

蝴蝶兰花梗初代培养的研究

李洪忠, 冯艳秋, 张秀丽, 李春艳, 关丽霞, 张贵芳

(辽宁农业职业技术学院, 辽宁 营口 115009)

摘要: 本试验以蝴蝶兰花梗为外植体, MS为基本培养基, 对影响腋芽诱导的MS基本培养基中无机盐浓度、植物生长调节物质的种类和浓度配比、外植体选取部位等因素进行了研究。试验结果表明: 选用1/3MS处理来诱导花梗腋芽萌芽生长的综合效果最好; 单独使用细胞分裂素(6-BA)时芽的诱导率比同时使用细胞分裂素和生长素的诱导率高; 花梗腋芽的取材部位影响萌芽率和营养芽的形成。

关键词: 蝴蝶兰; 花梗腋芽; 组织培养

中图分类号: Q 943.1

文献标识码: A

文章编号: 1671-0517(2006)03-0031-03

蝴蝶兰(Phalaenopsis amabilis Bl.)是单茎性气生兰, 很难用传统分株方式进行无性繁殖, 因此世界上多采用组织培养繁育种苗。近年来, 对蝴蝶兰的组织培养较多的是用胚、幼叶、茎尖和根尖等多种器官为外植体进行组织培养研究的报道, 但这些方法对母株都有不同程度的损伤, 我们通过多个试验处理, 以蝴蝶兰开花后的花梗作为外植体, 进行了初代组培研究, 效果非常好。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料大部分购于吉林国联农业实用生物技术开发有限公司培育的粉花蝴蝶兰杂交种(Phalaenopsis hybrid)。

1.2 方法

1.2.1 外植体选择与处理

在蝴蝶兰植株开花后, 选取健壮无病虫害植株的花梗, 先用洗洁净、洗衣粉液等洗涤剂将花梗清洗干净, 然后用自来水反复冲洗2~4小时。

1.2.2 外植体的消毒和接种

在无菌超净工作台上, 将处理过的材料70%酒精中浸30秒→无菌水冲洗→0.15%升汞(外加数滴吐温-20)消毒10~15 min→无菌水冲洗4~5次, 每次3~5分钟, 用无菌滤纸吸干表面水分→将花梗切成1~2 cm长的节段, 每段带1个腋芽, 基部向下插入的初代诱导培养基上。

1.2.3 培养基

基本培养基为MS, 并对MS培养基的大量元素进行改良试验。蔗糖2.5%, 琼脂粉0.8%, 活性炭0.5 g/L, 调pH值为5.5~5.6。激素用BA

(6-苄基腺嘌呤)或BA和NAA(a-萘乙酸)的组合, 培养基用100 ml的三角瓶分装, 每瓶25 ml, 121℃高压蒸汽灭菌15 min。

1.2.4 培养条件

培养温度26±1℃, 光照强度2 000 lx, 光照12 h/d。

2 结果与分析

2.1 MS培养基无机盐浓度对花梗腋芽萌芽的影响

基本培养基分别设置为MS, 1/2MS, 1/3MS, 1/4MS, 1/5MS(注: 无机盐大量元素给予不同程度的减少, 而无机盐微量元素和有机物质的含量都不变), 各培养基组合中均加生长素(NAA)0.2 mg/L, 细胞分裂素(6-BA)5 mg/L, 外植体采用花后花梗基部上数第3、4节位带腋芽的茎段。

1周后, 各处理的茎段腋芽都开始萌动, 以后陆续萌芽, 长出芽苗。5周后统计结果见表1。

由表1可以看出: 适当降低MS培养基的大量元素浓度含量可以提高蝴蝶兰花梗腋芽的萌芽率, 当MS的大量元素降低至1/4时腋芽的萌芽率可达到94.4%, 1/5MS腋芽的萌芽率反而下降, 说明大量元素含量太少时, 花梗腋芽的萌芽率又会降低。

表1 MS无机盐浓度对花梗腋芽萌芽的影响

培养基	接种外植体数	污染数	萌芽个数	萌芽率(%)
MS	20	2	8	44.4
1/2MS	20	1	10	52.6
1/3MS	20	3	14	82.4
1/4MS	20	2	17	94.4
1/5MS	20	4	13	81.2

收稿日期: 2006-08-01

作者简介: 李洪忠(1972-), 男, 农学硕士学位, 花卉园艺师, 讲师。

7周后观察表明：无机盐浓度低的处理，芽苗生长状态较差，特别是1/5MS培养基处理，表现在芽苗细小瘦弱，生长停滞，叶端变黄等症状，1/4MS处理次之，可能是无机营养供应不足的缘故；而无机盐浓度高的MS处理前期生长状态较好，但后期由于褐化程度严重而影响甚至阻止恶化芽苗的生长，1/2MS处理次之。只有1/3MS处理，其萌芽率虽比1/4MS处理的低，只有82.4%，但芽苗的长势好，且褐化程度低。因此综合分析来看，选用1/3MS处理来诱导花梗腋芽萌芽生长最好。但用低浓度无机盐处理，要及时更换培养基，以防无机营养的不足而影响芽苗的生长。

2.2 花梗不同位置腋芽培养效果的差异

蝴蝶兰的花梗通常有5个腋芽，在进行离体培养时花梗不同位置的腋芽培养结果有较大差异。以1/3MS+6-BA 5 mg/L+NAA 0.2 mg/L为培养基，以花梗不同部位的带芽节段为外植体进行离体培养，50 d后进行观察统计，结果见表2。

从表2可以看出：基部第1个腋芽的离体培养效果最差，萌芽率仅31.6%，而且形成的均为单个营养芽。第2个腋芽的萌芽率和增殖倍数比第1个腋芽高，但均低于第3、4、5位置的腋芽。花梗

基部以上第4、第5个腋芽离体培养时萌芽率均高于90%，并且都可以形成2~3个丛生的营养芽，但第4个腋芽营养芽的增殖倍数比第5个腋芽高。

表2 蝴蝶兰花梗不同位置腋芽离体培养的差异 (50d)

腋芽的位置	花梗段数		萌芽率 %	营养 芽数
	接种数	萌芽数		
1	19	6	31.6	6
2	20	13	65.0	19
3	20	15	75.0	26
4	18	17	94.4	38
5	18	17	94.4	32

注：接种数不包括污染和褐化的材料。

2.3 不同浓度的外源激素对花梗腋芽分化的影响

以蝴蝶兰花后花梗节段基部向上数第4位带腋芽的茎段为外植体，以1/3MS为基本培养基，同时添加不同浓度的6-BA，附加0或0.2 mg/L的NAA。

接种培养2周后，观察到在不同处理中均有花梗腋芽发生，而且有的处理产生了丛生芽；以后不定芽陆续长出了小叶和茎尖，50 d后调查统计结果见表3。

表3 不同浓度的外源激素对花梗腋芽分化株数的影响 (50 d)

6-BA mg/L	NAA mg/L	接种外 植体数	诱导最初时间 (d)	出芽数	不定芽诱导率 (%)	芽苗的生长状况
1	0.2	16	13	7	43.7	单芽
3	0.2	17	11	9	53.9	2块产生丛生芽
5	0.2	19	9	14	73.6	5块产生丛生芽
7	0.2	18	8	16	88.8	9块产生丛生芽
10	0.2	18	12	13	72.2	7块产生丛生芽
1	0	16	8	9	56.2	单株
3	0	17	6	12	70.5	3块产生丛生芽
5	0	18	5	17	94.4	7块产生丛生芽
7	0	17	7	14	82.3	8块产生丛生芽
10	0	17	9	12	70.5	6块产生丛生芽

注：接种数不包括污染和褐化的材料

由表2可知，诱导蝴蝶兰梗腋芽的分化随外源激素的种类和浓度配比的不同而产生不同的结果。在培养基中当6-BA和NAA同时存在时，其分化率随着两者的浓度比值高低的不同而有所不同，比值越高，其分化率越高；6-BA在7 mg/L以下时，无NAA存在时，其分化效果更好，说明单独使用6-BA会比同时使用6-BA和NAA产生更

好的诱导分化效果，而且浓度越高，诱导效果越好，但超过10 mg/L时，诱导效果反而下降，表现在，培养基的褐化和芽苗玻璃化现象加重，可能由于细胞分裂素浓度过高，从而抑制腋芽的萌芽。综合来看，6-BA的最佳含量为5.0 mg/L，腋芽萌芽率和增殖率较高，芽苗长的也较粗壮，培养基褐化程度也相对较轻。

3 结论与讨论

1. 适当降低 MS 大量元素的浓度可以明显提高蝴蝶兰花梗腋芽的萌芽率。但浓度太低会影响幼苗的后期生长。1/3MS 的综合培养效果最好。

2. 蝴蝶兰花谢后的花梗腋芽也可以进行离体培养，而且培养效果较好，但不同部位的花梗腋芽离体培养的效果不同，有明显的顶端优势，花梗上部的腋芽通常比花梗基部的腋芽萌芽率高。过老的花梗腋芽再生能力弱而不宜培养。本试验表明：以花梗基部向上数第 4 个腋芽萌芽能力最强。这种现象可能与花梗不同位置腋芽的发育程度有关，由于花梗上部腋芽的体积明显比基部的腋芽大，因此上部的腋芽可能比下部的发育的好。

3. 6-BA/NAA 浓度比值的高低极大地影响

着花梗腋芽的萌芽，比值越高，越有利于腋芽萌芽，但比值太高，也就是说 6-BA 含量过高，反而会抑制腋芽的萌发，而且玻璃化和褐化现象加重。试验结果表明：单独使用 6-BA 时，其浓度在 5 mg/L 之间的综合效果较好。

参考文献：

- [1] 王怀宇. 蝴蝶兰的快速无性繁殖 [J]. 园艺学报, 1989, 16 (1): 73~77.
- [2] 曾宋君, 彭晓明, 张京丽, 等. 蝴蝶兰的组织培养和快速繁殖 [J]. 武汉植物学研究, 2000, 18 (4): 344-346.
- [3] 刘荣维, 梅庆超, 崔元方, 等. 丛生芽——蝴蝶兰无性快速繁殖的新途径 [J]. 热带作物学报, 1993, 14 (2): 105~107.

Study on culture of Phalaenopsis Flower-stalks

LI Hong-zhong, FENG Yan-qiu, ZHANG Xiu-li, LI Chun-yan, GUAN Li-xia, ZHANG Gui-fang
(Liaoning Agricultural College, Yingkou 115009, China)

Abstract: The induction of vegetative shoots from axillary buds of Phalaenopsis flower-stalks was studied in vitro on the media of MS and some kinds of modified MS. The axillary bud sprouting rate was 82.4% on the medium of 1/3MS+6-BA5 mg/L+NAA0.2 mg/L by the culture of flower-stalk segments each with one bud. After cultured 40 days, all of the sprouting buds formed vegetative shoots. The position of inoculation make important effect on the prouting of axillary buds and the formation of vegetative shoots. The media of 1/3MS with 6-BA5 mg/L was best for the induction of vegetative shoots from axillary buds of flower-stalks.

Key words: Phalaenopsis flower-stalk; vegetative shoot; tissue culture

(上接第 30 页)

8.3 鼠害防治 用 10 kg 大豆炒香加入 0.1~0.2 kg 植物油，再加 0.5~0.8 kg 磷化锌拌匀，每堆 10~15 g 放在参场周围诱杀。

9 移栽与管理

9.1 选栽、整形 选择健壮、体型好、芦长、无病虫害的参苗，在主根上留 2 个支根，其余的支根及主根上的须根都去掉，每个支根从基部开始去掉 1/3 的须根。年龄小的参苗须根多，要适当疏须。疏须时，要用手掐断，不要扯断，以免伤口过大，感病腐烂。整形后，用 1 000 ppm 的多菌灵浸泡消毒 5 分钟。

9.2 选场整地 林下移栽地的选择方法与林下参地选择方法相同，移栽地整地方法与林下育苗整地方法相同。

9.3 栽植 用镐开深 10 cm、宽 10~12 cm 的小

沟。参苗芽向上，摆入沟中，两条支根不能并在一起，应人为的将两条支根分开，须根摆放均匀，不能卷须，覆土时先覆盖参须，然后覆盖主根，覆土高于地面 2~3 cm，地上再覆盖一层 3~5 cm 厚的落叶。

9.4 管理 林下培育野山参，其管理要比园参粗放的多，不需松土、除草、施肥，使其自然生长。在生长期可以根据山参的生长情况可适当喷施高效低毒的杀菌剂或杀虫剂，预防病虫害的发生。夏季在种植区内利用立木调整光照，郁闭度超过 90% 时，可清理枝叶；郁闭度小于 60% 或出现局部“天窗”可将周围的相邻树冠的枝叶用铁线或麻绳互拉调节光照。同时结合封山育林在山参的种植区内要设专人进行看护，尤其是十五年以上的山参要特别管理和看护，禁止外人和牲畜进入种植区，严禁砍伐立木和柴草。