

香草兰的组织培养试验

文慧婷, 张翠玲, 吴刚

(中国热带农业科学院香料饮料研究所, 海南 万宁 571533)

摘要: 通过从种子→原球茎→丛生芽→完整植株的试验过程, 筛选出较适合香草兰种子无菌萌发和丛生芽诱导增殖的培养条件。结果表明: 在温度 32~36℃ 的暗培养条件下, 香草兰种子无菌萌发的最适培养基为 VW+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L; 诱导丛生芽的最适培养基为 MS+6-BA 3.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L, 温度 (26±2)℃, 光照强度 1 500~2 000 lx、每天连续光照 10 h; 诱导出的小芽在 1/2MS+NAA 1.0 mg/L 的生根培养基上培养 20 d 左右即可长出 2~4 条根, 生根率达 100%。

关键词: 香草兰; 无菌萌发; 诱导; 增殖

中图分类号: S682.31

文献标识码: B

文章编号: 1004-874X(2008)11-0035-02

香草兰 (*Vanilla* spp.) 又名香荚兰、香子兰, 是兰科香荚兰属多年生热带藤本香料作物, 其豆荚经过发酵生香处理后为商品香荚兰, 有“食品香料之王”的美誉, 是国际上重要的食用香料原料, 深受国内外不同人士的重视和喜爱^[1-2]。香草兰原产于墨西哥, 1960 年开始引入我国试种, 在生产上通常采用扦插的方法进行繁殖, 但是, 在杂交育种过程中, 一定要用种子繁殖。本试验采用由国外杂交的香草兰种子, 通过无菌萌发快繁, 为选育香草兰优良单株和品系以及更新国内生产用种提供了科学依据。

1 材料与方 法

1.1 诱导培养试验

选取长 20~25 cm 的新鲜香草兰豆荚 (由中国热带农业科学院香料饮料研究所提供), 先用自来水清洗干净, 然后在超净工作台上用 70% 酒精消毒、无菌水冲洗 1 次, 然后切开豆荚获取种子, 备用。

1.1.1 不同培养基对香草兰种子萌发的影响 将香草兰种子分别接种于添加了不同浓度 6-BA、NAA、IBA、ZT 的 MS、KC、VW 基本培养基 (表 1) 中, 每个处理接种 18 瓶, 每瓶约 200 粒种子。接种后将各处理置于温度 32℃ 的暗培养条件下培养。

1.1.2 不同光照对香草兰种子萌发的影响 将香草兰种子接种于 VW+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L 培养基中, 接种后设光培养和暗培养 2 个处理, 温度均为 32℃, 光培养中光强为 1 500~2 000 lx、每天连续光照 10 h。每个处理接种 9 瓶, 每瓶约 200 粒种子。

1.1.3 不同温度对香草兰种子萌发的影响 外植体消毒后, 将香草兰种子接种于 VW+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L 培养基中, 接种后置于 25~28℃、28~32℃、32~

36℃ 等 3 个温度处理下进行暗培养。每个处理接种 9 瓶, 每瓶约 200 粒种子。

1.2 增殖培养试验

待类原球茎体萌发后, 将其分别转接入 MS+6-BA 3.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L、MS+6-BA 3.0 mg/L+IBA 0.1 mg/L、MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L、MS+6-BA 1.0 mg/L+ZT 1.0 mg/L、MS+ZT 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L 培养基中, 然后将各处理置于温度 (26±2)℃、光照 1 500~2 000 lx (每天连续光照 10 h) 的条件下诱导出芽。转接约 28 d 后, 整个材料开始形成由白变绿的原球茎, 并逐渐长大形成小芽; 当小芽长至 1~2 cm 长时, 将其切下转接入新鲜培养基中进行继代增殖培养, 诱导丛生芽的形成; 形成的丛生芽再分割成带 2~3 个芽的小芽丛分别转接入新鲜培养基中培养, 诱导小芽的分化; 再将增殖培养中不断分化出的小芽切分, 转接入新鲜培养基中, 如此反复。

1.3 生根培养试验

当小芽长至 4 cm、具 3~4 片叶时, 选取健壮小芽并将其从丛生芽上单芽切下, 转接入 1/2MS+NAA 1.0 mg/L 生根培养基中, 然后置于温度 (28±2)℃、光强 2 000~2 500 lx (每天连续光照 12 h) 的条件下培养; 其余小芽转接入新鲜培养基中继续增殖培养。

1.4 炼苗移栽试验

当香草兰生根苗培养约 30 d、长出 3~4 条根时, 将其转移至无直射光的地方进行炼苗; 7 d 后, 打开瓶盖继续炼苗 2 d; 然后将其从瓶中取出, 先用自来水洗净根部附着的培养基, 再用多菌灵 1 000 倍液浸泡 10 min, 并置于室内自然风干 6 h; 最后即可移栽至粗椰糠: 河沙等比例混合的砂床上, 适度遮阴^[3]。

2 结果与分析

2.1 不同培养条件对香草兰种子萌发率的影响

2.1.1 培养基 接种 70 d 后的调查结果表明: 在相同

收稿日期: 2008-08-22

作者简介: 文慧婷 (1980-), 助理农艺师, E-mail: wenhuitingm@163.com

培养时间里,不同培养基对香草兰种子的萌发率影响不同。从表1可见,在添加相同激素组合的条件下,VW基本培养基上的种子萌发率明显高于MS和KC基本培养基,而MS基本培养基上的种子萌发率又高于KC基本培养基。其中,VW+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L培养基上的香草兰种子分化较早、萌发率相对较高,接种42 d后部分种子开始萌发,接种70 d左右种子萌发率可达60%。

表1 不同基本培养基与激素组合对香草兰种子萌发率的影响

基本培养基	激素组合	接种数 (粒)	发芽数 (粒)	种子萌发率 (%)
MS	6-BA1.0mg/L+NAA0.1mg/L	3600	360	10
MS	6-BA1.0mg/L+IBA0.1mg/L	3600	288	8
MS	6-BA1.0mg/L+ZT0.1mg/L	3600	196	6
KC	6-BA1.0mg/L+NAA0.1mg/L	3600	252	7
KC	6-BA1.0mg/L+IBA0.1mg/L	3600	252	7
KC	6-BA1.0mg/L+ZT0.1mg/L	3600	180	5
VW	6-BA1.0mg/L+NAA0.1mg/L	3600	2160	60
VW	6-BA1.0mg/L+IBA0.1mg/L	3600	720	20
VW	6-BA1.0mg/L+ZT0.1mg/L	3600	684	19

2.1.2 光照 试验结果表明,在VW+6-BA1.0 mg/L+NAA0.1 mg/L培养基中,香草兰种子在暗培养条件下比光培养的萌发要快。接种42 d后,暗培养条件下的香草兰种子已开始萌发,接种70 d后种子萌发率近60%;而置于光照条件下培养的种子在接种后70 d仍未萌发,相同条件下继续培养6个月后才仅分化出11个类原球茎,萌发率小于1%。

2.1.3 温度 温度对香草兰种子的萌发也有一定影响,接种70 d后部分种子开始萌发,经观察发现,香草兰种子萌发的适宜温度范围为32~36℃,其次是28~32℃,而25~28℃条件下种子萌发率最低。

2.2 不同激素组合对香草兰丛生芽增殖培养的影响

观察发现,不同的增殖培养基均能诱导香草兰原球茎出芽,但是,不同的激素组合对形成丛生芽的数量和增殖速度有一定的差别。其中,MS+6-BA3.0 mg/L+NAA0.1 mg/L培养基的增殖效果最好,表现为丛生芽

形成多且增殖速度快,转接30~40 d后增殖倍数可达5~8倍;MS+6-BA 3.0 mg/L+IBA 0.1 mg/L和MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L培养基的效果一般;而MS+6-BA 1.0 mg/L+ZT 1.0 mg/L和MS+ZT 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L培养基的效果最差,丛生芽较少,增殖倍数分别仅1~3倍和1~2倍。

2.3 生根培养

香草兰生根培养相对较容易^[4]。当小芽转接入1/2MS+NAA1.0 mg/L的生根培养基中后,20 d左右即可在节间基部长出2~4条粗壮的根,形成完整的小植株,生根率达100%。

2.4 移栽

香草兰试管苗移栽时,移栽基质应既保湿又透气,但不宜太湿,否则易烂根。在本试验中,香草兰在移栽基质为粗椰糠+河砂(按1:1比例)、湿度为80%左右的环境中移栽成活率达90%以上。

3 结论与讨论

本研究以香草兰种子作外植体,应用组织培养技术对其种子的无菌萌发诱导、增殖和生根进行了研究。结果表明:在温度32~36℃的暗培养条件下,香草兰种子无菌萌发的最适培养基为VW+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L;诱导丛生芽的最适培养基为MS+6-BA 3.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L;诱导出的小芽在1/2MS+NAA 1.0 mg/L的生根培养基上培养20 d左右即可长出2~4条根,生根率达100%。通过对香草兰快繁技术的系统化研究,为香草兰选育优良单株和品系以及更新国内生产用种提供了科学依据。

参考文献:

- [1] 宋应辉,王庆煌,赵建平,等.香草兰产业化综合技术研究[J].热带农业科学,2006,26(6):43-46.
- [2] 赵建平,王庆煌,宋应辉,等.香草兰产业开发与应用配套技术研究[J].热带农业科学,2006,26(6):38-42.
- [3] 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,2002.
- [4] 张翠玲,文慧婷.尖蜜拉的快繁技术[J].热带作物学报,2007,28(1):51-53.