

不同因素对蝴蝶兰无性系组培苗增殖系数的影响

曹君迈¹,王 薇¹,任 贤¹,陈彦云²,任玉峰¹

(1. 西北第二民族学院生命科学系, 宁夏银川 750021; 2. 宁夏大学生命科学学院, 银川, 750021)

摘 要:采用不同因素处理蝴蝶兰无性系组培苗, 探讨其适宜增殖培养的最佳条件, 达到快速繁殖之目的。结果表明: 适宜的光照条件为 12 h、温度为 22~28 ℃、适宜的接种密度 6~8 株/35 mL 培养基、增殖培养基为: MS+BA 5 mg/L+NAA 0.5 mg/L+Ad 5 mg/L+Vc 4 mg/L, 增殖系数达 4 倍以上。

关键词:蝴蝶兰; 不同因素; 增殖系数

中图分类号: S682.31 **文献标识码:** B **文章编号:** 1001-0009(2006)05-0152-02

蝴蝶兰是洋兰的一种, 具岁寒三友特点于一身^[1], 花形如蝴蝶, 花期 3~4 个月, 观赏价值极高, 是名贵的盆栽花卉之一, 倍受消费者的喜爱, 有着广阔的市场前景。国外从 20 世纪 60 年代开始进行蝴蝶兰的组织培养研究, 最终实现了原球茎继代培养的工厂化生产。国内对蝴蝶兰组织培养的研究始于 20 世纪 80 年代末。目前广东、福建、上海、北京等城市进行了蝴蝶兰组培快繁, 由于经济效益高, 许多单位对研究结果常秘而不宣, 在一定意义上阻碍了兰花产业的发展^[2]。虽然对蝴蝶兰组织培养研究已有很多报道, 但在蝴蝶兰组培快繁中还存在许多问题, 如: 快繁效果不理想^[3], 对此我们进行了有关方面的研究, 以供利用无性系进行快繁的生产单位借鉴, 同时为快繁生产奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验材料 西北二民院自育无性系组培苗。

1.1.2 试剂 试剂均为分析纯, 植物激素均购于 SIGMA 公司。

1.1.3 培养基及试验设计 基本培养基为 MS, 设 5 种处理: 1、BA5+NAA0.5+KT1+Vc5+活性炭; 2、BA5+NAA0.5+Ad5+Vc4; 3、BA4+NAA0.05+KT1; 4、BA5+NAA0.5+Ad5+2,4-D0.2; 5、BA5+NAA0.5+Ad5+2,4-D0.5。两个因素: 大苗, 3~4 片叶, 苗高 > 2 cm; 小苗, ≤2 片叶, 苗高 ≤2 cm。不同激素组合单位均为: mg/L。活性炭 0.5 g/L。

1.2 方法

1.2.1 接种 将无性系组培苗分成大苗(苗高 > 2 cm)和小苗(苗高 ≤2 cm), 分别接种在上述 5 种不同处理的培养基上,

每瓶接 8 株。

1.2.2 培养条件 光照强度 2 000 Lx, pH=5.8, 琼脂 6.5 g/L。蔗糖 20 g/L, 马铃薯浸提液 100 ml/L。每瓶加入 35 ml 培养基。

1.2.3 结果计算 增殖系数 = 出苗总株数/接种株数

2 结果与分析

2.1 不同激素组合对兰花不同苗龄增殖系数的影响

将不同苗龄的外植体接种在表 1 的各种培养基上, 每处理按 50 瓶统计。由表 1 可见: 从不同苗龄来看: 2 叶以下, 苗高 ≤2 cm 的小苗比 3~4 片叶, 苗高 > 2 cm 的大苗平均增殖系数高 0.44; 从不同激素组合看: 无论是大苗, 还是小苗, 增殖系数 2 号处理最高; 从加有 2,4-D 的 4 号和 5 号处理看出, 增殖系数最低, 大苗比小苗表现更为突出, 说明 2,4-D 对蝴蝶兰无性系的增殖是不利的, 试验结果表明: 采用 2 叶, 苗高 ≤2 cm 以下的小苗, 在 2 号培养基中增殖效果较为理想。

表 1 不同激素组合对兰花不同苗龄增殖系数的影响

激素处理组合	苗龄	接种株数(株)	增殖株数(株)	增殖系数	平均
1	3~4 片叶,	400	1 420	3.55	
2	苗高 > 2 cm	400	1560	3.9	3.27
3	400	1 356	3.39		
4	400	1 200	3		
5	400	1 000	2.5		
1	2 叶以下	400	1 456	3.64	3.71
2	苗高 ≤ 2 cm	400	1 644	4.11	
3	400	1 432	3.58		
4	400	1 544	3.86		
5	400	1 344	3.36		

2.2 不同栽植密度对兰花增殖系数的影响

表 2 不同接种密度对增殖系数的影响

接种密度(株/瓶)	接种株数(株)	增殖株数(株)	增殖系数
2	160	416	2.6
4	320	928	2.9
6	480	2 198	4.58
8	640	2 650	4.14
10	800	2 752	3.44

将密度试验的材料均接于 2 号培养基上, 由表 2 看出: 不



第一作者简介: 曹君迈, 女, 1964 年生, 副教授, 西北第二民族学院生命科学系任教, 从事细胞工程教学及科研工作, 先后承担国家和宁夏自治区科技攻关项目 6 项, 发表学术论文 10 余篇, 获轻工部和宁夏自治区省级二等奖各一项, 目前, 主持厅

局级项目 1 项, 参加国家林业局“948”项目和国家科技成果转化项目各一项。

* 基金项目: 西北第二民族学院基金项目(2005103)

收稿日期: 2006-03-10

不同因子对长春花突变愈伤组织生长和吲哚总碱积累的影响

聂莉莉¹, 朱晔荣¹, 李建华¹, 张秀省², 王 勇¹

(1. 南开大学生命科学学院, 天津 300071; 2. 山东聊城大学农学院, 252000)

摘 要:研究光照、pH、碳源及初始糖浓度、生长素和色氨酸等因子对长春花突变愈伤组织生长和吲哚总碱积累的影响。结果表明:对长春花突变愈伤组织生长和吲哚总碱积累有促进作用的因子是光培养、蔗糖、NAA、IAA 和色氨酸, 有抑制作用的是 2,4-D, pH 值的改变对吲哚总碱的积累没有显著影响; 2 mg/L 的 NAA 可使突变愈伤组织的生物产量最高, 1 mg/L NAA 和 1 mg/L IAA 共同作用有利于吲哚总碱积累; 加入 200 mg/L 的色氨酸对提高吲哚总碱的含量有促进作用。

关键词:长春花; 突变愈伤组织; 吲哚总碱

中图分类号:S682.1⁺5; S603.6 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2006)05-0153-03

长春碱(Vinblastine)和长春新碱(Vincristine)是两种广泛用于临床的抗癌药物, 化学结构属于吲哚生物碱, 目前取自长春花(*Catharanthus roseus*)植株。它们在植物体内含量很

低, 无法满足患者的需要, 价格也很昂贵^[1]。利用组织培养技术生产更多的抗癌药物或长春质碱等其他前体物质是人们多年来的迫切愿望, 筛选出适于组织培养的细胞株是热点研究

同处理中接种株数低于 4 棵时, 增殖系数低, 在 3 倍以下; 而接种株数在 6~8 棵时, 增殖系数在 4 倍以上; 接种株数增加到 10 棵时, 增殖系数开始降低。结果表明:在单位面积上过量或少量接种, 由于营养成分和激素水平都相应降低或升高, 影响了增殖效果。而且在适宜的接种密度下, 有利于兰花增殖系数的提高。在最佳激素组合中, 一般适宜的接种密度为 6~8 棵, 繁殖系数为 4.14~4.58 倍。

2.3 不同温度对兰花增殖系数的影响

在上述最佳培养基中, 在 12 h 光照条件下, 在 3 种温度条件下, 对接种后的增殖情况进行统计, 结果表明:温度过低时, 不利于蝴蝶兰增殖, 其原因可能是蝴蝶兰是热带植物, 生长发育所需要的温度较高, 低温影响生理活动的正常进行, 对无机离子的吸收不利, 致使细胞增殖分化速度受到抑制; 温度在 22~28 ℃有利于无机离子的吸收, 加速了生命活动的进行, 有利于增殖; 温度在 30~32 ℃时对增殖有不利影响, 高温使呼吸作用加强, 代谢活动旺盛, 但由于其不是完整植株, 主动吸收养分的能力还未能建立, 所以, 环境过度恶化后, 使生长发育受到抑制或停止。在增殖时, 温度应控制在 20 ℃以上, 30 ℃以下, 可提高增殖系数。从生理角度来看, 温度不仅影响无机离子的吸收, 同时也影响 CO₂ 的吸收速率和呼吸作用, 最终表现出对蝴蝶兰增殖的影响, 因此温度是影响蝴蝶兰增殖的一个重要性因素。

表 3 不同温度对兰花增殖系数的影响

温度(℃)	接种株数(棵)	增殖株数(棵)	增殖系数
17~20	904	1 744	1.93
22~30	1 024	4 897	4.78
30~32	1 600	3 200	3.00

2.4 不同光照条件对兰花增殖系数及生长情况的影响

在温度为 25 ℃条件下, 采用 BA5 + NAA0.5 + Ad2 + Vc5 的培养基; 每瓶接 8 棵苗, 接种后在不同光照条件下培养, 结果见表 4。

表 4 不同光照条件对生长发育的影响

光照时间(h/d)	培养天数(d)	接种株数(棵)	增殖株数(棵)	增殖系数	苗色
0	50	160	368	2.30	黄
12	50	1 600	6 524	4.10	绿

由表 4 可知, 12 h/d 的光照比无光照条件下, 增殖系数高 1.8 倍, 在光照条件下形成绿色的分化苗, 而在无光照条件下形成黄化苗, 生长缓慢, 需从无光照条件转化成有光照的条件下再培养 30 d, 使其转化为绿苗后才能进行继代培养, 否则转接后导致死苗。在有光照条件下, 需要 50 d 就可转接一代, 而在无光照条件下需要 80 d 才能转接一代。由此可见, 光照对绿苗的形成及增殖是有利的。究其原因可能是:光照促进叶绿体的形成;光照对植物离体培养条件下养分吸收、形成及运输有促进作用;对生理活性物质的激活可能有积极的作用;促进了细胞增殖和器官分化发育的进程, 因此光照是影响增殖系数的另一要素。

3 结论

在植物的离体培养中, 个体增殖发育过程是一个全面的调节过程, 只有在综合因素的合理的搭配作用下, 才能达到最佳效果。本试验主要对激素组合, 离体种植下的密度、温度、光照时间等方面进行了详细的研究, 并量化了增殖因素的指标, 由此得出适宜兰花增殖的最佳条件:培养基为:MS + BA5mg/L + NAA0.5mg/L + Ad5mg/L + Vc4mg/L、适宜的接种密度 6~8 棵/35 ml 培养基、温度为 22~28 ℃、光照条件为 12 h, 增殖系数达 4 倍以上。

参考文献:

- [1] 周家琪. 花卉学[M]. 北京: 中国林业出版社, 1988, 585.
- [2] 朱至清. 植物细胞工程[M]. 北京: 化学工业出版社, 2003, 31-42.
- [3] 黄鑫, 陈创国. 蝴蝶兰组织培养与快速繁殖技术研究进展[C]. 植物组织培养与试管育苗. 北京: 中国农业出版社, 2004, 261-266.