

植物激素和复合添加物对大花蕙兰组织培养的影响

田英翠, 杨柳青* (中南林业科技大学, 湖南长沙 410004)

摘要 以大花蕙兰开花植株茎尖和试管苗茎段或叶切段为外植体, 诱导原球茎, 并获得再生植株, 筛选出原球茎诱导培养基: KC+5 mg/L BA+0.5(或1.0)mg/L NAA+0.5%~1%蔗糖; 原球茎增殖培养基: KC+5 mg/L BA+0.1(或0.5) mg/LNAA+0.2%蛋白胨; 分化及育苗培养基: KC+0.1 mg/L NAA+10%香蕉匀汁+0.1%活性炭。

关键词 大花蕙兰; 组织培养; 原球茎

中图分类号 Q943.1 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2006)18-4566-02

1 材料与方法

1.1 材料 供试大花蕙兰盆栽植株由中南林业科技大学植物园提供。

1.2 方法

1.2.1 诱导培养。以 KC 为基本培养基, 将其与不同剂量的 BA、NAA、KT 和 IBA 4 种激素组合, 配制成原球茎诱导培养基。取成熟植株长约 2.0 cm 茎尖, 流水冲洗, 除去外层茎叶, 放入 10% 次氯酸钠溶液中灭菌 10 min, 用无菌水冲洗干净, 取茎尖 1~2 mm 接种在诱导培养基上。光照强度为 1 200 lx, 光暗各 12 h, 培养温度为 (25±2)℃, 培养基 pH 5.5。培养 4 周后, 统计叶片培养、原球茎诱导结果及不同激素培养原球茎的增殖结果; 培养 5 周后, 统计茎尖及茎段的培养诱导结果。

1.2.2 增殖培养。A: 以 KC 为基本培养基, 与 15 种不同剂量的 4 种激素 (VA、KT、NAA、IBA) 组合; B: 以蛋白胨、水解蛋白、复合氨基酸、胰蛋白胨等添加物组成增殖培养基。

1.2.3 植株再生。将增殖培养基上已分化的原球茎转移到含 10% 香蕉匀汁、0.1% 活性炭和 0.1~0.5 mg/L NAA、0.1~0.5 mg/L 2,4-D 的 KC 固体培养基上, 待植株长到 2.0 cm, 将其分别植于新鲜培养基上, 保持株距, 每瓶定数。

2 结果与分析

2.1 不同激素组合对原球茎形成的影响 表 1 表明, BA 与

表 2

不同激素组合对茎段形成原球茎的影响

序号	激素//mg/L			诱导率 %	平均原球 茎数//个	平均芽 数//个	序号	激素//mg/L			诱导率 %	平均原球 茎数//个	平均芽 数//个
	BA	NAA	IBA					BA	NAA	IBA			
1	0.5	0.1	-	72	5.8	-	13	0.5	-	0.1	73	-	1.5
2	0.5	0.2	-	30	4.2	-	14	0.5	-	0.2	48	-	2.0
3	0.5	0.5	-	48	2.8	-	15	0.5	-	0.3	55	-	2.8
4	1.0	1.0	-	46	3.1	-	16	1.0	-	0.5	48	-	3.8
5	1.0	2.0	-	43	2.5	-	17	1.0	-	1.0	45	-	2.3
6	1.0	5.0	-	21	2.2	-	18	1.0	-	2.0	72	-	1.8
7	5.0	0.5	-	80	6.8	-	19	5.0	-	0.5	70	5.9	-
8	5.0	1.0	-	72	6.2	-	20	5.0	-	1.0	78	5.1	-
9	5.0	5.0	-	48	3.1	-	21	5.0	-	2.0	70	6.0	-
10	9.0	0.0	-	75	6.0	-	22	9.0	-	0.5	72	6.0	-
11	9.0	1.0	-	63	5.6	-	23	9.0	-	1.0	65	6.5	-
12	9.0	3.0	-	69	5.2	-	24	9.0	-	2.0	60	7.0	-

研究还表明, 在细胞分裂素含量相同的情况下, 随着生长素浓度的增加, 所形成的平均原球茎数降低; 在继代培养中, 原球茎分化后形成苗的发育情况也有差异, 即随着生长素浓度的增加, 苗逐渐健壮, 同时变矮。在细胞分裂素和生长素绝对浓度都较高或生长素绝对浓度很低的情况下, 原球

NAA 组合对茎尖的诱导效果好于 KT 与 NAA 组合, 诱导率最高可达 75%, 最低 63%。表 2 表明, 13~18 号培养基上的茎段不经过原球茎阶段直接出芽形成芽丛; 1、7、8、10~12、19~24 号培养基均适合茎段的诱导培养, 不仅诱导率高, 而且每个外植体所产生的平均原球茎数都在 5 个以上。考虑到高浓度激素组合易引起植株变异, 因此低浓度激素诱导效果较好的情况下尽可能不用高浓度激素组合, 所以 7、8 号培养基的诱导效果最理想。表 3 表明, 13~18 号培养基上的叶片直接出芽形成芽丛, 未观察到原球茎, 芽较多地产生在叶基部; 7、8 和 9 号培养基均可用于叶片的诱导培养, 其中 8 号培养基的诱导效果最理想。

表 1 不同激素组合对茎尖形成原球茎的影响

激素//mg/L			外植 体数	形成原球茎 外植体数	诱导率 %
BA	KT	NAA			
-	1.0	0.1	8	3	38
1.0	-	0.1	8	5	63
0.5	-	0.1	8	5	63
-	0.5	0.1	8	4	50
1.0	-	0.1	8	6	75
-	1.0	0.1	8	4	50

茎致密无分化, 呈愈伤组织状。

2.2 原球茎的增殖培养

2.2.1 激素对原球茎增殖的影响。原球茎的增殖培养是实现兰花快速繁殖的关键。在适宜的培养基上, 原球茎增殖很快, 分化后可得到大量再生苗。表 4 表明, 激素组合对原球茎增殖影响不大, 但对原球茎发育的方向起着调控作用。低浓度 BA 及较高浓度 NAA (IBA) 导致原球茎分化, 高浓度 BA 和低浓度 NAA (IBA) 维持原球茎增殖。考虑到继代培养中激

基金项目 湖南省林业厅科技项目。

作者简介 田英翠 (1974-), 女, 湖南湘西人, 在读硕士, 讲师, 从事园林方面的教学和研究工作。* 通讯作者。

收稿日期 2006-08-05

素逐代积累的问题,不宜选太高浓度的 BA,所以 4 和 5 号培养基的激素组合较适宜。

表 3 不同激素组合对叶形成原球茎的影响

序号	激素//mg/L			诱导率 %	平均原球 茎数//个	平均芽 数//个	序号	激素//mg/L			诱导率 %	平均原球 茎数//个	平均芽 数//个
	BA	NAA	IBA					BA	NAA	IBA			
1	0.5	0.1	-	8	4.0	-	13	0.5	-	0.1	16	-	1.5
2	0.5	0.2	-	13	5.0	-	14	0.5	-	0.2	6	-	2.0
3	0.5	0.5	-	15	4.5	-	15	0.5	-	0.3	5	-	2.0
4	1.0	1.0	-	16	5.0	-	16	1.0	-	0.5	15	-	3.5
5	1.0	2.0	-	14	4.5	-	17	1.0	-	1.0	13	-	3.0
6	1.0	5.0	-	7	3.0	-	18	1.0	-	2.0	11	-	1.5
7	5.0	0.5	-	23	5.3	-	19	5.0	-	0.5	16	7.8	-
8	5.0	1.0	-	35	6.0	-	20	5.0	-	1.0	18	6.2	-
9	5.0	5.0	-	24	5.1	-	21	5.0	-	2.0	9	5.0	-
10	9.0	1.0	-	16	5.2	-	22	9.0	-	0.5	14	6.5	-
11	9.0	3.0	-	0	0	-	23	9.0	-	1.0	12	5.0	-
12	9.0	6.0	-	0	0	-	24	9.0	-	2.0	6	4.5	-

表 4 不同激素组合对原球茎增殖的影响

序号	激素//mg/L				鲜重增 加率//%	分化率 %
	BA	KT	NAA	IBA		
1	2.0	-	-	-	56	75
2	8.0	-	-	-	58	55
3	0.5	-	0.1	-	53	88
4	5.0	-	0.1	-	55	35
5	5.0	-	0.5	-	58	45
6	5.0	-	1.0	-	57	84
7	5.0	-	2.0	-	56	90
8	5.0	-	-	0.5	55	72
9	5.0	-	-	1.0	57	85
10	-	1.0	0.5	-	51	90
11	-	5.0	0.5	-	53	85
12	-	5.0	1.0	-	56	86
13	-	5.0	2.0	-	50	82
14	-	5.0	-	0.5	54	60
15	-	5.0	-	1.0	53	55

2.2.2 复合添加物对原球茎增殖的影响。表 5 表明,含 0.2% 蛋白胨的培养基效果最好,其存活率和增殖率都很高,并且在继代培养中观察到原球茎所分化的苗壮,叶绿素含量高;其他 3 种复合添加物由于存活率不高而影响了鲜重增加率。

表 5 复合添加物对原球茎增殖的影响 %

		存活率	鲜重增加率	分化率
蛋白胨	0.1	91	82	90
	0.2	98	90	93
	0.3	90	85	90
水解蛋白	0.1	75	50	76
	0.2	55	10	20
	0.3	78	80	86
复合氨基酸	0.1	91	75	59
	0.2	56	8	50
	0.3	88	75	90
胰蛋白胨	0.1	7	28	
	0.2	50	15	36
	0.3	74	46	58

2.3 植株的再生 研究表明,分化的原球茎在再生培养基

上 2 周后分化出芽,4 周后长出幼叶和根。从培养 10 周后观察结果可见,不同激素及浓度对植株生长影响很大。0.5 mg/L 2,4-D 可强烈抑制苗的生长,苗矮小,叶片宽大扭曲,苗基部产生大量球茎,其体积是正常原球茎体积的 3 倍;0.1 mg/L 2,4-D 也抑制苗的生长,只是表现比 0.5 mg/L 2,4-D 要轻一些。0.1、0.5 mg/L NAA 差异不大,与对照相比,苗根长而壮,株高无差异;与含 1 mg/L NAA 培养基上的苗相比,苗稍高,根稍细。考虑到激素逐代积累的问题,以选 0.1 mg/L NAA 浓度为好,因此育苗培养基以 KC 附加 0.1 mg/L NAA 及 10% 香蕉匀汁、0.1% 活性炭为佳。

3 讨论

试验表明,激素在原球茎及芽的诱导中起主导作用。BA 对大花蕙兰幼叶及茎段的诱导有效,与 KT 相比,效应要强得多。当 BA 为 5 mg/L 左右,NAA 为 0.1~0.5 mg/L 时,原球茎诱导率达到最高,外植体上原球茎数也最多。这表明高浓度细胞分裂素与低浓度生长素对大花蕙兰原球茎发生有利。由此表明,在原球茎诱导过程中生长素并不是必需的。在 BA 与 NAA 的组合中,外植体形成原球茎;在 BA 与 IBA 组合中,当 BA 为 0.5~1 mg/L、IBA 为 0.1~2 mg/L 时,浓度高反而对不定芽产生的生不利。激素对原球茎的增殖培养同样重要,它对原球茎生长发育的方向起着调控作用。高浓度 BA 和低浓度 NAA 或 IBA 限制原球茎的分化,促进增殖,并且随 BA 浓度的增加和 IBA 或 NAA 浓度的降低,抑制分化作用增强,而降低 BA 浓度或适量增加生长素浓度,能促进原球茎分化。复合添加物成份复杂,富含各种氨基酸、维生素等。一定浓度的复合添加物对原球茎的增殖效果很好,鲜重增加较快,原球茎生长健壮,其中 0.2% 蛋白胨对原球茎的增殖效果最好。因此,原球茎的增殖培养基最好加入适当的激素,以控制原球茎的发育方向,同时加入适当浓度的复合添加物以促进其快速增殖。

参考文献

- [1] 熊英,黄寿先.大花蕙兰组培快速繁殖技术的研究[J].广西农业科学,2003(3):186.
- [2] 范成明,李枝林,何月秋,等.兰花组织培养及分子生物学研究进展[J].园艺学报,2003(4):487.