

春兰根状茎增殖与诱芽技术研究

陈 镛

(杭州市绿化管理站, 浙江杭州 310013)

摘 要:本文以春兰(*Cymbidium goeringii*)继代的根状茎为试材,研究简化实验技术手段,为春兰种苗工厂化生产提供参考。采取改变培养基中活性炭和糖分用量,不同光照、固体与液体静置培养方法,结果表明:活性炭对根状茎增殖起促进作用,但在根状茎诱芽中有强烈的抑制作用。糖分对根状茎的增殖有益,浓度宜为 20g/L,可用白糖代替蔗糖。光照有利于根状茎增殖,双支日光灯照明优于散射光和黑暗培养。根状茎增殖在固体培养基中比薄层液体静置培养好,而诱芽阶段反之。

关键词:中国兰;春兰;组织培养;简化试验

中图分类号 Q945.5 **文献标识码** A **文章编号** 1007-7731(2008)07-33-03

Study on the proliferation and sprout of *cymbidium goeringii* in tissue culture

Chen qian (Hangzhou Urban Greening Management Station, 310013)

Abstract: Taking the rootstocks of *Cymbidium goeringii* as test pieces, the paper studies the means to simplify experimental technique, in order to provide reference to the factorization produces of *Cymbidium goeringii*. The dosages of active carbon and carbohydrate were changed, and under varying illumination, stationary culture was carried out in both solid and liquid culture medium. It proved that: active carbon can promote the growth of rootstock, while for young sprouts in the rootstock, it has restraining effect. Carbohydrate is beneficial to the proliferation of rootstock, 20g/l is the appropriate concentration, and sucrose can be replaced by white sugar. Illumination is in favor of rootstock proliferation, that of two-branch sunlight lamp gaining advantage over scattered light and dark culture. Rootstock proliferation in solid medium get better than in shallow-layer liquid stationary culture, but on the contrary in the phase of sprout.

Key words: China orchid; *cymbidium goeringii*; tissue culture

君子爱兰,但由于兰花不易繁殖的特性,使一些兰花的优良品种长期以来只能成为少数人花园中的娇宠。兰花种子的胚及胚乳在散落时均未发育,自身不带营养物质,在自然条件下若无真菌参与便不能发芽。早期的育种者将种子播于母本盆内,仅凭幸运才能得到极少的幼苗。所以长期以来兰花都是采用分株方式繁殖,速度极慢,需要三年才增殖一倍,这样的速度远远不能满足人们的需求。

兰花按产地主要分为国兰和洋兰。组培技术在西洋兰上的应用已经十分成熟且大规模商业化生产,西洋兰已经形成快速发展、良性循环的巨大产业。国兰的组培快繁技术起步较晚,技术也不如洋兰成熟。因此国兰市场上的种苗以野生苗居多。兰农为求好兰穷搜山野,这样做不但效率低下而且破坏野生兰花种质资源。为了国兰产业的健康发展,十分有必要加快对国兰的组培快繁技术的研究,特别是简化技术手段,降低成本,为工厂化生产提供可行的方案。

春兰作为国兰重要种,在我国有广泛的分布,长江以南山区资源丰富。春兰抗性强,易栽培,花期又正值春节前后,爱好者众多,故选择春兰做研究对象。本文以春兰继代生长均匀的根状茎为材料,研究活性炭、糖、光照和培养方式对春兰根状茎增殖和诱芽阶段的影响,期望得到更经济实用的方法,为工厂化生产提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料 本试验采用春兰继代,生长均匀的根状茎为接种材料。

(A)切取根状茎端部 1cm 长,无分枝小段,用于根状茎增殖试验

(B)切取根状茎端部 1.5-2cm 长,有 3-5 个分枝点的小段,用于根状茎诱芽试验

全部用 100ml 三角锥瓶,固体培养基 30-50ml/瓶,薄层液体静置培养 10ml/瓶。

1.2 方法

1.2.1 根状茎增殖试验

液体培养:1/2MS(维生素不减半)+NAA5mg/l+椰乳 100g/l+活性炭 2g/l+糖,糖分处理设计了食用白糖和蔗糖各 10,20,30g/l 三个浓度。

1/2MS(维生素不减半)+NAA5mg/l+椰乳 100g/l+活性炭+蔗糖 20g/l 活性炭,处理设计了 0,1,2,3g/l 四个浓度。

固体培养:在液体培养基的基础上添加 8.5g/l 的琼脂。处理同上。

固体培养光照对比:1/2MS(维生素不减半)+NAA5mg/L+椰乳 100g/L+活性炭 2g/L+蔗糖 20g/L+琼脂 8.5g/L+光照全光(双支日光灯 12h)、散射光(自然光)和黑暗(用黑布围住培养架进行黑暗培养)三个共计

处理有 23(6×2+4×2+3)个,每处理接种 6 瓶,每瓶 4 条根状茎(重约 0.183g),共有 138 瓶,552 条根状茎。

1.2.2 根状茎诱芽试验

液体培养:1/2MS(维生素不减半)+NAA0.2mg/L+BA2mg/L+蔗糖 20g/L。

固体培养:1/2MS(维生素不减半)+NAA0.2mg/L+BA2mg/L+糖+琼脂 8.5g/l。糖分处理设计了白糖和蔗糖各 10,20,30g/L 3 个浓度。

1/2MS(维生素不减半)+NAA0.2mg/L+BA2mg/L+活性炭+蔗糖 20g/L+琼脂 8.5g/l 活性炭。处理设计了 0,1,2,3g/L 4 个浓度。

共计处理有 11(1+6+4)个,每处理接种 6 瓶,每瓶 4 条根状茎(重约为 0.275g),共有 66 瓶,264 条根状茎。

培养条件:培养室温度为 25℃左右,光照时间 12h/d,培养时间为 3 个月。

数据调查:(A)根状茎增殖试验,调查项目为根状茎的增殖数、增重量,分枝长度。

(B)根状茎诱芽试验,调查项目为增加芽数、芽高(max,min)。

用 EXCEL 软件对 1080 个原始数据进行处理,统计总数、平均数、百分率等。

2 结果与分析

2.1 根状茎增殖 糖处理影响:食用白糖可替代蔗糖,使用浓度以 20g/L 为宜。

从表 1 看出,固体培养基中糖浓度梯度对根状茎增殖率没有显著的影响,而糖浓度对生长量(鲜重)有比较大影响,10g/L 增至 20g/L 时生长量增加明显,重量增至原来的 4.37-4.72 倍左右,20g/L 增至 30g/L 时生长量增加小。无论是增殖率还是增重率,食用白糖均优于蔗糖。

在薄层液体静置培养中,糖浓度对根状茎增殖率没有显著的影响,白糖的效果优于蔗糖。生长量上白糖跟蔗糖效果近似,10g/L 增至 20g/L 时生长量增加,重量增至原来的 4.03-4.75 倍左右,20g/L 增至 30g/L 时生长量反而下降。

表 1 糖处理对根状茎增殖的影响

糖处理	增殖数(条)		增殖率(%)		总重量(g)		每瓶增重率(%)	
	固体	液体	固体	液体	固体	液体	固体	液体
蔗糖 30	207	115	862.50	479.20	4.90	2.82	446.45	256.83
蔗糖 20	196	117	816.67	487.50	4.80	5.22	437.16	475.41
蔗糖 10	190	127	791.67	529.17	3.40	4.04	309.65	367.75
白糖 30	212	180	883.33	750.00	5.37	3.53	489.07	321.31
白糖 20	218	169	908.33	704.17	5.18	4.43	471.58	403.28
白糖 10	211	186	879.17	775.00	3.51	4.08	319.67	371.58

*注:每处理调查 6 瓶,接入时每瓶 4 条,共 24 条,每条 1cm,无分枝,每瓶根状茎总重 0.183g

固体跟液体培养比较,增殖率固体培养较高,生长量差异不显著。就根状茎增殖而言,固体培养优于液体培养。

活性炭处理的影响:高浓度活性炭在增殖阶段效果非常好,适宜浓度有待继续研究(>3g/l)。

从表 2 可见,无论固体或液体培养基中添加活性炭,

对根状茎增殖有很好的促进作用,且随浓度增加,根状茎增殖数和都明显增多。

液体培养和固体培养比较:液体中根状茎增殖数和生长量(鲜重)都不如固体。

表 2 活性炭处理对根状茎增殖的影响

活性炭	增殖数(个)		增殖率(%)		总重量(g)		平均重量(g/瓶)	
	固体	液体	固体	液体	固体	液体	固体	液体
0	119	69	495.83	287.50	2.87	1.55	0.478	0.258
1	127	91	529.17	379.17	4.21	1.78	0.702	0.297
2	181	125	754.17	520.83	4.74	2.45	0.79	0.490
3	204	153	850.00	637.50	5.36	3.15	0.893	0.525

*注:每处理调查 6 瓶,接入时每瓶 4 条,共 24 条,每条 1cm,无分枝,每瓶根状茎总重 0.183g

光照的影响:全光对根状茎增殖更有利。在增殖数上,光照越强增殖数越多。在根状茎分枝的平均长度上,光照越强长度越长。

表 3 光照处理对根状茎增殖的影响

光照	调查数(条)	增殖数(个)	平均分枝(个/条)	最长分枝平均(cm)	最短分枝平均(cm)
黑暗	19	77	4.0	0.453	0.087
散射光	19	148	7.8	0.805	0.19
全光	20	186	9.3	1.211	0.279

*注:每处理 6 瓶,接入时每瓶 4 条,共 24 条,每条 1cm,无分枝

2.2 根状茎诱芽 糖处理影响:白糖代替蔗糖是可行的,浓度 10g/L 最经济。

表 4 中显示诱芽阶段根状茎有增殖,根状茎总数增至 1.5 倍左右,重量增至 2.3 倍左右。糖份浓度在诱芽作用上差别很小,诱芽率都比较高,蔗糖的效果稍优于食用白糖。

表 4 糖处理对根状茎诱芽的影响

糖处理	总茎数(个)	总芽数(个)	诱芽率(%)	最高芽平均长(cm)	总重量(g)	平均重量(g/瓶)
蔗 30	147	128	87.07	1.729	4.12	0.687
蔗 20	161	140	86.96	1.513	3.94	0.657
蔗 10	156	131	87.18	1.042	3.58	0.597
白 30	134	110	82.09	1.683	3.34	0.557
白 20	131	109	83.21	1.088	3.25	0.542
白 10	140	123	87.86	0.896	3.22	0.537

*注:每处理调查 6 瓶,每瓶 4 条,共 24 条,每条 1.5-2cm 长,3-5 个分枝点,每瓶根状茎总重 0.275g,每瓶根状茎数 72-120 条。

活性炭处理的影响:活性炭在诱芽阶段不需使用。

表 5 活性炭处理对根状茎诱芽的影响

活性炭	总茎数(条)	总芽数(个)	诱芽率(%)	最长芽平均长(cm)	总重量(g)	平均重量(g/瓶)
0	219	200	91.32	1.846	4.79	0.798
1	245	17	6.94	0.73	5.58	0.930
2	200	6	3.00	0.583	5.84	0.973
3	231	3	1.30	0.6	8.09	1.348

*注:每处理调查 6 瓶,每瓶 4 条,共 24 条,每条 1.5-2cm 长,3-5 个分枝点,每瓶根状茎总重 0.275g,每瓶根状茎数 72-120 条。

表 5 中显示根状茎有增殖,根状茎总数增至 2.5 倍左右,重量增至 3.5 倍左右。活性炭对根状茎的增殖有促进作用。从诱芽率看,活性炭对发芽具有强烈的抑制作用,浓度越高,抑制性越强。

薄层液体静置培养:与相应的固体培养(蔗20)对比,诱芽的效果差别不大,诱芽率都在85%左右。而且,液体培养中,有6条根状茎分化芽的同时,还长出了25条根。所以在诱芽阶段,薄层液体静置培养的方式比固体培养更简便经济。

表6 根状茎诱导芽的薄层液体静置培养

总茎数 (条)	总芽数 (个)	诱芽率 (%)	平均芽数 (个/瓶)	最长芽平均 长(cm)	总重量 (克)	平均重量 (g/瓶)
164	140	85.37	23.3	1.700	7.40	1.233

*注:每处理调查6瓶,每瓶4条,共24条,每条1.5~2cm长,3~5个分枝点,瓶根状茎总重0.275g,每瓶原根状茎数72~120条。

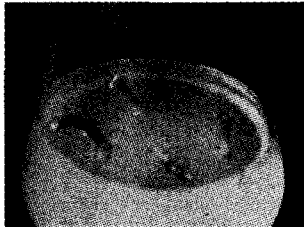


图1 根状茎增殖的材料



图2 诱芽及生根壮苗的材料



图3 根状茎增殖
(20g/ml的蔗糖,平均32.6条/瓶)



图4 根状茎增殖
20g/L的白糖,平均36.3条/瓶



图5 根状茎增殖
活性炭0g/l与3g/l对比

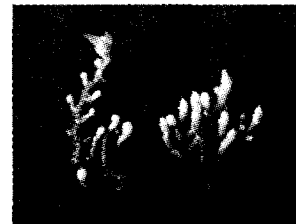


图6 根状茎增殖
全光效果最佳



图7 液体静置培养诱导芽,少数生根成苗

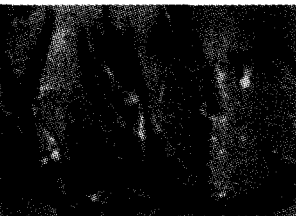


图8 30g/L的蔗糖处理诱导芽

3 讨论

(1)春兰根状茎增殖中,食用白糖替代蔗糖可以节约

成本,使用浓度以20g/L为宜,增殖率可达908.33%,增殖率可以达到471.58%。活性炭对根状茎增殖有很好的促进作用,适宜浓度有待继续研究确定(>3g/l)。

液体振荡培养对根状茎增殖有利^[4],但在生产上由于设备要求太高,将大大提升成本。本文考虑用薄层液体静置培养,可以降低配培养基的能耗和节省培养基原料,每100ml三角锥形瓶只需10ml,而固体培养基需30~50ml,且洗瓶也更方便。但试验结果表明固体培养基对根状茎增殖更有效,综合考虑还是应该采用固体培养。

全光对根状茎增殖更有利。光照一直是组织培养中消耗电能最多的,考虑采用不同光照试验,虽然全光较好,但从降低成本等综合分析,采用明亮的散射光是可行的。

(2)在糖处理的根状茎诱芽培养基中,糖份浓度在诱芽作用上差别很小,诱芽率都比较高,蔗糖的效果稍优于食用白糖。蔗糖比白糖诱芽率高4.98%,但蔗糖价格比白糖高得多,因此,从价格产出比看,用10g/L的白糖代替蔗糖是比较经济的。

在活性炭处理的诱芽培养基中,活性炭对根状茎的发芽具有强烈的抑制作用,浓度越高,抑制性越强,配方中不能使用。液体培养的方式在根状茎诱芽中比固体培养更好,这在生产运用上是非常理想的。

(3)一般花卉组织培养中,分初代诱导、继代增殖、继代诱芽、生根壮苗四步,中国兰的工厂化生产希望通过初代诱导、根状茎增殖、直接诱芽并成苗。有报道墨兰、建兰中可直接成苗^[6,8],但整齐度不够。本次实验也设计了生根壮苗培养对比,但是效果很差,11个处理成苗率均不到3%,因此春兰的生根壮苗有待进一步研究。

参考文献

- [1] 吴汉珠,王继衍,林泰碧.《'中国兰'茎顶组织培养研究》,园艺学报,1987,14(3)
- [2] 张菊野,俞玲凤,连宏坤.《几种影响春兰原球茎生长与分化的因素》,植物生理学通讯,1993,29(3)
- [3] 李用生,李友勇.《植物组织培养中活性炭的使用》,植物生理学通讯,1994,30(3)
- [4] 徐程,詹忠根等.《中国兰的组织培养》,植物生理学通讯.2002,38(2)
- [5] 王熊.《兰花快速无性繁殖的研究及花芽分化的探讨》,植物生理学报,1984,10(4)
- [6] 毛碧增,林蔚红,钱秀红等.《影响建兰原球茎增殖的若干因素》,浙江大学学报,1998,24(1)
- [7] 罗虹.《活性炭对墨兰根状茎的影响》,广东农业科学,1998,(1)
- [8] 邵锡良.《中国兰花的茎尖组织培养》,生物学教学.1999,24(1)

(责编:张琪琪)

安徽农学通报

学术与实用并重 技术与管理共存 提高与普及兼顾 理论与实践结合
全国各地邮局征订,邮发代号26-146,订费半年72元,全年144元,欢迎踊跃订阅。