

生根阶段组培微环境变化对蝴蝶兰组培苗驯化的影响

尤海波, 毕洪文, 谭巍

(黑龙江省农业科学院园艺分院, 哈尔滨 150069)

摘 要: 在生根阶段对蝴蝶兰组培苗进行不同蔗糖、CO₂浓度和光照处理后, 影响蝴蝶兰组培苗的驯化过程的植株生长和光合生理。研究表明, 提高组培环境中 CO₂浓度有效改善组培苗的光合能力利于组培苗的移栽适应性。

关键词: 蝴蝶兰; 驯化; 组培苗

中图分类号: S682.31; S603.6 **文献标识码:** B **文章编号:** 1001-0009(2007)03-0159-03

组培苗移栽驯化是组培快繁的最后一个环节, 组培环境和移栽后外界环境的差异, 常会造成组培苗在驯化过程中的损失, 这也是限制组培快繁技术进一步扩大商业应用的因素之一^[1, 2, 3]。常规的植物组织培养中, 幼苗处于混合营养状态, 即自养和异养。一些研究表明, 改变组培微环境, 包括光强、CO₂浓度、培养基蔗糖浓度等, 使其更接近自养条件, 可以缓解移栽时试管苗面临的压力, 加速驯化^[4, 5, 6]。

试验以蝴蝶兰组培苗为试材, 通过改变组培环境中的光照强度、CO₂浓度、培养基蔗糖浓度, 研究其对蝴蝶兰组培苗移栽驯化过程中植株生长、光合生理及抗氧化防御系统相关酶活性的影响, 以期通过对移栽驯化生理的研究, 为更有效地减少组培苗在驯化过程中的损失提供理论依据, 使快繁技术得到更广泛的应用。

1 材料与方法

1.1 材料与处理

试验于 2005 年在黑龙江省农科院园艺分院农业科技园区组培室进行。将未生根的蝴蝶兰(*Phalaenopsis sp*)组培苗分别转接到添加 10%蔗糖和 30%蔗糖的生根培养基上, 并设置光照强度为 18.75 μ mol/m²/s 和 31.5 μ mol/m²/s 两种和 CO₂ 350 μ L/L、700 μ L/L 两种浓度。培养容器采用带滤纸的封口膜封口, 光照度通过控制生物镉灯高度进行调节, CO₂浓度通过强制换气系统控制。生根温度为(25 \pm 2) $^{\circ}$ C, 光照时间 12 h, 环境中相对湿度为 70%, 生根培养 50d 后, 各处理分别取大小一致的苗 100 株, 移栽到消过毒的苔藓中, 于园区智能化温

室中驯化。移栽后 30d 测定各项生理指标。

表 1 试验因素水平			
处理	蔗糖浓度 (%)	CO ₂ 浓度 (μ L/L)	光强 (μ mol/m ² /s)
1(A ₁ B ₁ C ₁)	10	350	18.5
2(A ₁ B ₁ C ₂)	10	350	31.5
3(A ₁ B ₂ C ₁)	10	700	18.5
4(A ₁ B ₂ C ₂)	10	700	31.5
5(A ₂ B ₁ C ₁)	30	350	18.5
6(A ₂ B ₁ C ₂)	30	350	31.5
7(A ₂ B ₂ C ₁)	30	700	18.5
8(A ₂ B ₂ C ₂)	30	700	31.5

注: A 代表蔗糖浓度, B 代表 CO₂浓度, C 代表光强。

1.2 测定方法

1.2.1 生长形态指标测定 移栽 30d 后, 各处理分别随机取样 5 株测定鲜重、干重、叶宽、根长和叶数。

1.2.2 叶片色素含量测定 移栽 20d 后测定, 用分光光度法测定。

1.2.3 净光合速率测定 分别于移栽当日、第 5、15、30d 测定净光合速率。采用极谱氧电极法测定。

1.2.4 抗氧化酶系统相关酶活性的测定 过氧化物酶(POD)活性的测定: 紫外分光光度法测定, 蛋白测定按裴林—酚方法; 超氧化物歧化酶(SOD)活性的测定: 参照李合生(2001)和吴正先(2003)的方法, 蛋白测定按裴林—酚方法。

2 结果分析

2.1 不同组培生根环境对植株移栽驯化过程中生长的影响

生根培养 50d 后, 蝴蝶兰组培苗移栽到苔藓中, 于智能化温室中驯化。各处理移栽成活率均可达 90%以上。移栽 30d 后, 植株在生长形态的差异见图 1、2、3。从图 1 可得, 处理 8 具最大鲜重值, 但与生根培养结束时相比, 各处理间的差异已明显减小。除处理 1 和处理 5 两个低 CO₂浓度的处理鲜重较低外, 其他处理间差异不大。

第一作者简介: 尤海波, 女, 1976 年生, 硕士, 助理研究员, 主要从事花卉组织培养研究工作。

基金项目: 黑龙江省自然科学基金课题 编号: C2004-19。

收稿日期: 2006-11-20

图2显示了移栽30d后各处理间的差异。除了生根阶段增加光照同时提高CO₂浓度的处理其干物质含量在驯化末期显著高于低光低CO₂处理外,与其他处理间差异均不明显。这与移栽初期有很大的不同,即生根培养结束时蝴蝶兰组培苗在干物质含量上的差异主要来自于培养基中蔗糖含量对其的影响,而移栽过程中蔗糖的影响逐渐消失。

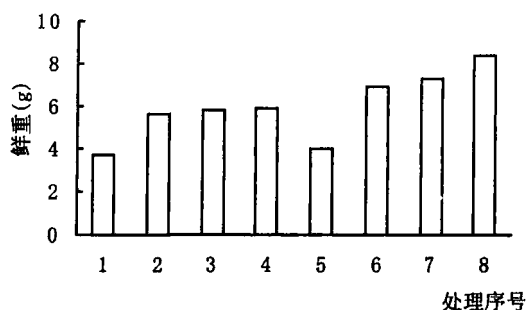


图1 生根阶段蔗糖、CO₂浓度和光强对蝴蝶兰组培苗移栽后30d后鲜重的影响

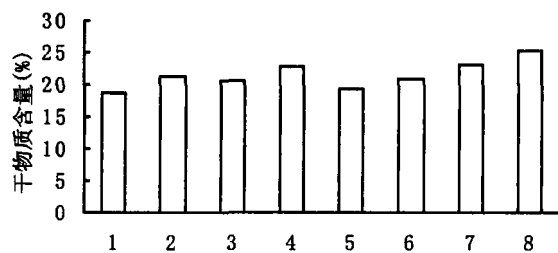


图2 生根阶段蔗糖、CO₂浓度和光强对蝴蝶兰组培苗移栽30d后干物质百分含量的影响

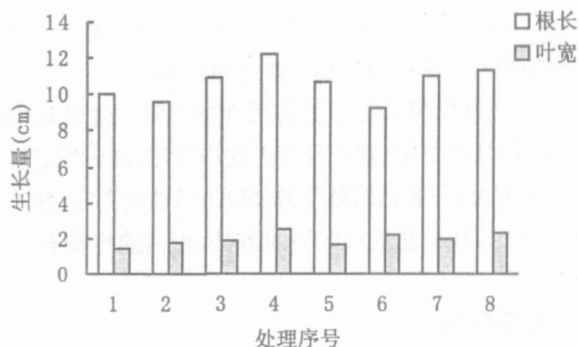


图3 生根阶段蔗糖、CO₂浓度和光强对蝴蝶兰组培苗移栽30d后根长、叶宽的影响

图3显示了移栽30d后,植株根长和叶宽上的差异。处理4和处理8具有根长的最高值,其他处理间的差异不是很大,与生根培养结束时类似。生根时低光、高CO₂浓度条件培养的植株和所有高光条件下培养的植株叶宽的差异在移栽驯化过程中逐渐消失,而处理2

和处理6的叶宽值相对较低。

2.2 不同组培生根环境对植株移栽驯化过程中叶片色素的影响

蝴蝶兰组培苗移栽至温室,驯化20d后叶片叶绿素含量各处理间不存在明显差异(图4)。

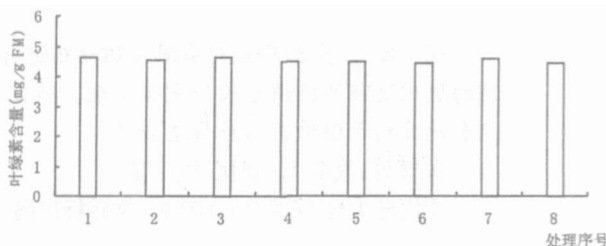


图4 生根阶段蔗糖、CO₂浓度和光强对蝴蝶兰组培苗移栽20d时叶绿素含量的影响

2.3 不同组培生根环境对植株移栽驯化过程中光合速率的影响

从图5可以看出,生根阶段蔗糖、CO₂浓度和光强对蝴蝶兰组培苗移栽驯化过程中净光合速率的影响。结果表明,移栽初期,生根时于两种光强下无糖培养的植株光合速率均有轻微的下降,然后再上升。这与蔗糖处理的植株表现不同。高浓度CO₂培养的植株在移栽后的一段时间内,都保持有较高的净光合速率。移栽驯化后期,各处理间差异不明显。与生根培养结束时相比,驯化末期各处理植株的净光合速率都有了显著提高。

2.4 不同组培生根环境对植株移栽驯化过程中抗氧化酶活性的影响

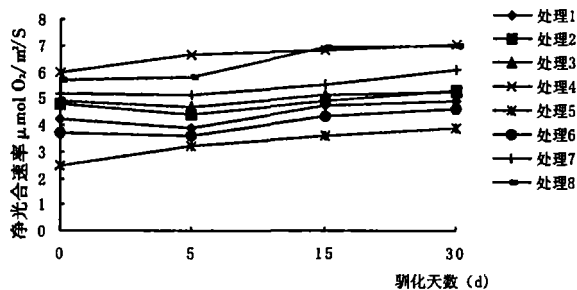


图5 生根阶段蔗糖、CO₂浓度和光强对蝴蝶兰组培苗驯化阶段光合速率的影响

生根阶段不同条件培养的蝴蝶兰苗移栽驯化过程中抗氧化酶活性变化如图6、7所示。图6显示了过氧化物酶活性的变化,图7显示了超氧化物歧化酶活性的变化。生根培养结束时有蔗糖供应的处理,SOD活性显著高于无糖处理,移栽15d时各处理活性均显著增加,无糖培养的植株SOD活性增加幅度较大。并且两种光照条件下都以增加了CO₂浓度的无糖处理增幅最显著。

各处理间 SOD 活性差异与移栽时相比已减小。低光条件下, POD 的活性以无糖处理的植株较高, 并以处理 3

最高。高光条件下, 以处理 2 植株的 POD 活性最高, 也是所有处理的最高值。

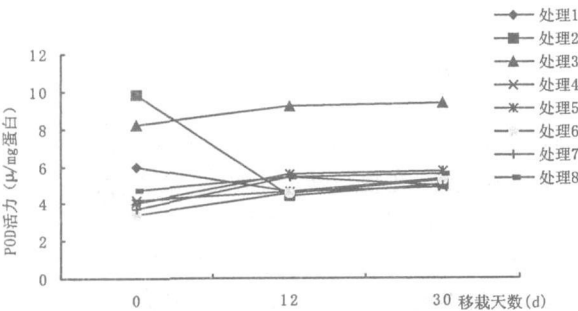


图 6 生根阶段蔗糖、CO₂ 浓度和光强对蝴蝶兰组培苗驯化阶段 POD 活性的影响

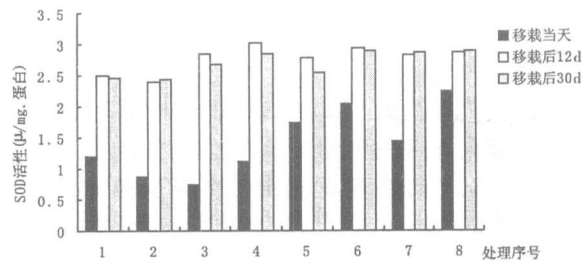


图 7 生根阶段蔗糖、CO₂ 浓度和光强对蝴蝶兰组培苗驯化阶段前期 SOD 活性的变化

3 结论

移栽初期由于组培阶段环境条件的改变对植株生长的影响在一定程度上延续, 但随驯化时间的延长, 处理间的差异逐渐减小。

在相同的环境条件下驯化 20 d 后, 植株的叶绿素含量差异逐渐消失, 无糖培养的植株在移栽后, 光合有所下降, 然后上升, 有糖培养的处理光合没有下降, 说明蔗糖在移栽过程可降低组培苗对环境的敏感性。

驯化前期, 高 CO₂ 浓度环境中培养的植株有较高的光合速率, 说明生根阶段高 CO₂ 浓度有效地改善了组培苗的光合能力, 利于提高组培苗的移栽适应性。

参考文献:

[1] 肖玉兰 张立力, 张光怡, 等. 非洲菊无糖组织培养技术的应用研究 [J]. 园艺学报 1998 25(4): 408 410.
[2] 徐志刚 丁为民, 丁永前, 等. 规模化组培苗设施环境与控制的研究进展 [J]. 农业机械学报 2001, 32(5): 62 64.
[3] 李进进. 蝴蝶兰根段的组织培养 [J]. 植物生理学通讯, 2000, 36(1): 37.
[4] 史跃林. 组培苗的生育环境与调节 [J]. 植物生理学通讯, 1990(3).
[5] Carvalho LC., Osorio ML., Chave MM. & Amancio S. Chlorophyll fluorescence as an indicator of photosynthetic functioning of in vitro grapevine and chestnut plantlets under ex vitro acclimatization [J]. Plant Cell Tissue and Organ Culture 2001, 67: 271 280.
[6] Genot C, Coudert A, Amalric G Sall AH. Effects of micropopagation conditions of rose shootlets on chlorophyll fluorescence. Photosynthetica. 1999, 36: 1 2, 243 251.

The Influence Taken Root a Stage Set an Micro environment Change on Tissue Culture Seedlings of Moth orchid to tame to Turn a Stage

YOU Hai bo, BI Hong wen, TAN Wei

(Horticulture Sub - academy, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150069)

Abstract: After carrying on experiments of adding different cane sugar's intensive, carbonic anhydride intensive and into tissue culture seedlings in rhizogenesis period of Moth orchid, three factors had obvious influenced on plant growth and photosynthetic capacity. Results showed that increase carbonic anhydride intensive in tissue culture microenvironments could obviously improve photosynthetic capacity to tissue culture seedlings, and help them improve adaptability after being transplanted.

Key words: Moth orchid; A cclimatization; Tissue culture seedlings