

# 影响文心兰原球茎增殖生长诸因素的研究

杨金凤, 李 旭, 廉美兰, 朴炫春

(延边大学 长白山生物功能因子省部共建教育部重点实验室, 吉林 延吉 133002)

**摘 要:**以文心兰茎尖为外植体, 诱导原球茎, 并对影响原球茎增殖的几种因素进行了研究。结果表明: 文心兰茎尖在  $1/2\text{ MS}+\text{BA } 2\text{ mg/L}+\text{NAA } 0.3\text{ mg/L}$  培养基上, 离体培养大约 30 d 后产生原球茎; 原球茎在  $1/2\text{ MS}+\text{BA } 1\text{ mg/L}+\text{NAA } 0.2\text{ mg/L}$  培养基上增殖速度最快, 增殖系数可达 2.6; 与果糖和葡萄糖相比, 蔗糖更有利于原球茎增殖; 30 g/L 的蔗糖对原球茎增殖生长有促进作用。

**关键词:**文心兰; 原球茎; 组织培养

**中图分类号:** S 682.31; S 603.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2009)03-0165-03

文心兰(*Oncidium*), 又名舞女兰、瘤瓣兰等, 是兰科文心兰属植物, 属于热带复茎性陆生兰<sup>[1]</sup>。该属植物全世界原生种多达 750 种以上, 原产于美洲热带地区的巴西、美国、哥伦比亚及秘鲁等国家, 商业上千姿百态的品种多是杂交种。文心兰花型多变, 花色鲜艳, 花期长达 1~3 个月<sup>[2]</sup>, 与秋石斛、万代兰并列为三大洋兰切花系列, 适合于各种场合的摆设。近年来, 作为盆花和切花的生产量均急剧增加, 文心兰同蝴蝶兰及大花蕙兰一样, 作为主要的洋兰生产种, 市场需求量越来越大, 呈现出供不应求的局面<sup>[3-4]</sup>。文心兰同其他兰科植物一样, 按照传统的分株繁殖方法, 繁殖系数较低, 因而利用植物组织培养技术进行快繁是实现种苗工厂化较为理想的方法<sup>[5]</sup>。在前人工作的基础上, 采用文心兰原球茎进行组织培养, 探讨不同类型的培养基对原球茎增殖的效果及影响, 为提高其组培种苗的商业化生产效率提供技术参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

从 2 a 生盆栽文心兰母株上, 切取叶片尚未展开的幼苗。除去外层叶片, 暴露侧芽, 用自来水冲洗 30 min, 剥去最外面的一层叶鞘, 在 70% 酒精中浸 30 s 后立即置 2% 次氯酸钠溶液中浸泡 20 min (其间不时用手轻轻摇动容器), 取出后用无菌水冲洗 3 次, 然后在无菌条件下剥取顶芽或侧芽作为外植体, 切取 0.5~1.0 mm 的茎

尖。将其接种到在一定激素配比的培养基上。培养温度  $(25\pm 2)^{\circ}\text{C}$ , 相对湿度 70%, 光照 1 600 lx, 每天光照 16 h, 大约 30 d 后外植体开始膨大并形成原球茎。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 NAA 对原球茎形成的影响** 将外植体接种在以  $1/2\text{ MS}$  为基本培养基的培养基上, 添加  $\text{BA } 2\text{ mg/L}$ ,  $\text{NAA}$  设 5 个浓度梯度: 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 mg/L, 共 5 个处理组合。每种培养基配制 250 mL, 分 5 瓶, 每瓶接 1 个茎尖, 重复 5 次, 培养温度  $(25\pm 2)^{\circ}\text{C}$ , 相对湿度 70%, 光照 1 600 lx, 每天光照 16 h, 30 d 后从中选出最有利于茎尖成活、原球茎形成率最高的一种。

**1.2.2 不同 NAA 浓度对原球茎增殖的影响** 原球茎的增殖关系到文心兰繁殖速度的快慢和繁殖系数的高低。为了加快繁殖速度设计以下试验。现以  $1/2\text{ MS}$  为基本培养基,  $\text{BA } 1\text{ mg/L}$ ,  $\text{NAA}$  设 5 个浓度梯度: 0.1、0.2、0.3、0.4 mg/L, 共 5 个处理组合。选取生长均匀一致的文心兰原球茎团块于超净工作台上分割成  $0.5\text{ cm}\times 0.5\text{ cm}$  大小的切块, 每培养瓶中接入原球茎 200 mg, 在无菌条件下称重后接入培养容器, 每处理重复 5 次, 培养温度  $(25\pm 2)^{\circ}\text{C}$ , 相对湿度 70%, 光照 1 600 lx, 每天光照 16 h, 40 d 后调查成活及增殖情况。

**1.2.3 糖种类对原球茎增殖的影响** 在  $1/2\text{ MS}+\text{BA } 1\text{ mg/L}+\text{NAA } 0.2\text{ mg/L}+\text{琼脂 } 7\text{ g/L}$  培养基中分别加入 30 g/L 的果糖、葡萄糖、蔗糖进行培养, 培养方法和培养条件同 1.2.2。

**1.2.4 蔗糖浓度对原球茎增殖的影响** 在筛选蔗糖作为增殖最佳碳源的前提下, 调整培养基中蔗糖浓度, 分别设置为 10、30、50、70 g/L 4 个处理, 培养方法和培养条件同 1.2.2。

**1.2.5 数据分析** 利用 SAS (Statistical Analysis System, Cary, NC, USA) 程序, 采用邓肯氏新复极差法进行

**第一作者简介:** 杨金凤(1983), 女, 在读硕士, 主要从事植物组织培养与生物技术方面的研究工作。E-mail: yjf19830224@126.com。

**通讯作者:** 朴炫春(1963), 男, 教授, 现主要从事生物技术在园艺中的应用研究工作。

**基金项目:** 国家自然科学基金资助项目(30860176)。

**收稿日期:** 2008-10-25

比较, 显著水平  $P \leq 0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 原球茎的诱导

原球茎是兰花组织培养中所产生的特有现象, 属于植物的第4种再生方式。它可以增殖, 也能分化为芽, 原球茎可理解为缩短的, 呈球粒状的, 由胚性细胞组成的, 类似嫩茎的器官<sup>[9]</sup>。将茎尖接种在以上5种培养基上, 15 d后观察到茎尖开始萌动, 25 d在茎尖基部出现了类似愈伤组织样的乳状突起, 继续培养逐渐转为绿色, 30 d后可陆续产生桑果状的原球茎团。由表1可知, NAA的浓度对文心兰原球茎的诱导影响较大。不同浓度的NAA均表现出一定的诱导数, 在一定浓度范围内(0.1~0.3 mg/L), 诱导数随NAA浓度的提高而增加, 当NAA浓度为0.3 mg/L时, 诱导的原球数为30个, 当NAA浓度增至0.4 mg/L, 诱导数反而下降, 对文心兰来说诱导原球茎的最佳NAA浓度为0.3 mg/L。

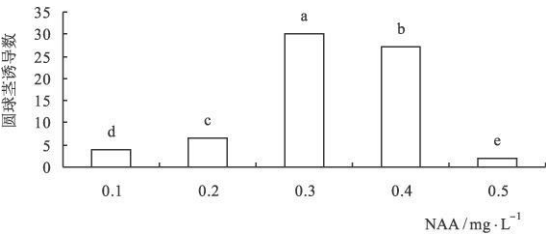


图1 不同浓度的NAA对原球茎诱导的影响  
注: 不同小写字母表示差异达0.05显著水平, 下同。

2.2 不同浓度的NAA对原球茎增殖的影响

在培养基的各种成分中, 生长激素的作用最大<sup>[7]</sup>, 由表1可知当BA的浓度固定时, NAA的浓度不同, 原球茎增殖速度也不同。在NAA为0.4 mg/L的培养基中, 原球茎颜色为浅黄色, 生长势较弱, 在NAA为0.2 mg/L的培养基中, 原球茎的颜色浓绿, 长势较强。结果表明, 在含有NAA高浓度的培养基中, 原球茎增殖的速度反而最慢, 即较高浓度的NAA对原球茎的增殖有抑制作用。当NAA的浓度为0.2 mg/L, BA为1.0 mg/L时, 原球茎的增殖速度最快。

表1 不同浓度的NAA对原球茎增殖的影响

NAA / mg · L <sup>-1</sup>	鲜重 / mg	干重 / mg	增殖系数
0	363 e	30 e	0.8 e
0.1	689 b	69 b	2.4 b
0.2	715 a	90 a	2.6 a
0.3	472 c	42 c	1.4 c
0.4	425 d	39 d	1.1 d

2.3 糖种类对原球茎增殖的影响

糖在植物组织培养中占有非常重要的地位, 无论哪种培养基配方均需加入一定量的糖。而且不同的品种及外植体的诱导和分化需要不同种类的糖。糖种类对

文心兰原球茎增殖的影响见表2。果糖、葡萄糖和蔗糖处理对文心兰原球茎的增殖有显著差异, 生长在蔗糖中的原球茎增殖速度较快, 原球茎一直保持旺盛的增殖生长, 体积增加较为明显, 增殖形成的原球茎颜色为鲜绿色。鲜物重和干物重在葡萄糖和蔗糖处理间没有显著差异, 且均显著优于果糖处理。调查过程中发现果糖处理玻璃化苗的发生率较高, 葡萄糖处理也有玻璃化苗的发生。综合评价, 文心兰原球茎增殖碳源选择蔗糖最好, 其次是葡萄糖。这可能由于经高压消毒后, 蔗糖大部分分解为D-葡萄糖、D-果糖, 葡萄糖和果糖同时被植物吸收利用, 培养基中葡萄糖和果糖的同时存在比两者中的一种单独存在更有利于培养物吸收。

表2 糖种类对原球茎增殖的影响

糖种类	鲜重 / mg	干重 / mg	增殖系数
蔗糖	823 a	107 a	3.1 a
果糖	562 b	32 b	1.8 c
葡萄糖	769 a	102 a	2.9 b

2.4 蔗糖浓度对原球茎增殖的影响

由表3可知, 蔗糖浓度对原球茎的增殖有较大影响。除蔗糖浓度为10 g/L处理外, 其余处理的原球茎均有明显的增殖, 蔗糖浓度是10 g/L时原球茎玻璃化现象严重, 这可能是由于过低的糖浓度影响培养基的渗透压, 从而引起玻璃化现象严重。且随着蔗糖浓度的增加, 原球茎增殖系数是依次降低的。在原球茎增殖过程中, 当蔗糖浓度为30 g/L时, 原球茎一直保持旺盛的增殖生长, 体积增加较为明显, 原球茎颜色呈鲜绿色, 增殖系数可达3.1。蔗糖浓度是70 g/L时原球茎颜色呈淡黄色或黄褐色, 并有部分原球茎在培养过程中有褐化死亡现象。综合评价, 培养基中蔗糖浓度为30 g/L较为合适。

表3 蔗糖浓度对原球茎增殖的影响

蔗糖浓度 / g · L <sup>-1</sup>	鲜重 / mg	干重 / mg	增殖系数
10	261 d	21d	0.3 d
30	821 a	64 b	3.1 a
50	680 b	68 a	2.4 b
70	412 c	57 c	1.1 c

3 讨论

利用植物组织培养技术进行快速繁殖是实现文心兰种苗工厂化生产的理想途径, 是实现文心兰产业持续发展的有效手段, 为了建立文心兰原球茎大量增殖体系, 该试验以文心兰茎尖为外植体, 诱导原球茎, 并对影响原球茎增殖的几种因素进行了研究, 通过试验研究, 掌握了文心兰茎尖诱导原球茎和原球茎增殖较为理想的培养基配方。结果表明NAA浓度对文心兰原球茎的诱导影响较大, 在NAA 0.1~0.3 mg/L范围内, 原球茎诱导数随NAA浓度的提高而增加, 当NAA浓度为0.3 mg/L时, 诱导的原球数最多, 但当NAA浓度增至

0.4 mg/L, 诱导数反而下降。植物生长调节剂的种类和配比是决定组培芽分化和生长的重要因素, 不同植物、不同发育阶段对此要求不同<sup>[8]</sup>。对于兰科植物, 生长调节剂浓度、种类及不同组合对外植体的诱导, 绿芽的诱导及生长起着主要作用。KT 和 NAA 配合使用对喙蕊兰叶片诱导效应极好<sup>[9]</sup>。Seeni 和 Latha 提出, BA 在兰花组织培养中叶诱导和芽增殖起着重要作用<sup>[10]</sup>, 谷祝平认为, 较高浓度的 BA 能促进大花蕙兰原球茎的增殖, 较低浓度 BA 则能促进原球茎的分化<sup>[11]</sup>。在该试验中文心兰原球茎以添加 0.2 mg/L 的 NAA 和 1.0 mg/L 的 BA 增殖效果最佳。一般认为, 糖在植物组织培养中作为碳源为植物细胞提供合成新化合物的碳骨架, 供给外植体能量, 同时可以维持一定的渗透压, 起着调节可利用水分从而控制水势变化的作用<sup>[12]</sup>。大多数植物组织培养除蔗糖外, 在葡萄糖、果糖为碳源时也能良好生长。该试验结果表明, 30 g/L 蔗糖最适合于文心兰原球茎增殖培养, 葡萄糖次之, 但在果糖培养基中原球茎生长不良, 且有玻璃化现象发生, 不适合作为文心兰原球茎增殖的碳源使用。

#### 参考文献

[1] 陈心启, 吉占和. 中国兰花全书[M]. 北京: 中国林业出版社, 1998.

226.

[2] 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, 1996: 154-155.

[3] Santana G E, Chaparro K. Clonal propagation of *Oncidium* through the culture of floral bud[J]. *Acta Horticulture* 1997, 482: 315-320.

[4] Prasshart B, Madhurt S. In vitro regeneration of *Oncidium* Gower Ramsey by high frequency PLBs proliferation[J]. *India Journal of Plant Physiology*, 1997, 2(1): 10-14.

[5] Kerlally G B. Plant regeneration of *oncidium varicosum* by means of root tip culture[J]. *Plant Cell Reports* 1984, 3(1): 21-29.

[6] 谭文澄, 戴策刚. 观赏植物组织培养技术[M]. 北京: 中国林业出版社, 1991: 60-69.

[7] 杨增海. 园艺植物组织培养[M]. 北京: 农业出版社, 1987: 41.

[8] 王衍安, 徐瑛, 王志武. 培养条件对墨兰组培芽增殖和生长的影响[J]. *山东林业科技*, 1999(2): 15-17.

[9] Vij S P, Anil S, Plaha K K. Propagation of *Rhynchostylis retusa* BL. (Orchidaceae) by direct organogenesis from leaf segment culture[J]. *Bot Gaz*, 1984, 145(2): 210-214.

[10] Seeni S, Latha P G. Foliar regeneration of the endangered Red vanda, *Renanthera imschootiana* Rolfe[J]. *Am Orchid Soc Bul*, 1976, 45: 1022-1024.

[11] 谷祝平, 延挺进. 大花蕙兰茎尖组织培养及其形态建成研究[J]. *实验生物学报*, 1989, 22(2): 149-151.

[12] 张彦妮. 影响植物组织培养成功的因素[J]. *北方园艺*, 2006(3): 117-119.

## Study on Several Factors Affecting Protocorm-Like Body of *Oncidium in vitro*

YANG Jin-feng, LI Xu, LIAN Mei-lan, PIAO Xuan-chun

(Key Laboratory of Organism Functional Factors of the Changbai Mountain, Ministry of Education, Yanbian University, Yanji, Jilin 133002, China)

**Abstract:** In order to establish propagation system of protocorm-like body (PLB) in *Oncidium* during tissue culture, the meristem was used as explants for inducing PLB, the result showed that after cultured in vitro for one month, the shoot of *Oncidium Luridum* cvs could generate PLBs on culture medium involving 1/2MS, BA (2 mg/L) and NAA (0.3 mg/L). PLBs had the fast proliferation speed on culture medium involving 1/2MS, BA (1 mg/L) and NAA (0.3 mg/L), K-factor could reach to 2.6. Compared to fructose and glucose, sucrose was best for the proliferation of PLBs; and the sucrose concentration of 30 g/L could promote the growth of PLBs.

**Key words:** *Oncidium*; Protocorm-like body; Tissue culture

### 茄 子 妙 用

- 1 茄子秸 90 g, 水煎服, 每日 2~3 次可治咳嗽、气喘。
- 2 生白茄子 30~50 g, 煮后去渣, 加蜂蜜适量, 每日 2 次分服, 可治年久咳嗽。
- 3 白茄根 25 g, 木防己根 15 g, 筋骨草 15 g, 水煎服, 可治风湿关节痛。
- 4 茄蒂放在火盆里燃烧, 用纸做一个喇叭状筒子, 大口罩住烧着的茄蒂, 小口对着患者无名肿痛处, 让盆中燃烧的茄蒂烟熏, 每日 3~4 次, 患处未成脓者即消, 已成脓者很容易收斂。
- 5 茄子根煎水, 趁热熏洗患处, 可治冻疮。
- 6 生茄子切开, 擦患部, 可治蜈蚣咬伤和蜂蜇。