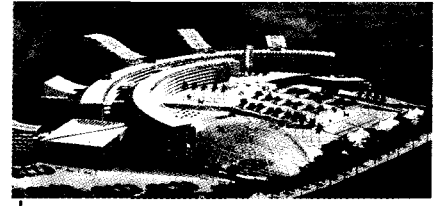
·工程技术·



Journal of Wuhan Institute of Technology

大花蕙兰快速繁殖技术的研究

鞠守勇，高小蛾，陈其国，李　莉，高广斌

（武汉职业技术学院 生物工程系，湖北 武汉 430074）

摘　要： 本文对大花蕙兰外植体消毒方式，原球茎增殖的培养基，大花蕙兰无根菌诱导生根培养基三个方面进行了系统的研究。结果表明：外植体在用加入1%Tween-60的1%HgCl2溶液消毒8分钟效果最明显，利于原球茎增殖的培养基为MS+6-BA 1.0mg/L+NAA 0.5 mg/L，增殖系数为3.97，最佳的生根培养基为MS + NAA0.2mg/l + GA1.0mg/l + 香蕉泥 150 g/L，生根率最高可以达到100%。

关键词： 大花蕙兰；快速繁殖；组织培养

中图分类号： Q94　**文献标识码：** A　**文章编号：** 1671-931X（2008）05-0059-03

大花蕙兰(Cymbidium faberi)，又称虎头兰、蝉兰，是一种具有很高观赏价值的气生兰，由一些原产于东南亚地区的兰属中的一些附生性较强的大花种和主要以这些原种为亲本获得的人工杂交种[1]。由于它们与蕙兰较相似而花絮硕大，故称为“大花蕙兰”[2]。大花蕙兰的植株优美、花朵硕大、色彩艳丽、花期长，因此深受人们的欢迎，被广泛用于切花、襟花的使用，是高尚富贵的象征，在市场上的需要量很大[6,7]。

由于大花蕙兰结实率很低且分株能力弱，繁殖速度缓慢，阻碍了大花蕙兰的规模化生产，远远不能满足商品化生产的需求，目前，我国市场上的大花蕙兰大都是一些园艺公司从日本、韩国等地以整盆的方式进口的，其价格十分昂贵[6]。采用组织培养的方法，可在较短的时间内提供大量的种苗，实现我国大花蕙兰的规模化生产，是大花蕙兰降低成本的最有前途的方法[2,7]。

一、材料与方法

1. 材料

大花蕙兰，购自武汉市花卉市场

2. 方法

取大花蕙兰幼嫩植株的茎段，用自来水冲洗干净，在超净工作台上用 70%的酒精浸泡 15 秒钟，0.1%的升汞溶液灭菌，无菌水冲洗 5 次，用无菌吸水纸吸干，切成 2mm 见方的薄片，设计 0.1%的升汞溶液和 0.1%的升汞溶液加入 1%Tween-60 中的对比试验，灭菌时间的 4 个水平分别为:2min、4min、6min、8min、10min。最后将外植体用无菌水冲洗 2～3 次后，在无菌条件下切取 0.5cm～1.5cm 茎段放入到诱导培养基中。每处理接种 10 瓶，每瓶接种 1 个外植体，重复 3 次。接种 30d 统计污染率、死亡率和存活率。

3. 培养基

原球茎的诱导培养基:MS+6-BA 1.0mg/L+NAA 0.1mg/L +AC 0.1g/L[3]

4. 培养条件

pH5.2~5.6，蔗糖 2%，琼脂 0.6%~0.85%，温度 22~25℃，光照强度 2 000 lx，每日光照 12 h[4,5].

二、结果与分析

1. 不同消毒方式对消毒效果的影响

随着灭菌时间的延长，大花蕙兰的污染率从 81.3%下降到 15.0%，灭菌时间的延长有效的制止了外植体污染的发生；但是，随着灭菌时间的延长，死亡率则从 0%上升到 12.4%，这可能是因为长时间的使用升汞使得外植体受到伤害，并导致死亡，灭菌时间延长到 10min 污染率从 81.3%下降到 15%后，存活率从 9.7%上升到 47.5%，存活率随着灭菌时间的延长而升高。

收稿日期: 2008-08-16

基金项目: 2008 年度湖北省教育厅科研计划项目(B 类项目)“大花蕙兰工厂化生产工艺的研究”(项目编号:B20085002/2008SK255)。

作者简介: 鞠守勇(1981-)，男，山东泰安人，武汉职业技术学院生物工程系助教，研究方向：植物组织培养、微生物；高小蛾(1966-)，女，湖北武汉人，武汉职业技术学院副教授，研究方向：细胞培养；陈其国(1973-)，男，河南信阳人，武汉职业技术学院副教授，研究方向：微生物；李莉(1967-)，女，湖北武汉人，武汉职业技术学院副教授，研究方向：微生物学；高广斌(1981-)，男，山东泰安人，武汉职业技术学院实验员，研究方向：细胞培养的研究。

表 1　不同消毒方式对大花蕙兰外植体消毒效果的影响

试验编号	灭菌时间（min）	污染率（%）	死亡率（%）	存活率（%）
1	2	81.3	0	9.7
2	4	70.7	2.7	10.3
3	6	53.1	7.7	25.6
4	8	36.6	8.4	34.8
5	10	15.0	12.4	47.5
1	2	68.1	0	17.6
2	4	47.6	4.7	34.3
3	6	41.3	5.0	39.7
4	8	13.9	10.3	57.2
5	10	10.8	15.9	60.6

A 表示 0.1 %的 HgCl2 溶液中不加 Tween-60
B 表示 0.1 %的 HgCl2 溶液中加入 Tween-60(1%)

通过 AB 两组的对比发现，在 0.1 %的 HgCl2 溶液加入 1%的 Tween-60 以后可以显著提高外植体消毒的效果，由表 1 得出外植体在用加入 1%Tween-60 的 HgCl2 溶液消毒 8 分钟效果最明显。

2. 原球茎的诱导

外植体接在 MS+6-BA 1.0mg/L+NAA 0.1mg/L +AC 0.1g/L[3]培养基上，20 d 左右发现接种材料开始膨大，35 d 左右外植体周围开始出现许多白色、大小不一的颗粒状愈伤组织，继续培养则由白色逐渐转为绿色，即原球茎。

3. 原球茎增殖培养基的筛选

表 2　原球茎增殖培养基的筛选

增殖培养基	增殖系数	增值生长情况
MS+6-BA 0.5mg/L+NAA 0.1 mg/L	1.94	+
MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L	2.36	+ +
MS+6-BA 2.0mg/L+NAA 0.1 mg/L	2.89	+ +
MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.5 mg/L	3.47	+ +
MS+6-BA 1.0mg/L+NAA 0.5 mg/L	3.97	+ + +
MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L	3.67	+ + +

将诱导出的原球茎切割后接种到增殖培养基上，20d 左右即可长出白色颗粒状愈伤组织，30d 时愈伤组织转绿形成原球茎。一般在 40d 左右就有少许可见芽点出现，到 6d 时，增殖系数基本稳定。不同的基本培养基对大花蕙兰原球茎增殖、分化的影响不同。本实验设计了在 MS 培养基中加入不同浓度 6-BA 和 NAA 双因素试验，以增值系数和增值生长情况为衡量指标。研究对大花蕙兰原球茎增殖情况的影响，发现原球茎增殖培养基最佳培养基是 MS+6-BA1.0mg/L+NAA 0.5 mg/L。

4. 大花蕙兰无根菌诱导生根培养基的筛选

表 3　大花蕙兰无根菌诱导生根培养基的筛选

生根培养基	生根率（%）	生根的质量
MS + NAA0.1mg/l + GA0.5mg/l	83.6	+
MS + NAA0.2mg/l + GA0.5mg/l	83.1	+
MS + NAA0.1mg/l + GA1.0mg/l	91.6	+
MS + NAA0.2mg/l + GA1.0mg/l	95.6	+
MS + NAA0.1mg/l + GA0.5mg/l + 香蕉泥150 g/L	91.9	+ +
MS + NAA0.2mg/l + GA0.5mg/l + 香蕉泥150 g/L	93.5	+ +
MS + NAA0.1mg/l + GA1.0mg/l + 香蕉泥150 g/L	98.6	+ + +
MS + NAA0.2mg/l + GA1.0mg/l + 香蕉泥150 g/L	100	+ + +

大花蕙兰幼苗在接种 10d 后下部叶腋处膨大，个别已出现绿色突起，出现根原基，20d 后根长、根数增加，45d 后生根率基本稳定，根和苗的继续伸长生长。通过表 3 发现 MS 培养基中添加不同浓度的 NAA 和 GA，发现生根率变化不大；在培养基中加入香蕉泥可以显出提高生根情况和提高生根的质量。

原球茎诱导生根最佳培养基是 MS + NAA0.2mg/L + GA1.0mg/L + 香蕉泥 150 g/L。

三、讨论

1. 通过实验比较发现外植体灭菌中，在 0.1 %的 HgCl2 溶液中加入 1%Tween-60 可以显著提高灭菌的效果，国内很少有文献报道[14]此现象。通过污染率，死亡率，存活率的对比得到加入 Tween-60 的 HgCl2 溶液消毒 8 分钟效果最明显。

2. 通过试验比较，培养基 MS+6-BA1.0mg/L+NAA 0.5 mg/L 对大花蕙兰原球茎增殖较好；培养基中添加香蕉泥对大花蕙兰生根有明显的促进作用[6,8,9]，本实验中也发现了类似的现象，可能是香蕉泥中还有许多有机质和天然激素能使大花蕙兰在适宜的酸性条件下生长；通过实验比较发现 MS + NAA0.2mg/L + GA1.0mg/L + 香蕉泥 150 g/L 对其壮苗生根较合适。

参考文献：

[1] 曹孜义，刘国民. 实用植物组织培养技术教程[M]. 兰州：甘肃科学技术出版社，1996.170-177.

[2] 谭文澄，戴策刚. 观赏植物组织培养技术[M]. 北京：中国林业出版社，1997. 237-239.

[3] 梁新安，杨录军，王慧瑜 等 大花蕙兰高频再生体系的建立[J]. 河南农业科学，2006，(10):85-87

[4] 张伟，刘宏敏，杨宛玉 等. 大花蕙兰组织培养高频植株再生体系研究[J]. 陕西农业科学，2008，(01)：46-47

[5] 陈昌铭，周辉明，罗志花 等. 大花蕙兰的种苗快速繁殖和栽培技术[J]. 三明农业科技，2008，(01)：18-19

[6] 王秋洁. 大花蕙兰组织培养生产流程及降低成本的研究[D]. 北京：北京林业大学，2007.

[7] 蒋达钜. 大花蕙兰组织培养工厂化技术试验与示范推广[D]. 南京： 南京农业大学，2004.

[8] 徐宏英,赵玉明,谢海军,等.大花蕙兰组培快繁影响因素分析[J]. 园艺学报,2002,29(2):183-185.
[9] 杨玉珍,孙天洲,孙廷,等.大花蕙兰组织培养和快速繁殖技术研究[J]. 北京林业大学学报,2002,24(2):86-88.
[10] 徐大成,刘晓砚,曹伟,等. 几种植物生长调节物质对大花蕙兰组培原球茎增殖的影响[J]. 植物研究,2004,24(1):76-79.

[责任编辑: 刘 骋]

Study on Rapid Multiplication Techniques for Cymbidium Hybridism

JU Shou-yong, GAO Xiao-e, CHEN Qi-guo, LI Li, GAO Guang-bin
(Wuhan Institute of Technology, Wuhan430074, China)

Abstract: In this paper, several crucial technical questions on the multiplication of Cymbidium Hybridism have been studied, including the method of disinfection ,the best culture medium for multiplication of protocorm like-body (PLB),and the medium of rooting. The results are as follows: 1%HgCl2 solution with added 1%Tween-60 which has been treated for 8 minutes is most suitable for explants disinfection; The best medium for the propagation of PLB is MS +6 -BA 1.0mg/L +NAA 0.5 mg/L, the propagation coefficient is 3.97, MS +NAA0.2mg/l +GA1.0mg/l + banana mud150g/L is better for the plantlet growth and rooting, and 100%of plantlets rooted well.

Key words: Cymbidium hybridism; rapid multiplication, tissue culture

(上接第 45 页)

参考文献:
[1] 赵钎,宋翼东. 现代企业管理[M]. 北京:电子工业出版社,2008.
[2] 楼忠福. 强化企业社会责任推进和谐社会建设[N]. 经济日报,2006-12-12.
[3] 郭玲. "中国CEO眼中的企业社会责任"调查结果不如人意[EB/OL]. http://www.rmzxb.com.cn/jjsh/myjj/t20071109_164573.htm.
[4] 赵晓勇. 和谐社会呼唤企业社会责任[N]. 湖北日报,2007-02-27.
[5] 童希举,陈卫民. 论构建和谐社会进程中企业社会责任的强化[J]. 江西社会科学,2006,(11).
[6] 顾功耘,王丹. 略论现代企业的社会责任[J]. 上海商业,2005,(3).

[责任编辑: 孔康伟]

Judgment on Enterprises' Social Responsibility and Countermeasures for Improvement

XIONG Xiao-xia
(School of Economics and Management , Ezhou University,Ezhou436000,China)

Abstract: The question on enterprises' fulfillment of their social responsibility has been widespread. The accidents taking place recently show a serious absence of social responsibility from enterprises. The article makes judgments on enterprises fulfillment of their social responsibilities and analyzes the cause of their absence. On the basis of the analysis mentioned above, it proposes several measures to urge enterprises to take their social responsibility.

Key words: enterprise; social responsibility; present situation; measure