

冬凤兰工厂化快速繁殖和移栽技术研究

林 洪 君

(云南农业职业技术学院 云南 昆明 650031)

摘 要: 用冬凤兰花梗作外植体, 进行试管繁殖, 筛选出各培养阶段适宜的培养基。结果表明: 类原球茎增殖和分化最佳培养基为 $1/2MS+2.0\text{ mg/L } 6\text{-BA}$; 生根培养基为 $1/2MS+0.3\text{ mg/L NAA}$; 移栽基质以腐熟树皮移栽的成活率最高。

关键词: 冬凤兰; 快速繁殖; 移栽

中图分类号: S 682.31 文献标识码: A 文章编号: 1001-0009(2011)12-0116-02

冬凤兰(*Cymbidium dayanum*)是大花蕙兰的一个品种, 既有国兰的幽香典雅, 又有洋兰的富贵气。花期持久, 具有极高的观赏价值, 而且还具有食用、药用和食品添加等方面的价值, 在我国有极大的发展前景, 但我国作为年宵花卉栽培的冬凤兰的种苗主要从国外进口。现利用组织培养技术, 快速繁殖名贵花卉冬凤兰, 通过改变激素的种类、浓度或增加其它营养成分(如香蕉汁、白糖), 探索冬凤兰的组织培养的最佳条件和最适方式, 旨在为其快繁及工业化生产提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试材是从澳大利亚进口的优良盆栽冬凤兰新抽生的植株。灭菌方法: 切取冬凤兰的花梗中部作为外植体。用洗衣粉刷洗表面, 经自来水冲洗干净后, 花梗剪成长约 3 cm, 再用 75% 的乙醇浸泡 10 s, 放入 0.1% 的升汞溶液中杀菌 10 min, 然后用无菌水冲洗数次。在无菌条件下切成 5 mm 小块, 将其接种到诱导培养基上培养。经 5~6 周的培养, 在外植体周围形成新的类原球茎组织和小芽, 此时将新形成的组织切成数块继续转入增殖培养阶段, 收集原始数据, 并在 20 d 后观测数据结果, 计算出分化率与增殖率, 再经 3~4 周培养后, 可形成更多的组织, 试管苗高达 23 cm 左右, 将长至 2~3 cm 的小苗从基部切下, 转到生根培养基中, 每瓶接 15 株, 经过 3 个月的培养, 可长成 10~15 cm, 具 6 片叶以上的生根小苗, 至根长 2~4 cm 左右的大苗时移栽。

1.2 试验方法

1.2.1 培养基类型对诱导的影响 3 种培养基分别为 VW 培养基、MS 培养基和 $1/2MS$ 培养基, 配制时均采用 22 g/L 白糖、4.5 g/L 琼脂和 100 g/L 香蕉汁(使

用组织没有被破坏的熟香蕉制成)。进行不同培养基类型对冬凤兰类原球茎增殖和分化的影响时, 每种培养基接种 15 瓶, 共 3 个处理, 3 次重复, 培养 15 d 后, 每组随机抽取 10 瓶进行增殖率计算, 筛选最佳培养基。

1.2.2 白糖与蔗糖对冬凤兰类原球茎增殖和分化的影响 采用 $1/2MS$ 培养基, 配制时 A 组白糖 22 g/L, B 组采用蔗糖 22 g/L, 其它条件相同, 每种培养基接种 20 瓶, 共 2 个处理, 3 次重复, 培养 20 d 后进行增殖率计算。

1.2.3 6-BA 和 NAA 浓度对诱导的影响 采用 $1/2MS$ 培养基, 6-BA 浓度为 0.5、1、2 mg/L, NAA 浓度为 0、0.3、0.6 mg/L, 共 9 个处理组合。每个处理组合培养基接种 30 瓶。

1.2.4 生根培养基试验 采用 $1/2MS$ 培养基, 激素采用 NAA 和 IBA 分别为 0.1、0.3、0.6 mg/L 6 个处理。每种培养基接种 35 瓶, 3 次重复, 每组随机抽取 10 瓶, 统计生根数、根长和根粗。根长和根粗用游标尺测出。筛选最佳生根培养基激素浓度。

1.2.5 试管苗的移栽基质试验 在温室内, 将装有试管苗的瓶盖打开, 24 h 后, 即可取出试管苗, 洗净根际的培养液, 4 种培养基分别用腐殖土、腐熟树皮、腐殖土:沙=1:1 或腐殖土:椰子壳=2:3, 在相同温度、相同湿度的情况下移栽, 筛选出最佳移栽基质。

1.3 培养条件

将接种在培养基上的冬凤兰外植体放置在培养箱内, 培养温度为 $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$, 光照强度 1 500 lx, 每天 10~12 h。

2 结果与分析

2.1 不同培养基对冬凤兰类原球茎增殖和分化的影响

由表 1 可知, 在 $1/2MS$ 培养基中用 2.0 mg/L 6-BA 诱导的冬凤兰的类原球茎, 其增殖率为 162.03%、分化率高达 91.3%, 效果显著, 明显高于另外 2 种培养基。表明 $1/2MS$ 最有利于冬凤兰的外植体分化出类原球茎, 也有利于原球茎分化出幼芽。

作者简介: 林洪君(1971-), 女, 硕士, 现主要从事园林植物栽培及组织培养研究与教学工作。E-mail: linhuijun000@tom.com。

收稿日期: 2011-03-25

表 1 不同培养基对类原球茎增殖和分化的影响

培养基	接入类原球茎质量/g	15 d后类原球茎质量/g	分化出幼芽类原球茎数/个	增殖率/%	分化率/%
VW	2.73	5.27	8	93.04 bc	62.50 bc
MS	2.85	6.21	11	117.89 bc	69.23 b
1/2MS	2.66	6.97	16	162.03 a	91.30 a

注:不同小写字母表示差异在 0.05 水平显著。培养基中均加入了 2.0 mg/L 的 6-BA、1 000 mg/L 的肌醇、22 g/L 白糖、4.5 g/L 琼脂和 100 g/L 的香蕉汁,下同。

2.2 白糖与蔗糖对冬凤兰类原球茎增殖和分化的影响

试验采用 1/2MS 培养基,A 组采用白糖 22 g/L,B 组采用蔗糖 22 g/L,加入 6-BA 2 mg/L,其它条件相同。由表 2 可知,A 组与 B 组差异并不大,从成本考虑,采用了白糖做碳源比较合适。

表 2 白糖与蔗糖对冬凤兰类原球茎增殖和分化的影响

培养基	接入的原球茎重量/g	培养 20 d 后原球茎总质量/g	增殖率/%
A	2.83	8.45	198.58
B	2.57	7.73	200.07

2.3 不同激素种类和浓度对冬凤兰类原球茎增殖和分化的影响

由表 3 可知,2.0 mg/L 的 6-BA 单一激素诱导的类原球茎增殖率为 200.97%;而 2.0 mg/L 的 6-BA+0.3 mg/L 的 NAA 复合激素类原球茎增殖率为 203.27%。虽然后者更有利于增殖,但二者差异不大。进行工业化生产应采用 2.0 mg/L 的 6-BA 来降低成本。

表 3 激素种类和浓度对冬凤兰类原球茎增殖和分化的影响

NAA+6-BA /mg·L ⁻¹	接入类原球茎重量/g	培养 20 d 后原球茎总质量/g	增殖率/%
0+0.5	2.69	5.01	86.24 cd
0+1	2.81	6.35	125.97bc
0+2	3.10	9.33	200.97a
0.3+0.5	2.56	5.07	98.05 c
0.3+1	2.48	6.43	159.27b
0.3+2	3.05	9.25	203.27a
0.6+0.5	2.45	4.72	92.65 c
0.6+1	2.39	5.92	147.70bc
0.6+2	3.23	8.59	165.94b

注:采用 1/2MS 培养基,其中 0+2.0 mg/L 的处理诱导的类原球茎在 15 d 左右最早开始启动。

2.4 不同激素种类和浓度对冬凤兰无根苗生根的影响

由表 4 可知,NAA 对冬凤兰无根苗生根的影响,

不管在生根率、生根的数量、根的长度,还是在根的粗壮度等几个方面都要高于 IBA。而 0.3 mg/L NAA 的诱导生根效果为最佳,生根率达到 92.31%。

表 4 NAA、IBA、IAA 对冬凤兰根苗生根的影响

激素	接入无根苗数	20 d 后生根苗数	生根率	根数	根长	根粗	
	/个	/个	/ %	/个	/cm	/ cm	
NAA	0.1	24	20	83.33 ab	4.6	2.4	0.22
	0.3	26	24	92.31a	5.5	3.2	0.30
	0.6	25	21	84.00ab	4.8	2.3	0.25
IBA	0.1	23	18	78.26 b	3.3	1.7	0.20
	0.3	20	16	80.00 b	4.0	2.2	0.23
	0.6	21	15	71.43 c	2.8	2.3	0.19

2.5 冬凤兰试管苗的移栽

在冬凤兰的组织培养中,试管苗的移栽是关键。由表 5 可知,以腐熟树皮为培养基质,在自然光室内温度保持在 20~25℃,湿度 80%~90%,光照强度 10 000 lx 以内,培养 2~3 周就可以进行正常管理。成活率可达 95%以上,效果最好。

表 5 不同培养基质对移栽苗成活率的影响

基质	接入数/株	成活数/株	成活率/%
腐植土	300	148	49.3 d
腐植土:沙=1:1	300	231	77.0 cd
腐植土:棉子壳=2:3	300	275	91.7 ab
腐熟树皮	300	289	96.3 a

3 结论

冬凤兰的组织培养近几年国内外有一些报道,在大多数冬凤兰的组织培养的研究中,外植体的处理方法和试管苗的培养条件都非常相似。而该试验对外植体的选取和碳源做了改进,外植体用花梗的茎段,这样有利于脱毒与检测;利用白糖代替蔗糖,降低了生产成本,适合工厂化生产的要求。

参考文献

[1] 卢思聪.兰花栽培入门[M].北京:金盾出版社,1995.
[2] 谭文澄,戴策刚.观赏植物培养技术[M].北京:中国林业出版社,1997:237-239.
[3] 谷祝平,颜延进.大花蕙兰茎尖组织培养及其形态建成的研究[J].实验生物学报,1989,22(2):149-155.
[4] 刘明志,朱京育.培养基、BA 和复合添加物对大花蕙兰增殖和分化的影响[J].暨南大学学报,2001,21(3):100-105.
[5] 吴晓霞,姜敦云,崔月花.大花蕙兰组织培养和快速繁殖[J].植物生理学通讯,2002,21(4):141.
[6] 朱艳,胡军,秦民坚,等.冬凤兰的快速繁殖技术研究[J].中国野生植物资源,2000(6):57-59.

Study on the Factorizational Propagation of *Cymbidium dayanum*

LIN Hui-jun

(Yunnan Vocational and Technical College of Agriculture, Kunming, Yunnan 650031)

Abstract: Using the bennet of *Cymbidium dayanum* as the explants, then cultured in tubes. The results showed that optimum medium for multiplication and differentiation of protocorm were 1/2MS+2.0 mg/L 6-BA, optimum medium for foots were 1/2MS+0.3 mg/L NAA, Decomposed bark had highest survival rate of transplanting.

Key words: *Cymbidium dayanum*; rapid propagation; transplanting