蝶兰无菌播种繁殖试验[J]. 贵州农业科学, 2006, 34(4): 28-29.
- [40] 陈超, 王桂兰, 乔永旭, 等. 蝴蝶兰无菌播种方法的比较研究[J]. 北方园艺, 2006(1): 35-36.

2.3 产量与效益结果的联合分析 以建立的 $\hat{y}_1$ 和 $\hat{y}_2$ 模型为基础, 对同时满足鲜薯产量大于 27 000 kg/hm², 净产值大于 13 500 元/hm² 的农艺方案进行筛选, 结果有 28 套方案同时满足上述产量要求, 优化结果与以提高鲜薯产量为目标的完全一致, 这也说明提高产量与提高效益所采取的措施是一致的。

3 结论与讨论

(1) 试验选择扦插密度、尿素用量和硫酸钾用量 3 个试验因子, 通过田间试验, 测定有关参数, 建立了 3 个供试因子对于鲜薯产量和净产值的回归数学模型。经对模型的解析, 并结合生产实际认为, 在试验条件下, 心香的扦插密度为 45 000 株/hm² 左右, 尿素用量为 270~300 kg/hm², 硫酸钾用量为 225~300 kg/hm²。

(2) 试验条件相同情况下, 早收与正常收获的栽培措施有所差异, 表现在扦插密度有所下降, 尿素和硫酸钾用量却有所上升, 尤其是以鲜薯产量为目标性状时表现得比较明显。这有待于进一步研究。

参考文献

- [1] 茆诗松, 丁元, 周纪芾, 等. 回归分析及其试验设计[M]. 上海: 华东师范大学出版社, 1981: 303-319.
- [2] 王玉杰. 单形格子和单形重心设计统计模型的优化分析方法[J]. 生物数学学报, 1998, 13(1): 124-125.
- [3] 李隆. 肥料试验中应用的单形格子设计及其统计分析[J]. 土壤通报, 1992, 23(6): 275-276.
- [4] 庄绍东. 应用单形格子设计研究结球甘蓝不同时期氮肥分配的定量化[J]. 福建农业科技, 2003(3): 26-27.
- [5] 洪伟, 陈辉, 吴承祯. 毛竹专用复合肥研究[J]. 林业科学, 2003, 39(1): 81-85.
- [6] 刘伟明, 丁正育. 回归旋转设计在农艺优化试验中的应用[J]. 应用概率统计, 1987, 3(3): 274-275.
- [7] 刘伟明. 回归设计在作物间作技术研究中的应用[J]. 数理统计与管理, 2005, (25): 5: 1-5.
- [8] 刘伟明, 徐坚. 中浙优 1 号作单季晚稻种植的移栽密度与施氮技术研究[J]. 杂交水稻, 2006, 21(5): 50-51.
- [41] 刘荣维, 梅庆超. 丛生芽——蝴蝶兰无性快速繁殖的新途径[J]. 热带作物学报, 1993, 14(2): 105-107.
- [42] 祁素萍. 蝴蝶兰、唐菖蒲组培快繁相关技术研究[D]. 山西农业大学, 2001: 7-9.
- [43] 潘学峰, 王安石, 李海珠. 利用丛生芽途径快速繁殖蝴蝶兰的研究[J]. 海南大学学报: 自然科学版, 2005, 23(1): 47-60.
- [44] 王玉英, 李枝林, 余朝秀, 等. 蝴蝶兰离体快繁技术研究[J]. 西部林业科学, 2006, 35(2): 99-101.
- [45] ALFRED M, MAYER, EITAN H. Polyphenol oxidase in plants[J]. Phytochemistry, 1979, 18: 193-215.
- [46] DAS S, HA S. In vitro micro propagation of cashewnut [J]. Plant Cell Reports, 1996, 15: 615-619.
- [47] 姚丽娟, 林绍生, 徐晓薇, 等. 蝴蝶兰防褐化技术探讨[J]. 广西热带农业, 2004(3): 12-13.
- [48] 刘真华, 葛红, 郭绍霞, 等. 蝴蝶兰组织培养中的褐化控制研究[J]. 园艺学报, 2005, 32(4): 732-734.
- [49] 许传俊, 李玲. 几种培养基及光照对蝴蝶兰叶片外植体褐变的影响[J]. 亚热带植物科学, 2006, 35(1): 9-12.
- [50] 赵伶俐, 葛红, 范崇辉, 等. 不同光照强度对蝴蝶兰组培中外植体褐化的影响[J]. 北方园艺, 2006(4): 160-161.
- [51] 印芳. 蝴蝶兰组织培养褐变机理的研究[D]. 湖南农业大学, 2006: 18-21.