

大花蕙兰组织培养与快繁技术

王晓炜¹, 米立刚², 朱小虎¹ (1. 新疆农业大学林学院, 新疆乌鲁木齐 830052; 2. 新疆克拉玛依市农科所, 新疆克拉玛依 834000)

摘要 [目的]研究大花蕙兰组织培养与快繁技术, 寻求最佳培养基。[方法]以大花蕙兰的原球茎为接种材料, 以 MS 为基本培养基, 设计不同生长调节物质浓度的组合、不同激素配比, 探讨了不同培养基对大花蕙兰原球茎增殖、诱导芽及生根的影响和不同激素对比对形成根的影响。[结果]大花蕙兰组织培养原球茎增殖以 MS + 0.1 mg/L NAA + 2.0 mg/L 6-BA 培养基配方最好; 适合大花蕙兰组织培养原球茎诱导分化的培养基配方为 MS + 1.5 mg/L 6-BA + 0.3 mg/L NAA, 诱导出芽率可达 130%; 适合大花蕙兰诱导生根的培养基配方为 1/2 MS + 0.2 mg/L NAA + 1.0 mg/L 6-BA, 试管苗移栽后成活率为 78%。[结论]6-BA 浓度的增加, 可明显提高原球茎的增殖, 高浓度 6-BA 与低浓度 NAA 的配比较适合大花蕙兰的原球茎增殖; 6-BA 在 1.5 mg/L 时最有利于原球茎的诱导分化。

关键词 大花蕙兰; 原球茎; 组织培养; 增殖

中图分类号 Q943.1 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2007)33-10693-02

Tissue Culture and Rapid Propagation Technologies of *Cymbidium grandiflorum*

WANG Xiao-wei et al (College of Forestry, Xinjiang Agricultural University, Urumqi, Xinjiang 830052)

Abstract [Objective] The research aimed to study the tissue culture and rapid propagation technique of *Cymbidium grandiflorum* and seek the optimum medium. [Method] With the protocorms of *C. grandiflorum* as inoculated materials and MS as basic medium, different combinations of growth regulating substances with different concentrations and different hormone proportions were designed to discuss the effects of different medium on the protocorm propagation, bud induction and rooting of *C. grandiflorum* and the effects of different hormone matching on the formation of roots. [Result] The optimum medium formula for protocorm propagation in tissue culture of *C. grandiflorum* was MS + 0.1 mg/L NAA + 2.0 mg/L 6-BA. The suitable medium for protocorm induction and differentiation in tissue culture of *C. grandiflorum* was MS + 1.5 mg/L 6-BA + 0.3 mg/L NAA with the bud-inducing rate up to 130%. The suitable medium for root induction was 1/2MS + 0.2 mg/L NAA + 1.0 mg/L 6-BA and the survival rate of in vitro plantlets after transplanting was 78%. [Conclusion] The increment of 6-BA concentration can increase the protocorm propagation obviously. And the matching of high concentration of 6-BA and low concentration of NAA is more suitable for the protocorm propagation of *C. grandiflorum*. 6-BA at the concentration of 1.5 mg/L was most favorable for protocorm induction and differentiation.

Key words *Cymbidium grandiflorum*; Protocorm; Tissue culture; Propagation

大花蕙兰(*Cymbidium grandiflorum*)是兰科(Orchidaceae)兰属中的一部分大花附生种类及其杂交种, 是世界上栽培最普及的洋兰之一, 享有“兰花皇后”的美誉^[1]。世界上首个大花蕙兰的人工杂交品种“韦奇”(Cymbidium vietchii), 是用原产于我国的碧玉兰(*C. lowianum*)作亲本于 1889 年在英国杂交而成功的^[2]。当今的大花蕙兰品种, 都是经一百余年多代杂交选育出的优良品种。花形规整, 花朵优美, 色彩艳丽丰富, 花茎直立挺拔, 深受兰花爱好者的欢迎, 有较大的市场潜力。大花蕙兰传统繁殖方式是分株繁殖, 繁殖系数低, 易引起退化, 新品种少。通过组织培养繁殖, 可大大提高繁殖率, 且生产的同一批苗易控制花期, 能较好地占有市场。因而, 加强对大花蕙兰的离体培养快速繁殖的技术研究, 对解决市场需求, 实现大花蕙兰的工厂化生产, 具有重要意义^[2]。

1 材料与方

1.1 材料 大花蕙兰原球茎采自乌鲁木齐县种苗场。

1.2 方法 试验以 MS 为基本培养基, 以不同的生长调节物质浓度组合为大花蕙兰原球茎诱导增殖的激素水平, 在试验中设计了 MS + NAA 0.1 mg/L + 6-BA 0.1 ~ 2.5 mg/L; 大花蕙兰原球茎诱导从生芽的激素水平, 试验中设计 MS + NAA 0.3 + 6-BA 0.1 ~ 2.5 mg/L; 使大花蕙兰壮苗生根的激素水平为 1/2MS + NAA 0.1 ~ 0.3 mg/L + 6-BA 0 ~ 1.0 mg/L。

调节以上各培养基 pH 值在 5.8 ~ 6.0, 并加 0.5% 的活性炭, 防止褐变, 培养室温度控制在 (25 ± 1) °C, 相对湿度 40%, 光照 12 h/d, 光照强度为 1 000 ~ 1 500 lx。

2 结果与分析

2.1 不同培养基对原球茎增殖的影响 将生长健壮的原球

茎切成直径 2 ~ 3 mm 的小块, 接种在以 MS 为基本培养基的 6 种培养基上, 每处理 6 瓶, 每瓶接种 5 个原球茎。通过观察, 原球茎在接种后培养的第 1 周内无明显变化。第 2 周后, A5、A4 陆续出现黄绿色小的瘤状愈伤组织即原球茎, 原球茎继续生长, 在其周围形成更多的原球茎, 之后各培养基又陆续生长出原球茎。从接种 30 d 后的调查结果看, 各培养基原球茎增殖有一定的差异。以 20 d 为一个继代周期^[3], 60 d 后统计结果(表 1)。

表 1 不同激素水平对原球茎增殖的影响

培养基 编号	激素浓度 // mg/L		原球茎生长情况
	6-BA	NAA	
A1	0.1	0.1	浅黄绿色, 直径 < 2 mm
A2	0.5	0.1	正常黄绿色, 直径约 2 mm
A3	1.0	0.1	正常黄绿色, 直径 2 ~ 3 mm
A4	1.5	0.1	正常黄绿色, 直径 2 ~ 3 mm
A5	2.0	0.1	正常绿色, 直径 > 4 mm
A6	2.5	0.1	正常绿色, 直径 > 3 mm

由表 1 可知, 6-BA 浓度的增加, 可明显提高原球茎的增殖。以 6-BA 2.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L 的组合生长状况最好。当 NAA 的用量为较高水平时, 反而抑制增殖, 生长也不好。说明高 6-BA 与低 NAA 的配比, 适合大花蕙兰的原球茎增殖^[4](图 1 a)。

2.2 不同培养基对大花蕙兰芽诱导分化的影响 将增殖的原球茎切成直径 2 ~ 3 mm 的均匀小块, 接种在不同的培养基上, 每处理接种 5 瓶, 每瓶接 6 块原球茎。20 d 后 B2、B3、B4 号培养基上陆续有芽形成, 30 d 后各培养基陆续有芽生成。从接种后 40 d 的调查结果看, 各培养基原球茎分化有了一定的差异, 其中 B4 号培养基上的原球茎出芽数最多, 达 39 个, 诱导出芽率达 130.0%; 其次为 B3 号培养基, 诱导出芽率达 113.3%; 其他处理的诱导率相对较低。在 6-BA 0.1 ~ 1.5

作者简介 王晓炜(1969 -), 女, 陕西华县人, 实验师, 从事植物分类学研究。

收稿日期 2007-07-27

mg/L 范围内,随浓度的增加,诱导芽分化的能力越强,超过 1.5 mg/L 后,诱导能力下降。试验发现,6-BA 在 1.5 mg/L 时最有利于原球茎的诱导分化,说明细胞分裂素在其中占有主导作用,随细胞分裂素的升高和降低都会明显影响到原球茎的诱导分化。由此说明,NAA 为 0.3 mg/L,6-BA 浓度为 1.5 mg/L 的组合,对芽的分化和生长有利,诱导的芽发育成小苗生长健壮。所以,适合芽苗诱导的培养基配方为 MS + 6-BA 1.5 mg/L + NAA 0.3 mg/L,见表 2。(图 1b)

表 2 不同激素浓度对大花蕙兰芽诱导分化的影响

培养基编号	激素浓度//mg/L		接种个数/块	诱导芽数/块	诱导率/%	生长状况
	6-BA	NAA				
B1	0.1	0.3	30	12	40.0	幼苗生长缓慢,弱小
B2	0.5	0.3	30	21	70.0	幼苗较细弱,叶色淡绿,长势较弱
B3	1.0	0.3	30	34	113.3	幼苗较健壮,叶色淡绿,长势一般
B4	1.5	0.3	30	39	130.0	幼苗健壮,叶色深绿,有根产生,长势较好
B5	2.0	0.3	30	28	93.3	幼苗健壮,有大量原球茎形成
B6	2.5	0.3	30	23	70.7	幼苗生长缓慢,较健壮,叶色绿

2.3 不同激素对比对形成根的影响 为探寻大花蕙兰无根苗生根壮苗的合适培养基,设置 4 种不同的培养基(表 3)。将无根苗切割成单苗接种到 4 个不同的生根培养基上,每种培养基接种 20 株,重复 3 次,培养 60 d 后统计结果。

表 3 不同培养基对大花蕙兰生根的影响

培养基编号	激素浓度//mg/L		接种苗数//株	生根苗数//株	生根率/%
	6-BA	NAA			
C1	0.0	0.1	20	17	85
C2	1.0	0.1	20	16	80
C3	1.0	0.2	20	19	95
C4	1.0	0.3	20	14	70

据观察,接种后 20 d 左右各处理的瓶苗开始长根。接种后 60 d 调查结果(表 3)可知,培养基中添加不同的激素浓度,对促进组培苗根的生长有一定差异,在 1/2MS + 6-BA 1.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L 的激素浓度下,对壮苗生根有促进作用

用。由继代增殖培养结果可看出,小苗在培养基 C3 中已长出少量根系,苗生长也较为健壮,所以采用 C3 培养基继续培养,可使其壮苗生根。30 d 后苗长出 3~5 条健壮的根,植株同时长高长壮(图 1c、1d)。

2.4 试管苗的移栽 将培养有生根试管苗的瓶盖打开,在实验室通风处炼苗 2~3 d,再加入少量无菌水,继续炼苗 3~4 d,取出小苗用无菌水洗净根部培养基并用 0.1%KMnO₄ 消毒,移栽到经过消毒的煤渣、沙土、壤土三种不同的基质中,用塑料薄膜覆盖,每天喷雾 1 次,使湿度保持在 85% 左右,每天揭膜 1 次,7 d 后揭去薄膜,此后每隔 5 d 喷 20% 大量元素母液,60 d 后植株生长良好^[5],成活率为 78%。

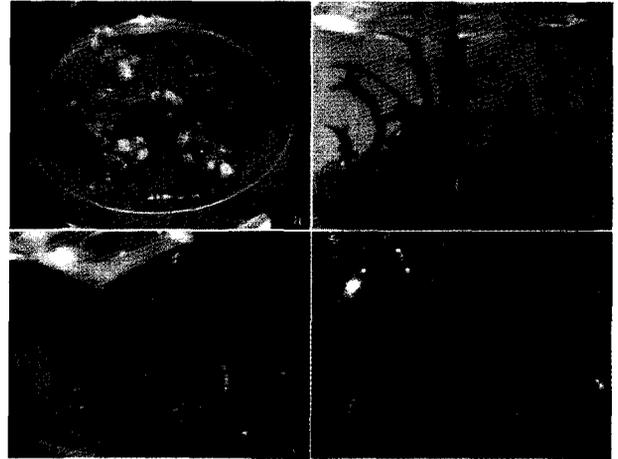


图 1 大花蕙兰组织培养过程

3 结论

大花蕙兰组织培养原球茎增殖以 MS + 0.1 mg/L NAA + 2.0 mg/L 6-BA 培养基配方最好;适合大花蕙兰组织培养原球茎诱导分化的培养基配方为 MS + 1.5 mg/L 6-BA + 0.3 mg/L NAA,诱导出芽率可达 130%;适合大花蕙兰诱导生根的培养基配方为 1/2 MS + 0.2 mg/L NAA + 1.0 mg/L 6-BA。

参考文献

- [1] 松华.大花蕙兰史略[J].花卉,1995,53(1):14.
- [2] 杨进,彭春雷.大花蕙兰组培快繁技术的研究[J].荆门职业技术学院学报,2001,20(3):17-21.
- [3] 吴晓霞,姜敦云,崔月花,等.大花蕙兰的组织培养和快速繁殖[J].植物生理学通讯,2002,38(4):141.
- [4] 谷祝平,颜廷进.大花蕙兰茎尖组织培养及其形态建成的研究[J].实验生物学报,1989,22(2):149.
- [5] 徐宏英,王芳,谢海军,等.大花蕙兰的组织培养和快速繁殖[J].植物生理学通讯,2001,37(6):534.

(上接第 10632 页)

津研 4 号和津优 1 号相对较弱,病情指数为 22.3 和 20.6。

3 小结

通过以上 7 个黄瓜品种的夏秋露地栽培比较试验,可得出津优 4 号、中农 8 号在产量方面与其他品种差异显著,说明这两个品种比较适合高海拔山区夏秋栽培,且其商品性和抗病性均较好,可在生产中大面积推广使用。津优 1 号、津

春 4 号、津育 4 号、新秀 4 个品种产量也较高,可考虑作为搭配品种进行栽培。

参考文献

- [1] 马德华,霍振荣,李淑菊,等.耐热黄瓜新品种津优 4 号的选育[J].中国蔬菜,2001(2):16-18.
- [2] 彭传生,李刚,王腾飞,等.延秋黄瓜品种比试验[J].长江蔬菜,2001(8):37.