

鹤顶兰组培快繁技术研究

曹受金¹, 袁雄强² (1. 中南林业科技大学, 湖南长沙 410004; 2. 湖南省长沙市园林科学研究所, 湖南长沙 410003)

摘要 在鹤顶兰组培快繁过程中, 细胞分裂素 BA 对假鳞茎诱导有极显著影响, KT 和 ZT 的作用不明显; BA 和生长素 NAA 均对假鳞茎的诱导和增强起明显的促进作用, 且 BA 对鹤顶兰幼苗的增殖效果更为显著; GA 和番茄汁的合理组配是鹤顶兰生根壮苗的关键。

关键词 鹤顶兰; 组织培养; 细胞分裂素; 生长素

中图分类号 Q943.1 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2006)05-0890-02

Analysis of Factors Affecting *P. tankervilleae* Propagation in Vitro

CAO Shou-Jin et al (Central South Forestry Science-technology University, Changsha, Hunan 410004)

Abstract In *P. tankervilleae* propagation in vitro, 6-BA was favorable to the induction of Protocorm, but ZT and KT; and both 6-BA and NAA had the significant effect on the induction and proliferation of Protocorm. Furthermore, 6-BA had significant effect on the growth and proliferation of shoot. The combination of GA and banana mud was key to rooting and strong sprout.

Key words *P. tankervilleae*; In vitro culture

鹤顶兰 (*P. tankervilleae*) 为兰科多年生常绿草本植物。其主要为地生种, 假鳞茎大, 延长成茎状, 花茎直立, 生于假鳞茎的侧面, 通常可开出许多大型的花果, 筒状的唇瓣十分独特。色泽变化范围较宽, 这些颜色在兰花中不常见。主要分布热带非洲、亚洲和大洋洲^[1,2]。播种繁殖易受病毒感染, 分株繁殖周期长, 繁殖率低, 远远不能满足商品化生产的要求。目前关于鹤顶兰组织培养的报道极少^[3,4]。笔者旨在探讨鹤顶兰组培快繁过程中各种因素对其假鳞茎诱导、幼苗分化及生根壮苗的影响, 以寻找最适的组培快繁条件, 为其快繁及大规模工厂化生产提供依据。

1 材料与方法

切取鹤顶兰幼根, 消毒处理后剪成 0.5 cm 左右长的根段作为诱导假鳞茎的外植体材料。以 ZW 和 1/2MS 为基本培养基, 添加琼脂 14 g/L, pH 值 5.1~5.4。培养温度 (25 ± 3) °C, 光照度约 2 000 lx, 光照时间为 (15 ± 1) h/d^[5,6]。

2 结果与分析

2.1 不同细胞分裂素对鹤顶兰假鳞茎诱导的影响 设计了 $L_9(3^3)$ 正交试验, 以了解细胞分裂素 ZT、BA、KT 对鹤顶兰假鳞茎诱导的影响。每一处理接种 20 个根段外植体, 重复 3 次, 培养基为 ZW + NAA 1.0 mg/L + 10% 椰子汁 + CH (水解酪蛋白) 2 g/L, 培养 4 周后调查假鳞茎诱导率和每个外植体所形成的假鳞茎的个数。试验结果表明 (表 1), BA 对鹤顶兰假鳞茎诱导有显著作用, 而 KT 和 ZT 的诱导作用不明显, 且 BA 对所诱导的外植体形成的假鳞茎个数也有极显著的影响, KT 和 ZT 只在 $p = 0.05$ 水平上有影响。

2.2 蔗糖、BA、NAA 对鹤顶兰假鳞茎诱导的影响 为了了解生长素、细胞分裂素、碳源对鹤顶兰假鳞茎诱导的影响, 找出各种因素的最佳组合, 设计了 $L_9(3^3)$ 正交试验。碳源选择蔗糖, 生长素选择 NAA, 细胞分裂素选择 BA。每个处理因素分别设置 3 个水平 (表 2), 每一处理接种 20 个根段外植体, 重复 3 次。培养基为 ZW + 10% 椰子汁 + CH 2 g/L, 培养 4 周后调查各项指标。

结果表明 (表 2), 细胞分裂素 BA 和生长素 NAA 均对鹤

顶兰假鳞茎诱导有极显著的影响, 能明显促进外植体形成假鳞茎, 蔗糖的作用不太明显。可见鹤顶兰原球茎的最佳诱导培养基应为: ZW + BA 1.0 mg/L + NAA 2.0 mg/L + 10% 椰子汁 + CH 2 g/L + 蔗糖 30 g/L。

表 1 不同细胞分裂素对鹤顶兰假鳞茎诱导的影响

处理	ZT mg/L	BA mg/L	KT mg/L	诱出假鳞茎数 个	假鳞茎诱导率 %
①	0.2	0.2	0.2	57.0	50.2
②	0.2	1.0	1.0	67.4	63.1
③	0.2	2.0	2.0	69.0	63.6
④	1.0	0.2	1.0	65.5	52.8
⑤	1.0	1.0	2.0	69.5	68.0
⑥	1.0	2.0	0.2	62.5	56.0
⑦	2.0	0.2	2.0	61.0	53.6
⑧	2.0	1.0	0.2	60.5	50.5
⑨	2.0	2.0	1.0	69.0	63.8
F 值	ZT			5.13*	1.90
	BA			10.36**	5.63*
	KT			6.18*	5.04*

注: * 为 $P < 0.05$, ** 为 $P < 0.01$ 水平的差异显著, 下表同。

表 2 蔗糖、BA、NAA 对鹤顶兰假鳞茎诱导的影响

处理	蔗糖 g/L	BA mg/L	NAA mg/L	诱出类原球 茎数//个	假鳞茎诱 导率//%
①	20	0.2	0.5	48.0	47.0
②	20	1.0	1.0	64.2	67.0
③	20	2.0	2.0	60.0	63.7
④	30	0.2	1.0	57.0	57.0
⑤	30	1.0	2.0	68.0	70.3
⑥	30	2.0	0.5	54.4	53.7
⑦	40	0.2	2.0	57.0	57.0
⑧	40	1.0	0.5	57.0	50.3
⑨	40	2.0	1.0	63.0	69.0
F 值	蔗糖			0.90	1.00
	BA			7.69**	4.78*
	NAA			9.23**	10.69**

注: 同表 1。

2.3 蔗糖、BA、NAA 对鹤顶兰假鳞茎增殖及幼苗分化的影响 假鳞茎的增殖和幼苗的分化关系到鹤顶兰繁殖速度的快慢, 繁殖系数的高低。将蔗糖、BA、NAA 设置为 $L_9(3^3)$ 正交试验 (表 3), 以找出适宜的增殖分化培养基。每一处接种 20

基金项目 湖南省林业厅基金项目 (99JJY20027)。

作者简介 曹受金 (1972 -), 男, 湖南衡阳人, 在读硕士研究生, 讲师, 从事园林植物育种方面的教学与研究工作。

收稿日期 2005-11-28

个切割后的原球茎,重复 3 次。培养基采用 ZW,培养 4 周后统计假鳞茎增殖个数和幼苗分化率。结果表明(表 3),BA 和 NAA 对鹤顶兰假鳞茎增殖都有极显著的影响,而 BA 则对幼苗的分化率有显著的影响。处理⑤所得到的增殖率和分化率最高,所以适宜的培养基应为:ZW + NAA0.5 mg/L + BA1.0 mg/L + 蔗糖 30 g/L。

表 3 蔗糖、BA、NAA 对鹤顶兰假鳞茎增殖及幼苗分化的影响					
处理号	蔗糖 g/L	BA mg/L	NAA mg/L	假鳞茎增殖 数//个	幼苗分化率 %
①	20	2.0	0.1	83.1	31.3
②	20	1.0	0.2	94.2	50.4
③	20	2.0	0.5	105.5	57.0
④	30	2.0	0.2	87.1	40.4
⑤	30	1.0	0.5	118.0	63.6
⑥	30	2.0	0.1	93.0	47.0
⑦	40	2.0	0.5	98.5	43.8
⑧	40	1.0	0.1	89.0	57.0
⑨	40	2.0	0.2	111.0	58.4
F 值	蔗糖			1.43	4.37*
	BA			7.15**	12.69**
	NAA			9.56**	2.48

注:同表 1。

2.4 GA 和番茄汁对鹤顶兰无根苗生根壮苗的影响 为探寻鹤顶兰无根苗生根壮苗的合适培养基,设置 4 种不同的培养基(表 4),培养基中均添加蔗糖 30 g/L,琼脂 7 g/L,pH 值 5.4。将大小达 3 cm 左右的无根苗切成单苗,接种到 4 个不同的生根培养基上,每种培养基接种 20 株,重复 3 次,培养 4 周后统计结果。

由表 4 可以看出,前 3 种培养基上瓶苗的根数明显比第 4 种培养基上多,苗也明显高,说明 GA 和番茄汁对鹤顶兰无根苗的生根均有显著的促进作用,且对幼苗的生长也有一定的促进作用。添加 GA 的培养基上苗根较长,苗明显较高,而

添加番茄汁的培养基上苗根和苗明显粗壮。可见,GA 有利于根茎纵向伸长,番茄汁更有利于根茎横向生长,两者的合理组配是形成鹤顶兰健壮瓶苗的关键。

表 4 GA 和番茄汁对鹤顶兰无根苗生根壮苗的影响									
处理号	培养基	NAA mg/L	GA mg/L	番茄汁 g/L	根数 根	根长 cm	根粗 cm	苗高 cm	茎粗 cm
①	1/2MS	1.0	1.0	200	5.0	2.5	0.27	4.5	0.25
②	1/2MS	1.0	1.0	0	4.5	2.6	0.18	5.1	0.19
③	1/2MS	1.0	0	200	4.0	1.5	0.29	3.9	0.26
④	1/2MS	1.0	0	0	2.0	1.0	0.19	3.5	0.21

注:同表 1。

3 结论

在鹤顶兰组培快繁过程中,细胞分裂素 BA 和生长素 NAA 均可促进假鳞茎的诱导和增殖,且 BA 对幼苗的分化也有极显著的影响,两者的适宜组配,再添加低浓度的蔗糖作碳源,就成为鹤顶兰假鳞茎诱导和幼苗分化的最适培养基,即:ZW + BA 1.0 mg/L + NAA 2.0 mg/L + 10% 椰子汁 + CH 2 g/L + 蔗糖 30 g/L;ZW + BA 1.0 mg/L + NAA 0.5 mg/L + 蔗糖 30 g/L。GA 和番茄汁对鹤顶兰无根苗的生根壮苗有明显的促进作用,从而确定生根壮苗培养基为:1/2MS + NAA 1.0 mg/L + GA 1.0 mg/L + 番茄汁 200 g/L。

参考文献

[1] 李云. 林果花菜组织培养快速育苗技术[M]. 北京:中国林业出版社, 2004:219-237.
[2] 刘青林,马伟. 花卉组织培养[M]. 北京:中国农业出版社,2003:104-128.
[3] 熊丽,吴丽芳. 观赏花卉的组织培养与大规模生产[M]. 北京:化学工业出版社,2002:125-129.
[4] 韦三立. 花卉组织培养[M]. 北京:中国林业出版社,2004:100-126.
[5] 谢为龙,谭群英. 热带兰组织培养以及病毒检测研究[J]. 植物检疫, 2003,8(6):338-339.
[6] 邵锡良. 中国兰花的茎尖组织培养[J]. 生物学教学,1999,24(10):37-38.

(上接第 865 页)

2.3 适时播种,精耕细作,提高出苗率 从 4 月上旬开始注意天气变化,提前 5~6 d 浸种催芽,尽量赶在冷尾暖头的晴好天气播种,以减少阴雨低温影响。另外要精细整地,尽力做到与育苗田标准相同,开好畦沟和中沟,畦宽 3.3 m 左右,待浮泥沉实后播种。

2.4 施足基肥,巧施追肥,促进壮秆大穗高结实 从表 2 的试验资料中可以看出,浙辐 001 在播种 75 kg/hm²、施氮素 190.5 kg/hm² 时,平均实产 8 023.5 kg/hm² 稻谷。也就是说每 100 kg 稻谷需施纯氮 2.37 kg,目标产量 8 000 kg/hm²,则需施纯氮 189.6 kg/hm²。安徽省水稻氮磷钾施肥的比例约为 3:1:2.5,依此可知,需施磷素 63.2 kg/hm²,钾素 158 kg/hm²,分别折合尿素(46%)412 kg/hm²,过磷酸钙(12%)526.7 kg/hm²,氯化钾(60%)260 kg/hm²。施肥方法上,有条件的农户,施 15 t/hm² 有机肥,磷肥全部作基肥,氮肥、钾肥各 50% 作基肥,基肥施后耕翻。追肥:尿素 1 叶 1 心期施 10% 断乳肥,3 叶期施 20% 促蘖肥,拔节期施 10% 壮秆肥,孕穗中期施 10% 保花肥;钾肥按同样比例与尿素配合追施,追肥时保持表层湿润或浅水。

2.5 合理排灌,适时促控 直播早稻前期温度低,以增温保湿为主,播种后直至 4 叶期不要上水,只要保持湿润即可,遇旱时晚上灌水,早晨排掉,阴雨天排水不让田面积水。4 叶期后上浅水促分蘖,够苗时烤田,即达 480 个/m² 左右的茎蘖苗时烤田,采取逐步加重的多次烤田方法,以防后期倒伏。烤后干湿交替,抽穗前 15~5 d、抽穗后 5~15 d 灌 2 次浅水,之后干干湿湿,收割前 7 d 左右断水。

2.6 病虫害综合防治 病虫害防治除了用农业、生物、物理等方法防治外,还应根据情况采用化学农药防治。直播早稻病虫害主要有纹枯病、稻蓟马、三化螟、二化螟、稻纵卷叶螟等,要注重查治。稻蓟马在叶尖初卷期,用 10% 蚜虱净 300 g/hm² 防治,螟虫类用 95% 杀螟 2000 粉剂 750 g/hm² 或 90% 杀虫单粉剂 750 g/hm² 对水 900 kg/hm² 喷雾防治。孕穗期重点防治纹枯病,用 20% 井岗霉素粉剂 750 g/hm² 对水 900 kg/hm² 防治,连续防治 2~3 次,每次间隔 7 d 左右。

除草是直播早稻的关键,宜在 2 叶 1 心期后,用 36% 灵秀粉剂 750 g/hm² 或 30% 秧田一次净粉剂 600 g/hm² 对水 1 200 kg/hm² 均匀喷雾,并注意保持表土湿润。