

# 兰花组织培养研究综述

黄家平<sup>1</sup> 戴思兰<sup>2</sup>

(1. 中国林业科学研究院热带林业研究所 广州 510520)

(2. 北京林业大学园林学院 北京 100083)

**摘要:** 对兰科植物的组织培养及组培中激素的应用的研究现状进行了综述得出了兰花组培过程中的形态建成途径。指出目前关于兰花育种的研究多集中于兰花的组织培养及激素的应用上;对兰花共生菌根的研究及应用是今后深入探讨的重要课题,培育切花品种兰花是未来兰花产业发展的趋势,也是今后我国兰花育种的方向。

**关键词:** 组织培养 原球茎 无性系 继代培养 个体发生途径

兰花是兰科植物的总称,在我国有悠久的历史,其花色淡雅、高洁,素有“花中君子”之称,具有很高的观赏价值。随着经济的发展,人们对兰花的购买力增加,兰花逐渐形成了一项产业,并迅速向工业化生产发展,过去传统用分株繁殖远远不能满足市场的需求。为了适应兰花事业的发展,人们对兰花的育种展开了广泛的研究。

## 1. 组培中兰花个体发生途径及形态建成

### 1. 1. 种子、胚离体培养

兰花种子细小,长约1mm,直径0.1-0.2mm,粒重0.3-6.5微克,内含一发育不完全的球形胚,无胚乳,在自然条件下很难萌发,多用组培法离体培养种子或胚进行繁殖。在兰花种子、胚离体培养过程中,其发育过程一般可分为五个阶段:<sup>[5]</sup>(一)球形胚胀大,胚表层的细胞形状不规则,外壁加厚,球形胚开始有初布的分化,种子开始萌发,胚胎的合点端将种皮纵向胀破形成早期原球茎。(二)种子萌发形成具有顶生或侧生分生组织的原球茎;种子萌发后形成的原球茎首先在其顶端随后在整个表面普遍长出假根。(三)在顶端分生组织的一侧分化出一片子叶。(四)随后,在子叶的相对一面开始形成第一片真叶,原球茎伸长成根茎。同时,在顶端分生组织下方出现原形成层。由原形成层细胞分化成维管束。当原球茎进一步伸长

形成根茎时,在根茎内可见到形成的维管束。根茎有不断延伸的趋势,在其伸长过程中,假根也不断产生,其数目与条件和原胚的大小有关。(五)当第3-4片叶形成时,开始分化根。

同时,在种子、胚发育过程中,淀粉及脂类的组织、化学成分也在进行着变化。<sup>[5]</sup>在胚胎发育过程中,脂类物质逐渐减少,未见区域性的差异。淀粉的消长则与胚胎分化及器官建成有明显的相关性。表明与胚胎分化过程密切相关的营养物质不是脂肪而是淀粉。脂肪仅为发育过程中的能源。

由上可以看出,离体胚及种子组培的形态建成途径,主要由胚萌发形成类原球茎,继而形成原球茎,伸长成根茎,分化出根和芽,长成小苗。另外,原球茎也可不经根状茎培育出不定芽,再诱导生根形成小植株。此外,使用不同的激素(如:2,4-D)可以使离体胚经愈伤组织形成胚状体,然后形成原球茎进行形态建成,也可由愈伤组织直接诱导出丛生不定芽,再诱导出根,形成小苗(如图1所示)。

### 1. 2. 茎尖、侧芽的组织培养研究

自Morel(1960)利用植物组织培养技术将兰花茎尖分生组织诱导形成原球茎并分化成植株,导致了兰花栽培的变革,实现了兰花生产的工厂化与商品化。同时,对兰花组

培的形态建成的研究发展到现在已进入到细胞学水平,正进一步向分子生物学水平发展。

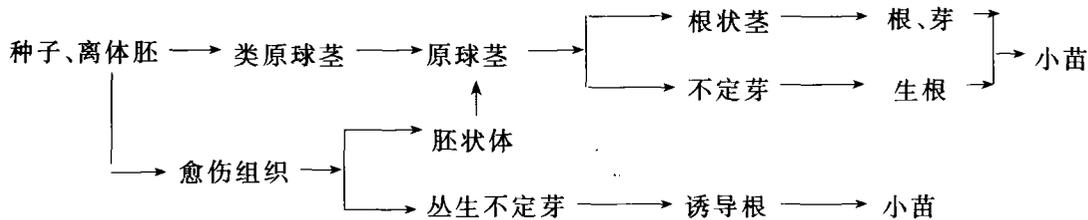


图 1 种子、胚形态建成途径

研究表明,<sup>[2,3]</sup>在接种后的茎尖分生组织的下方无分生能力的薄壁细胞中,首先出现了核大、质浓的胚性细胞;胚性细胞随后进行分裂,形成小胚性细胞团,进一步分裂形成体细胞胚的球形胚结构。这时,可在外植体表面上看到圆球状突起物,这就是球形胚。随后在顶端分生组织外侧长出一片子叶,并在相对一侧形成真叶;子叶和真叶围成花瓣状,把顶端分生组织围在中间,形成已开始分化的原球茎。

外植体在培养基上诱导出原球茎后,下一步就是对原球茎进行继代培养,建立无性系。王熊(1990)<sup>[7]</sup>在研究地生兰个体发生途径时,采用了将原球茎(PLB)培养在不加激素的1/2MS琼脂固体培养基上进行继代培养,获得无需外源激素仍增殖的无性系(PLB-O)。经过驯化,继代培养的原球茎恢复了内源激素的正常水平和功用,为深入研究激素对兰花个体发生及花芽分化的调控提供了较理想的实验系统。在无激素的继代培养基上,原球茎能无限增殖,不形成肉眼可

见的芽和根;且无糖源的原球茎也能增殖,这表明原球茎已能进行光自养生长。从已建立的PLB-O无性系的丛生型PLB上切下单独的PLB用扫描电镜观察,发现PLB上布满发育不同的分生区,在顶端已分化出芽原基;但组织与器官分化要在原球茎发育长大的基础上进行,即芽和根的分化均需一定时间后(一般4个月)才能相继完成(无激素条件下)。随继代进程,原球茎的增殖速度远远大于植株形成的速度。

综上所述,在茎尖和侧芽的组培过程中,兰花的个体发生途径主要是由体细胞胚发育成类原球茎,往后发育的进程与种子胚的形态建成途径相似。此外,外植体除用茎尖和侧芽外,还可用花梗上的休眠芽,它可以沿茎尖培养的个体发生途径成苗,也可直接启动,形成不定芽,再诱导出根成苗。还可用兰花叶片或不带芽的茎段作外植体,这种情况下,首先要经过脱分化形成分生组织或愈伤组织,再沿不同的途径成苗(见图2)。

2. 兰花组培中激素的应用

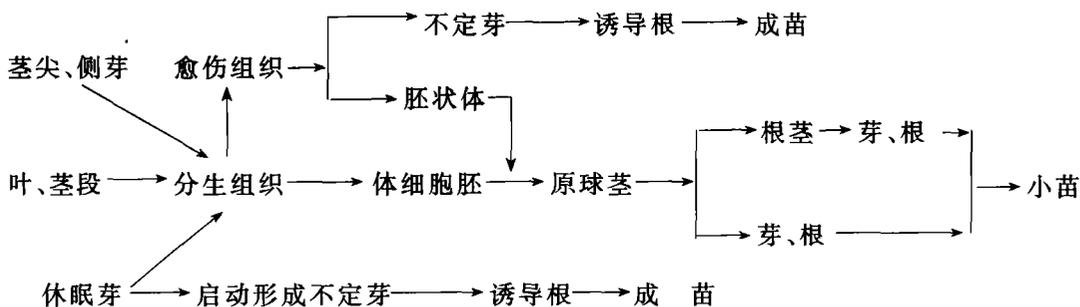


图 2 茎尖、侧芽形态建成途径

人们在研究兰花的形态建成和个体发生途径的过程中,也对激素在兰花组培中的应用进行了一些探索。实验证明,<sup>[4]</sup>激素能够诱导胚发育成原球茎;它还可以大大地加快个体发生和形态建成的速度;<sup>[7]</sup>并提高种子的萌发率<sup>[5]</sup>。

就目前而言,应用于兰花组培中的外源激素主要有 2,4-D,6-BA 和 NAA 等几种。这几种激素与不同的培养基配合,以及不同的浓度和不同的激素组合,所起的作用是不同的。同时,对不同的兰花品种来说,其

生长发育各阶段所需的激素也是不同的。一般说来,浓度较高的 NAA 对诱导原球茎有较好的效果;<sup>[7]</sup>6-BA/NAA = 2ppm/0.2ppm 对茎芽分化有利;<sup>[10]</sup>而对原球茎的增殖来说,可以不用激素或用浓度较低的激素即可;6-BA/NAA = 1ppm/0.1ppm 对花芽分化有利;<sup>[10]</sup>而 NAA 215ppm 对诱导根效果较好;2,4-D 还可以促进愈伤组织的形成。

总之,兰花的组培是一个非常完整而复杂的技术体系,现将这种快繁体系图示如下:

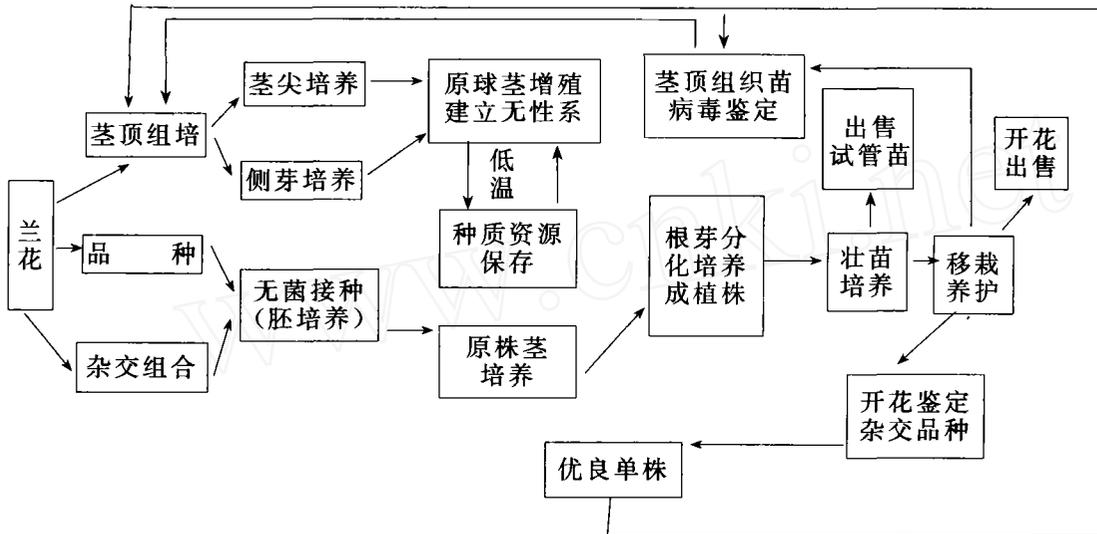


图 3 兰花快繁体系图示<sup>[11]</sup>

### 3. 讨论与展望

纵观人们对兰花育种工作所进行的研究可以发现,目前在该领域中多集中于组织培养及激素在组培中的应用的研究上,而且研究已进入到细胞学水平,正向分子生物学水平迈进。值得注意的是,在兰花个体发育过程中,根状茎是一个很重要的阶段。兰花大多由根状茎上发芽,生根形成植株;而假鳞茎可以抽生根状茎,<sup>[9]</sup>故可以研究假鳞茎大量抽生根状茎的条件,并且直接利用抽生的根状茎进行组培,以简化组培的程序和设备,是兰花工厂化生产的一条捷径。

兰花种子不易萌发,生长发育缓慢,其主要原因就是缺少共生真菌,而目前对兰花根菌的研究工作进展缓慢,深入研究兰花共生菌根及应用是今后的一个重要课题。

中国兰花要想走向世界,特别是占领城市阳台,必须立足育种。选育大花、绚丽、幽香、抗逆的品种。而植物的种间杂交结合染色体加倍,乃是自然演化的重要途径之一。花卉中凡大花、色艳者常为多倍体,而中国兰多是二倍体。因此,以组培为主要手段,开展中国兰的多途径综合育种,尤其是开展种

(下转第 28 页)

1. 郁金香需要低温处理才能使郁金香在开花前长到一定的高度,并在预定的时间内开花。

2. 利用本地冬春季发展郁金香生产也有一定的发展前景,但必须做到认真筛选品种,

设法降低种球成本和提高栽培技术。

3. 降低种球成本的有效方法,就是实现种球生产来源的国产化,目前主要方法有:①是利用南北气候差异进行地域合作,②是利用本地高海拔山地气候进行试生产。

(上接第31页)

属间杂交结合染色体加倍而形成的异源四倍体(即双二倍体)具有十分诱人的前景<sup>[11]</sup>。

### 参 考 文 献

1. 段金玉,谢亚红 在无菌条件下,激素和种子处理对兰属十种植物种子萌发的影响 云南植物研究 1982,4(2):197-201
2. 谷祝平,颜廷进 大花蕙兰茎尖组织培养及其形态建成研究 实验生物学报 1989,22(2):149-155
3. 谷祝平,高金城等 大花蕙兰茎尖组织培养的扫描电镜研究 西北植物学报 1990,10(2):128-133
4. 卢思聪,薛秀玲 建兰与多花兰杂交胚培养中植物激素的应用 种子 1982,4(2)
5. 田梅生,王伏雄等 四季兰种子离体萌发及器官建成的研究 植物学报 1985,27(5):455-459
6. 王熊,陈季楚等 建兰和秋兰原球茎的发生及其无性系的建立 植物生理学报 1981,7(2):203-206
7. 王熊 地生兰个体发生途径研究 植物生理学报 1990,16(3):264-270
8. 吴汉珠,王续衍等 中国兰茎顶组织培养研究 园艺学报 1987,14(30):203-207
9. 王国兴 兰属植物茎的初探 园艺学报 1989,16(4):314-315
10. 王熊 兰花快速无性繁殖的研究及花芽分化的探讨 植物生理学报 1984,10(4):392-394
11. 谭文澄,戴策刚 观赏植物组织培养 中国林业出版社 1991:268-278