

大花蕙兰组织培养高频植株再生体系研究

张 伟,刘宏敏,杨宛玉,乔保健,张 明,李延龙

(河南省平顶山市农科所 农业生物技术实验室,河南 平顶山 467001)

提 要:用嫩根作外植体,建立了大花蕙兰的组织培养再生体系。外植体消毒过程中采用 70%酒精与 0.1% HgCl_2 配合消毒,以 70%酒精浸泡 30s,0.1% HgCl_2 消毒 15min 效果最好。MS 为基本培养基,类原球茎的诱导最佳培养基 6-BA2.0mg/l+NAA0.3mg/l,诱导率达 35%;而附加 6-BA2.0mg/l+NAA0.1mg/l 的培养基有利于芽的分化与增殖,培养 30d 左右,每个外植体分化形成的再生小植株数可达 15 个以上;并在 1/2MS+IBA0.5mg/l 的培养基中生根。

关键词:大花蕙兰;嫩根;组织培养

1 目的、材料与方法

大花蕙兰(*Cymbidium hybrida*),兰科兰属,又名东亚兰、虎头兰,蕙兰的一个品种。主要分布在我国西南部。多年生草本植物,假鳞茎粗大,叶 8—12 片,剑形,长 60—100cm。花茎从叶基腋生,直立;高 45—70cm,每茎 5—20 朵花。花大型,有白、粉、红、紫、黄、绿和各种过渡色或复合色,唇瓣通常杂有深色斑或点,花朵寿命长,花期 4 个月,株型及花朵有大、中、小不同类型。具有花多,花大,排列紧凑,花型规整,丰满,色泽艳丽,花茎挺直,花期长,生长健壮,适应力强,栽培管理容易等优点,在花市上很受青睐,具有很高的观赏价值,近年来很受大家的追捧。除了盆栽外,也是很好的切花品种^[1]。采用组织培养可使优良大花蕙兰进行快速繁殖,对品种改良和生产有极其重要的意义。

2006 年 3—6 月,自河南平顶山市贸易广场花卉中心处取大花蕙兰的新生嫩根。采取的嫩根,用洗涤液充分洗涤 5min,流水冲洗 30min,70%酒精消毒 30s,0.1%升汞浸泡 15min,再用无菌水冲洗 4—6 次。然后将消毒好的嫩根切割成 0.5—1.0cm,接种于固体培养基中。MS 为基本培养基,附加不同种类和浓度的植物生长调节剂(表 1),蔗糖 3%,琼脂 0.7%,pH5.6—5.8,温度 22—26℃,光照 1 000—1 500Lx,12h/d。

2 结果与分析

2.1 消毒方式对嫩根培养的影响

以嫩根为消毒对象进行离体培养。在消毒过

程中外植体单用 0.1%升汞消毒 10min,污染率 41%;配合 70%酒精消毒 30s,污染率降至 32%。而用 70%酒精消毒 30s,0.1%升汞消毒 20min 时,污染率只有 11%,但 7d 后表现出明显的消毒伤害,存活率小于 35%。用 70%酒精消毒 30s,再配合升汞消毒 15min 时,污染率为 20%,未出现明显伤害。综合以上,在考虑降低污染率和提高存活率的同时,以 70%酒精消毒 30s,0.1%升汞消毒 15min,对嫩根培养效果最好。

2.2 类原球茎的诱导增殖及芽分化

嫩根接种 20d 时开始萌动,45d 后出现绿色的类原球茎。在各培养基中 MS+6-BA2.0mg/l+NAA0.3mg/l 最早出现类原球茎,且诱导率较高,培养 80d 时形成深绿色类原球茎,增殖系数达 7—8,而在含有 6-BA1.0mg/l+NAA0.1mg/l 的 MS 培养基上诱导类原球茎比较困难。表 1 表明:在附加 6-BA 2.0mg/l 的培养基中,随着生长素 NAA 含量的增加,类原球茎的诱导率及增殖系数却并不成正比增加,这应该是嫩根本身含有的生长素影响类原球茎的诱导。同时表明低的 6-BA 或低的 NAA 对原球茎的诱导不理想。

当类原球茎直径达 1.0—1.5cm 时转至不同分化培养基上(表 2)蔗糖 3%,琼脂 0.7%,pH 5.6—5.8,温度 25—27℃,光照 1 500—2 000Lx,12—14h/d。15d 后陆续分化出芽,实验共设计了 6-BA 和 NAA 五个激素组合,研究了激素组合对大花蕙兰类原球茎分化培养的影响。结果发现以 MS+6-BA2.0mg/l+NAA0.1mg/l 的培养效果最好,其分化率最高,培养 30d 左右,平均每个外

植体分化出 15 个小芽,且芽势好,类原球茎同时 增长。

表 1 培养基对诱导类原球茎及增殖影响

培养基	6-BA (mg/l)	NAA (mg/l)	接种嫩根数	类原球茎块数	诱导率(%)	增殖系数
MS	1.0	0.1	60	5	8.3	2
MS	1.0	0.2	60	12	21.7	4
MS	2.0	0.1	60	11	18.3	3
MS	2.0	0.3	60	21	35.0	7
MS	2.0	0.5	60	17	28.3	5

表 2 大花蕙兰类原球茎在不同培养基中的分化率

培养基	6-BA(mg/l)	NAA (mg/l)	外植体数	出芽外植体数	总出芽数	平均每个外 植体出芽数
MS	1.0	0.1	36	13	85	6.5
MS	1.0	0.2	36	35	471	13.1
MS	2.0	0.1	36	36	559	15.5
MS	2.0	0.3	36	36	510	14.2
MS	2.0	0.5	36	31	455	12.4

2.3 生根培养及移栽

当分化增殖苗长至 2—3cm 高时,转入 1/2 MS+IBA0.5mg/l+椰汁 10%+活性炭 0.1% (pH5.6—5.8) 的生根壮苗培养基中培养条件同分化。15d 后可见明显生根,小苗增高。30d 小苗长至 5—6cm,2—4 片叶,根长 1cm 以上时,打开瓶口在室内炼苗 7d。洗净根部残留培养基,选用疏松,有机质丰富,保水,保湿性好的砂壤土并配以富含磷钾的有机肥为基质,进行移栽。栽后用塑料薄膜遮荫保湿,注意保持基质湿润和环境湿度。7d 一次营养液喷施小苗,15d 后揭掉薄膜,30d 后成活率可达 90% 以上。

3 讨论

目前,有用茎段和茎尖做快繁材料的,然而实际意义不如嫩根繁殖的好和快。大花蕙兰的组织培养多用茎尖,以嫩根为材料的少有报道^[2]。本实

验开始诱导类原球茎时比较困难,时间较长,需 1—2 个月,但一旦形成类原球茎后,就能不断分割继代培养,且增殖周期短,繁殖系数高。在诱导过程中,褐变死亡容易发生,应在培养基中添加褐变抑制剂抗坏血酸等并配合一定活性炭,有利于减轻褐变死亡^[3]。从分化过程可以看出,6-BA 或 NAA 两者浓度与比例合适时,外植体长势好,成芽率高;浓度较高,外植体表面布满的芽点多,但芽原基真正分化出芽的少,以致成芽率低,即使分化出芽后也易出现畸形叶;当浓度低时成芽率高,但总分化率较低,芽分化少。

参 考 文 献:

- [1] 范燕萍, 廖禹洲, 等. 迎春花卉[M]. 广州: 广东科技出版社, 2003.
- [2] 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(2): 141.
- [3] 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, 1991.

• 信息窗 •

陕西省志丹县 1 157 万元投资农村供水工程建设

志丹县 2007 年累计投入农村供水工程建设资金 1 157 万元,解决了 8 423 人的饮水不安全问题,有效地改善全县农民的生产生活条件。

在这笔巨额投资中,国家投资补助资金 176 万元,省上补助 103 万元,县财政投资 629.72 万元,群众自筹 248.19 万元。共建成各类供水工程 54 处,完成新打机井 17 眼,建水源池 10 座,建 50—100m³ 高位蓄水池 19 座,建 30³ 水窖 433 眼,铺设输配水管道 233km,使群众得到了实惠。