

GA 对大花蕙兰试管苗增殖的影响

宋常美^{1,2}, 何 劲², 乔 光², 胡 鹏², 文晓鹏²

(1. 贵阳学院生物与环境工程系, 贵州 贵阳 550005,
2. 贵州省农业生物工程重点实验室, 贵州 贵阳 550025)

摘 要: 对大花蕙兰的组织培养体系进行了研究。结果表明, 在 MS + 1.0mg/L BA + 0.4mg/L NAA 培养基中培养 25d 后可诱导侧芽萌发; 在 MS + 2.0 mg/L BA + 2.0 mg/L IBA + 1.0 mg/L GA 培养基上增殖效果最好, 增殖系数为 3.62; 当侧芽 3cm 左右时转入生根培养基 1/2MS + 1.0 mg/L IBA 上进行生根及壮苗培养。将组培苗移入上层覆盖着树皮的基质中, 移栽成活率达 85% 左右。

关键词: 赤霉素; 大花蕙兰; 组培苗; 增殖

中图分类号: Q 949.71*8.43 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6125(2008)02-0023-03

Affection of GA on Propagation Efficiency of in Vitro Plant of *Cymbidium Grandiflorum*

SONG Chang-mei, HE Jing, QIAO Guang, HU Peng, WEN Xiao-peng

(1. Guiyang College, Guiyang Guizhou 550005, China; 2. Guizhou Key Laboratory of Agricultural Bioengineering, Guizhou Guiyang 550025, China)

Abstract: Research on the establishment of in Vitro culture technology for *Cymbidium grandiflorum* is given in this article. The excised lateral buds begin to sprout on Murashige and Skoog (MS) basal medium containing 1.0mg/L 6-benzyladenine (BA) and 0.4mg/L naphthalene acetic acid (NAA) after 25 days in culture; Axenic explants on MS medium with 2.0mg/L BA, 2.0mg/L NAA and 1.0 mg/L GA for propagation produce the highest propagation factor which is 3.62. The regenerated shoots of 3cm long are rooted and cultured in MS basal medium with 1.0mg/L 3-indole butyric acid (IBA). The axenic plants are transplanted to the base material covered with casca. The survival rate was about 85% for in vitro plant after transplantation.

Key words: GA; *Cymbidium grandiflorum*; in Vitro plant; propagation efficiency

收稿日期: 2008-03-09

作者简介: 宋常美(1981-), 女, 贵州遵义人, 贵阳学院生物与环境工程系助教, 植物学硕士; 文晓鹏(1965-), 男, 四川人, 贵州省农业生物工程重点实验室教授, 博士生导师。

0 大花蕙兰 (*Cymbidium granflorum*) 是兰科兰属植物中一部分大花型附生种类的杂交种, 又称西姆比兰、虎头兰, 具有极高的观赏价值, 是世界上栽培比较普及的洋兰之一, 享有“兰花皇后”的美誉^[1]。由原产于喜马拉雅山、印度、缅甸、泰国等地蕙兰的大型花原种以及以它们为基础杂交而得的品种, 具有植株强健, 花大花多, 花色艳丽, 花期长等优点^[2]。特别是四倍体植株, 花大而优美, 花瓣肥厚, 花色丰富, 花期长, 且具有较强的耐寒性。大花蕙兰经过 100 多年不断的杂交选育, 目前已在英国皇家园艺学会国际兰花品种登录委员会登记注册 1 1300 多个品种^[3]。自然状态下, 大花蕙兰种子萌发率极低, 仅为 5% 左右^[4], 所以其传统的繁殖方式是分株繁殖, 但繁殖系数低。随着组织培养技术的发展, 可以使大花蕙兰的繁殖系数得到大大的提高, 解决市场的需求, 获得较高的经济效益。目前, 我省花卉生产正朝着产业化的方向发展, 大花蕙兰组织培养的工厂化育苗研究工作正在进行中。本研究对大花蕙兰的组织培养快速繁殖技术进行了初步研究, 为大花蕙兰的工厂化育苗提供技术依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为贵阳市场购买栽培的大花蕙兰, 以其侧芽为外植体。

1.2 方法

取大花蕙兰整株在自来水下冲洗泥土至水清, 取其侧芽用洗洁精漂洗干净, 然后用清水冲洗, 转至超净工作台上用 70% 酒精浸泡 30s 后, 再用 0.1% 升汞灭菌 10min, 接着用无菌水清洗 5 次, 最后切除药液接触过的切口, 将外植体接种在 MS + 1.0mg/L BA + 0.4mg/L NAA 培养基中诱导萌发, 随后转入增殖培养基中继代增殖。增殖培养基共设置 6 个处理 (表 1), 每处理均接种 5

株, 重复 5 次。将生长良好的苗转入生根培养基 1/2MS + 0.5mg/L IBA 中诱导生根, 同时进行壮苗培养。最后将组培苗移栽于上层铺有树皮的基质中 (泥土: 珍珠岩 = 5: 1), 首先在光照培养箱中炼苗 30 天, 随后放置于室内炼苗 15d, 最后定植于大田。

生根培养基附加 20mg/L 蔗糖, 其余培养基附加 30mg/L 蔗糖, 所有培养基均附加 7g/L 琼脂, pH 均为 5.85。培养条件均如下: 温度 $25 \pm 2^\circ\text{C}$, 光强 $33 \mu\text{mol}/\text{m}^2 \cdot \text{s}$, 光照 14 h/d。

污染率 15d 后统计数据, 褐化率及萌发率接种 30d 后统计数据, 增殖系数及成活率在 60d 后统计数据, 其中: 污染率 = 污染数/原接种数 $\times 100$; 萌芽率 = 萌芽数/原接种数 $\times 100$; 褐化率 = 褐化数/原接种数 $\times 100$; 增殖系数 = 培养后的芽数/原接种数; 成活率 = 移栽成活数/原移栽数 $\times 100$ 。用 DPS 数据分析软件进行数据处理。

2 结果

2.1 无菌试管苗的建立

大花蕙兰侧芽作为接种外植体, 15d 后的统计结果表明污染率为 33.2%, 30d 后的统计结果显示褐化率为 18.5%, 萌芽率为 48.3%。外植体在接种 25d 后陆续萌发 (图 1A)。

2.2 试管苗的增殖

生长调节物质浓度对试管苗的增殖具有重要影响。由表 1 可见, 大花蕙兰试管苗在不同培养基中的增殖效果存在显著差异。使用相同浓度的 BA 和 IBA, GA 浓度有极其重要的影响, 试管苗在处理 1 中增殖系数最低, 几乎没有发生侧芽的分化, 且侧芽生长量小; 在处理 3 中试管苗增殖系数最高, 达 3.62 ± 0.28 , 侧芽多且生长好, 植株相对高大; 处理 2、6 比处理 3 相对较差, 但比处理 1、5 好。因此, 在使用 2.0mg/L BA + 2.0mg/L IBA 的情况下, GA 使用的浓度在 1.0mg/L 左右。(图 1B)

表1 GA 浓度对大花蕙兰试管苗增殖的影响

Tab. 1 Effect of GA concentrations on propagation efficiency of in vitro plant of *Cymbidium grandiflorum*

处理号	生长调节物质(mg/L) PGRs (mg/L)	接种数 Number	增殖系数 Propagation ratio	生长状况 Vigour
1	NAA2.0 + BA2.0	20	1.30 ± 0.29d	生长良好, 苗绿色、矮小
2	NAA2.0 + BA2.0 + GA0.5	20	2.04 ± 0.56c	生长良好, 苗浓绿色、矮小
3	NAA2.0 + BA2.0 + GA1.0	20	3.62 ± 0.28a	生长好, 苗浓绿色, 高大强壮
4	NAA2.0 + BA2.0 + GA1.5	20	3.10 ± 0.30b	生长好, 苗浓绿色, 高大强壮
5	NAA2.0 + BA2.0 + GA2.0	20	2.36 ± 0.30c	生长良好, 苗浓绿色, 较高
6	NAA2.0 + BA2.0 + GA1.0 +0.3% 活性炭	20	3.24 ± 0.30ab	生长良好, 苗浓绿色, 较高

注: 同列内相同字母表示经邓肯氏多重极差检验在 0.05 水平上差异不显著。

Note: Same letters within column are insignificant by Duncan's multiple range test at $P=0.05$

2.3 试管苗的生根

将生长良好的试管苗接种到 1/2MS + 1.0mg/L IBA + 2% 蔗糖的生根培养基上培养 20d 后陆续有乳白色根产生, 40d 后数量增加, 每株约有 4 棵左右, 长约 2cm 的乳白色肉质根(图 1C)。生根率可达 90% 以上。

2.4 试管苗的移栽

将具有 3-4 条 2cm 左右长的根的组培苗进行移栽。移栽前将瓶口揭开放置在光照培养箱中炼苗 3d 后取出洗净附着在根上的培养基, 然后移栽到已灭菌的基质中, 置于光照培养箱中培养 30d, 随后置于室内培养 15d, 最后将植株连基质一起移至大棚, 移栽 30d 左右有新根及侧芽形成, 成活率达 85% 左右。(图 1D)

3 讨论

研究表明, GA 的浓度对贵阳栽培的大花蕙兰组培苗的增殖具有重要影响。这可能与 GA 的生理作用有关。虽然材料采取的是贵阳栽培的材料, 但因同科同属植物的生长条件相近, 也许本研究的结论对其它地方的大花蕙兰具有相同的效果。

植物组织培养过程中常常发生褐化的现象, 本研究中也发现褐化现象, 因此加入少量活性炭防止褐化产生。但在相同生长调节物质浓度下, 加入活性炭后的增殖情况不如不加活性炭好, 也许因为活性炭对生长

调节物质具有吸附的原因。

本研究中还发现, 在培养过程中培养基变为红色, 颜色由深变浅, 可能是大花蕙兰的次生代谢物质。培养基颜色越红, 大花蕙兰生长越好, 这与张瑜等^[5]的研究结果相反。这一现象还有待研究。

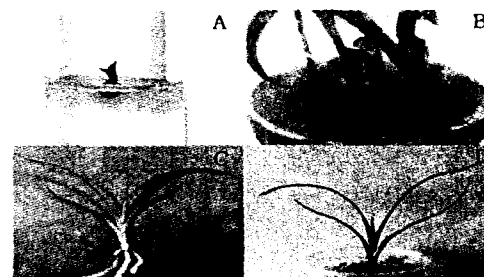


图1 大花蕙兰组培图片

Fig. 1 Pictures of culture cymbidium grandiflorum

参考文献:

- [1] 松 华. 大花蕙兰史略[J]. 花卉, 1995, 53(1): 14.
- [2] 熊 丽, 吴丽芳. 观赏花卉的组织培养与大规模生产[M]. 北京: 化学工业出版社, 2002: 127 - 128.
- [3] 张彩玲. 大花蕙兰组织培养与快繁技术的研究[J]. 中国林副特产, 2006, 6(85): 13 - 15.
- [4] 陈菁瑛, 蓝贺胜. 兰花组织培养与快速繁殖技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 2004: 82 - 84.
- [5] 张 瑜, 付艳, 殷奎德. 大花蕙兰的组织培养和次生代谢物质的调控[J]. 农业生物技术科学, 2006, 22(9): 56 - 58.