维普资讯 http://www.cqvip.com

第21卷 第3期 河北林果研究 Vol.21 No.3
2006年9月 HEBEI JOURNAL OF FORESTRY AND ORCHARD RESEARCH Sep. 2006

文章编号:1007-4961(2006)03-0278-03

大花蕙兰组织培养的研究

王慧瑜,张晓申,杨录军,赵海红
(郑州市农林科学研究所 生物技术中心,河南 郑州 450005)

摘要:对大花蕙兰茎尖进行了组织培养研究。试验结果表明:原球茎诱导、增殖和生根培养基分别是 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L+香蕉汁 100 g/L+活性炭 0.5 g/L,MS+6-BA 1.5 mg/L+NAA 0.5 mg/L+香蕉汁 130 g/L+活性炭 1.0 g/L,1/2 MS+6-BA 0.1 mg/LAA 0.5 mg/L+香蕉汁 150 g/L+活性炭 1.5 g/L。

关键词:大花蕙兰;组织培养;原球茎
中图分类号:S 682.31 **文献标识码**:A

Studies on tissue culture of *Cymbidum*

WANG Hui-yu, ZHANG Xiao-shen, YANG Lu-jun, ZHAO Hai-hong
(*Research Center of Biotechnology, Zhengzhou Institute of Agriculture Science, Zhengzhou* 450005, *China*)

Abstract: The tissue culture of *Cymbidum* were studied by using shoot-tip. The results showed that the explants cultured on MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L+banana 100 g/L+carbon 0.5 g/L, and MS+6-BA 1.5 mg/L+NAA 0.5 mg/L+banana 130 g/L+carbon 1.0 g/L, and 1/2 MS+6-BA 0.1 mg/L+NAA 0.5 mg/L+banana 150 g/L+carbon 1.5 g/L were suitable for inducing PLBs, multiplicating PLBs and rooting of microshoots, respectirely.

Key words: *Cymbidum*; tissue culture; protocorm-like-bodies(PLBs)

大花蕙兰(*Cymbidium* spp.)是兰科兰属中一部分大花附生种及其杂交种的统称,属复茎地生兰或半附生兰,原产地在喜马拉雅山脉及东南亚高山上,是世界五大重要商品兰花之一,也是近几年在我国花卉市场上流行的高档室内盆栽花卉,具有极高的观赏价值,株型高大雄伟,花大而多,色彩鲜艳。由于大花蕙兰多为杂交种,种子繁殖无法保持其品质特性,其结实率也相当低,分株能力弱,因而繁殖系数低,繁殖速度慢[1],远远不能满足商品化生产的需求,运用组织培养技术可进行工厂化生产[2,3]。为此,笔者于2003年1月至2005年8月进行了大花蕙兰"公主霓裳"组织培养的研究,建立快繁体系,可进行工厂化育苗。

1 材料与方法

1.1 外植体的消毒处理

大花蕙兰采自本所兰花园中"公主霓裳"品种,首先切取健康饱满 10~15 cm 长的芽,剥去外部叶片,用自来水洗净,用蒸馏水洗 3 次;然后在超净工作台上用 0.1% 的升汞消毒 3、5、8、10、12 min,无菌水冲洗 4~6 次。在无菌条件下,将 5 mm 大小的茎尖切下接在培养基 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L+香蕉汁 100 g/L+活性炭 0.5 g/L,每个培养瓶接一个茎尖,每处理 10 瓶,30 d 后观察原球茎的诱导情况。

1.2 不同激素配比对原球茎诱导的影响

选择细胞分裂素 6-BA 和生长素 NAA 不同浓度对原球茎诱导情况的观察,培养基均附加香蕉汁 100 g/L,活性炭 0.5 g/L,每处理接 10 瓶,每瓶接 1 个茎尖,培养 30 d,统计原球茎诱导率。

1.3 激素与添加物对增殖及幼苗分化的影响

设置 6-BA、NAA 和香蕉汁 3 个因子,3 水平,6-BA 水平 1、2、3 分别为 1.0 mg/L、1.5 mg/L、2.0 mg/L,NAA 水平 1、2、3 分别为 0.1 mg/L、0.3 mg/L、0.5 mg/L,香蕉汁水平 1、2、3 分别为 70 g/L、100 g/L、130 g/L。以上培养基均附加活性炭 1.0 g/L,每处理 10

收稿日期:2005-10-11
基金项目:河南省重点科技攻关项目(0423020700)。
作者简介:王慧瑜(1972-),女,陕西户县人,助理研究员,主要从事花卉和果树组织培养的研究。

维普资讯 http://www.cqvip.com

瓶,每瓶接10个原球茎,重复3次,培养40 d,调查增殖系数和幼苗分化数。

1.4 植物激素对幼苗生根的影响

将原球茎增殖及幼苗分化培养中高于2 cm的幼苗切出,转接到下列生根壮苗培养中:①1/2 MS+6-BA 0.1 mg/L+NAA 0.5 mg/L;②1/2 MS+6-BA 0.3 mg/L+NAA 0.5 mg/L;③1/2 MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.5 mg/L;④1/2 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L,每种培养基均附加香蕉汁150 g/L,活性炭1.5 g/L。每瓶接20个幼苗,每处理10瓶,30 d后统计生根率及生长情况。

1.5 驯化移栽

当试管苗高6~7 cm、有2~4片叶和3~4条根时,即在温室条件下移栽,洗净根部粘附的培养基,分别栽植于下列基质中:①南方树皮,②水草,③蛭石。各栽150株,浇透水,注意保湿保温,30 d后统计成活率,成活后进行合理管理。

1.6 培养条件

MS培养基白糖30 g/L,1/2 MS培养基白糖20 g/L,琼脂7.0 g/L,温度为24~26℃,光照强度1 000~1 800 lx,光照时间12~14 h/d。

2 结果与分析

2.1 不同杀菌时间对原球茎诱导的影响

由表1结果可知,初代培养物的污染率随消毒时间的延长而下降。从5 min到8 min,污染率急剧下降,消毒时间在10 min时,存活率最高,之后茎尖有被杀死的可能。故"公主霓裳"外植体用0.1%升汞消毒,时间以10 min为宜。

表1 不同杀菌时间对外植体的影响

Table 1 Effects of disinfection time on explants

杀菌时间/min Time of disinfection/min	污染率/% Rate of pollution/%	分化率/% Rate of differentiation/%	褐化率/% Rate of fruit browning/%
3	100	0	0
5	90	10	0
8	70	30	0
10	0	100	0
12	0	60	40

2.2 不同激素配比对原球茎诱导效果的影响

从表2可以看出,随着6-BA浓度的增大,原球诱导率逐步增高,在6-BA 1.0 mg/L时达到最大,6-BA浓度再增大,原球茎诱导率下降,NAA 0.1 mg/L有利于原球茎诱导,在培养基MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L+香蕉汁100 g/L+活性炭0.5 g/L原球茎诱导率达到90%,并且每个茎尖分化出5~7个原球茎。

表2 不同激素配比对原球茎诱导的影响

Table 2 Effects of different hormones on PLBs differentiation

6-BA mg/L	NAA mg/L	诱导率/% Induction rate/%	原球茎分化 Differentiation of PLBs
0.5	0.1	20	每个分化1~2个原球茎
1.0	0.1	90	每个分化5~7个原球茎
1.5	0.1	60	每个分化2~4个原球茎
1.5	0.5	30	每个分化1~2个原球茎

2.3 激素和添加物对原球茎增殖及幼苗分化

大花蕙兰原球茎在增殖的过程中有幼苗的分化,长时间不转接,会形成很多苗,因此增殖与幼苗分化同时进行。从表3正交试验可以看出,对平均增殖系数进行极差分析,从结果分析出对增殖影响最大的因素是6-BA,浓度为1.5 mg/L,其次是NAA,浓度最好为0.5 mg/L,最弱是香蕉汁,浓度为130 g/L,对幼苗分化影响和香蕉汁相当。综合考虑增殖系数和幼苗分化对下一代生根壮苗的影响,最适增殖及幼苗分化培养基是MS+6-BA 1.5 mg/L+NAA 0.5 mg/L+香蕉汁130 g/L+活性炭0.5 g/L。

表3 原球茎增殖及幼苗分化正交试验

Table 3 Orthogonal tests on PLBs multiplication and efficiency seeding induction

6-BA mg/L	NAA mg/L	香蕉汁 Banana g/L	平均增殖系数 Number of PLBs	平均幼苗分化数 Number of differentiation
1.0	0.1	70	5.2	9
1.0	0.3	100	6.5	14
1.0	0.5	130	5.9	12
1.5	0.1	100	10.7	18
1.5	0.3	130	11.2	25
1.5	0.5	70	8.7	12
2.0	0.1	130	10.1	18
2.0	0.3	70	9.4	14
2.0	0.5	100	7.8	13
K1	17.6	26.0	23.3	
K2	30.6	27.1	25.0	
K3	27.3	22.4	27.2	
极差	13.0	4.7	3.9	

2.4 不同激素对生根壮苗的影响

从表4可以看出,幼苗接在4种不同的生根培养基上均能生根,随着细胞分裂素6-BA浓度的增大,生根率逐渐降低,说明细胞分裂素对生根有一定的促进作用,但6-BA浓度加大引起增殖影响生根,培养基①生根率高,生根条数多,苗长得好。故生根壮苗最佳培养基是1/2 MS+6-BA 0.1 mg/L+NAA 0.5 mg/L+香蕉汁150 g/L+活性炭1.5 g/L。

维普资讯 http://www.cqvip.com

表4 不同激素对生根壮苗的影响

Table 4 Effects of different hormones on rooting and growth of shoots

培养基编号 No. medium	接种株数 Number of inoculatron	生根株数 Number of rooting	生根率/% Rate of rooting/%	平均根长/cm Length of roots/cm	苗的长势 Growth of shoots
①	200	198	99	>4	苗高,长势均等,较绿
②	200	150	75	2~3	中等高度,较绿
③	200	120	60	1~2	生长缓慢,浅绿
④	200	60	30	<1.5	生长极满慢,浅绿

2.5 驯化移栽

栽培基质对试管苗移栽成活率影响显著。其中以基质①中幼苗生长健壮,叶色嫩绿,成活率在90%以上,基质②和③成活率都在30%~40%,而且苗生长弱。因此,南方树皮是大花蕙兰"公主霓裳"试管苗最佳移栽基质。

3 小结与讨论

(1)大花蕙兰"公主霓裳"通过茎尖诱导原球茎进行组织培养,可以大大提高大花蕙兰的繁殖速率,并且出苗整齐,规格一致,对大花蕙兰进行工厂化育苗有指导意义,对大花蕙兰其它品种的组织培养有一定的借鉴意义。植物激素配比对大花蕙兰"公主霓裳"组织培养影响较大,需进一步研究。

(2)外植体最佳消毒时间是10 min,原球茎诱导培养基是MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L+香蕉汁100 g/L+活性炭0.5 g/L+白糖30 g/L;原球茎增殖及幼苗分化培养基是MS+6-BA 1.5 mg/L+NAA 0.5 mg/L+香蕉汁130 g/L+活性炭1.0 g/L+白糖30 g/L;生根壮苗培养基是MS+6-BA 0.1 mg/L+NAA 0.5 mg/L+香蕉汁150 g/L+活性炭1.5 g/L+白糖20 g/L;试管苗移栽基质为南方树皮,移栽成活率在90%以上。

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,1996.147-148.

[2] 黄学林.高等植物组织离体培养的形态建成及其调控[M].北京:科学出版社,1995.95-100.

[3] 谭文澄.观赏植物组织培养技术[M].北京:中国林业出版社,2001.237-238.

(编辑 杨华生)

(上接第277页)

高度低,匍匐茎和叶柄韧性好,修复能力强,植株经过践踏人为地使匍匐茎上的不定根与土壤接触,这样有利于新植株的形成和生长。践踏后叶片受到损坏,经过7 d后,又能恢复原状,表明蛇莓具有一定的耐践踏性。

2.5.7 抗病虫杂草性 蛇莓具有很强的侵占性,很容易形成单纯的地被植物群落,在成片的蛇莓中,很少能看到杂草。从2000年蛇莓在保定市动物园引种以来,没有发现病虫害。

2.6 园林用途

蛇莓为多年生双子叶植物,绿期长,生长较快,管理简便。以观叶为主,观花为辅,生长高度低,外观平整,覆盖度高,适宜作地被植物,可在林地、广场、路旁种植。蛇莓以其优良性状,简便养护,在园林绿地中有着广泛的应用前景。

3 结论

经过几年的试验研究,蛇莓作为园林绿化的地被植物具有以下几个特点:

(1)蛇莓植株低矮,有发达的匍匐茎,生长快,成坪时间较短,容易繁殖,草坪平整,覆盖率高。夏季生长旺盛,不形成草垫层,绿期长,既可观叶,又可观花、观果。

(2)蛇莓适应性广,在开阔地、林荫下、坡地、沟渠旁均能健壮生长,适于生态园林建设。

(3)抗逆性强,耐热耐寒,耐旱耐涝,喜光耐阴,较耐践踏。

(4)养护成本低,可以粗放管理,不需修剪,浇水次数少,病虫害少,几乎不需要打药。总之,蛇莓是一种较好的园林地被植物,特别是在林地、坡地、沟渠旁栽植绿化效果更佳。

参考文献:

[1] 北京林业大学园林系花卉教研组.花卉学[M].北京:中国林业出版社,2004.

[2] 中国科学院植物研究所.中国高等植物图鉴(第2册)[M].北京:中国科学出版社,1972.

[3] 薛红卫.蛇莓药理与临床研究进展[J].中国中医药信息杂志,2002,9(9):79-80.

(编辑 杨华生)