

影响春兰杂交兰‘宋梅’×‘集圆’组培苗生根的因素

于永畅¹, 张林², 王厚新², 李承秀², 牛田¹, 王长宪²

(1. 山东农业大学 林学院, 山东 泰安 271018; 2. 泰山林科院, 山东 泰安 271000)

摘 要:以杂交兰‘宋梅’×‘集圆’组培苗为试材,系统研究了基本培养基、植物生长调节剂、有机附加物、活性炭浓度4种因素对其芽生根的影响,以解决国兰传统繁殖方法繁殖速度慢的问题。结果表明:MS培养基为杂交兰芽生根的最佳培养基;植物生长调节剂浓度对比对芽生根率影响显著,在含NAA 3.0 mg/L+6-BA 0.1 mg/L的培养基上芽生根效果最好;有机附加物对芽生根有促进作用,椰汁对杂交兰生根效果最好;活性炭可以提高芽生根率,最佳浓度为3.0 g/L。

关键词:杂交兰;培养基;生长调节剂;生根率;影响因素

中图分类号:S 682.31 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)07-0066-03

春兰为兰科兰属地生兰,又称草兰、山兰、朵香等,花径直立,花小而芳香,是我国兰属植物中分布最广、最常见、最受人们喜爱且栽培历史最悠久的一种兰花^[1]。‘宋梅’为春兰中的典型梅瓣花,被誉为春兰“四大天王”之首。‘集圆’同为春兰“四大天王”之一,因其长势旺盛,容易着花,故在“四大天王”中为流传最广之珍品^[2]。通过杂交的方法,集二者优势于一体,是培育优良新品种的主要途径之一。但传统的分株繁殖速度慢,而且许多名品受环境影响成活率低,难以满足人们对国兰新奇品种的追求^[3]。自1960年法国人Morel^[4]利用兰花茎尖分生组织诱导分化出植株以来,组织培养技术在兰花快速繁殖中得到广泛应用。至20世纪末,国内的国兰组织培养技术逐步兴起,并对一些品种的增殖、诱导、继代

培养进行了广泛研究^[5-7],但对生根培养的研究报道不多。该试验研究了影响春兰杂交兰芽生根的若干因素,以期建立高效国兰组培苗生根技术体系,推动国兰工厂化育苗提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为泰山林科院生物技术中心提供的春兰品种‘宋梅’×‘集圆’种胚萌发获得的无根组培苗为外植体,选择生长良好的组培苗进行试验。

1.2 试验方法

试验于2012年在泰山林科院中韩兰花育种中心组培室进行。

1.2.1 基本培养基对组培苗生根的影响 以MS、1/2MS、H为基本培养基,加入蔗糖20 g/L+琼脂7 g/L, pH 5.6~5.8。将生长均匀、苗高3 cm左右的无根组培苗接种到上述培养基中。

1.2.2 植物生长调节剂对组培苗生根的影响 以MS+蔗糖20 g/L+琼脂7 g/L为基本培养基成分,添加不同浓度的激素配比进行比较,6-BA浓度为:0.1、0.2、

第一作者简介:于永畅(1987-),男,山东泰安人,硕士,研究方向为园林植物遗传育种。E-mail: yyc6335@163.com

责任作者:王长宪(1959-),男,山东平阴人,硕士,研究员,研究方向为园林植物遗传育种。E-mail: changxianwang@163.com

基金项目:国家公益性行业科研专项资助项目(201004080)。

收稿日期:2012-12-13

Abstract: Taking *Handeliodendron bodinieri* seeds as test materials, the effects of different storage conditions under different treatments in room temperature and dry storage, 4°C and dry storage, 4°C and sand storage on relative electric conductivity, MDA content, SOD activity and soluble sugar content et al of physiological and biochemical characteristics during storage of *Handeliodendron bodinieri* seeds were studied. The results showed that 4°C and dry storage was favorable for extending the storage life of *Handeliodendron bodinieri* seeds. The relative electric conductivity, MDA and soluble sugar content of seeds in 4°C and dry storage were less than the content of room temperature and dry storage and 4°C and sand storage. But the SOD activity in 4°C and dry storage was higher than the activity of the other two treatments. The correlation coefficient among storage conditions and relative electric conductivity, MDA content and SOD activity all reached 0.5 above. So that could be as the evaluation index of seed storage.

Key words: *Handeliodendron bodinieri*; seed; physiological characteristics; storage

0.3 mg/L, NAA 浓度为: 2.0、3.0、4.0 mg/L, 以 6-BA 与 NAA 2 个激素组合进行培养。

1.2.3 有机附加物对组培苗生根的影响 以 MS+蔗糖 20 g/L+琼脂 7 g/L 为基本培养基成分, 分别添加土豆泥 100 g/L、香蕉泥 100 g/L、椰子汁 100 mL/L, 将组培苗接种到含不同有机附加物的培养基中培养。

1.2.4 活性炭对组培苗生根的影响 MS+NAA 2.0 mg/L+6-BA 0.2 mg/L+蔗糖 20 g/L+琼脂 7 g/L 为基本培养基成分, 培养基中活性炭浓度分别设定为 2、3、4 g/L。将组培苗接种到上述培养基中培养。

1.2.5 培养条件 试验均在温度(25±2)℃, 光照时间 14 h/d, 光照强度 2 000 lx 下培养。各处理 3 次重复, 每瓶接种 10 个组培苗, 观察组培苗生根情况, 100 d 后记录生根的苗数、根长等相关数据。

1.3 数据分析

采用 Excel、DPS、SPSS 18.0 统计分析软件进行最后结果的处理。生根率=分化出根的苗数/接种苗数×100%。

2 结果与分析

2.1 基本培养基对杂交兰生根的影响

由表 1 可知, 接种芽在 MS 培养基中生根时间最早, 且生根率最高, 为 86.67%; 在 1/2MS 培养基和 H 培养基中生根时间相同, 生根率均低于 MS 培养基, 但三者差异不显著, 说明 3 种培养基均适合芽的生根培养。但不同培养基中, 芽的生根数及根长不同, 1/2MS 培养基中芽的每株根数最多(1.16 条), 但平均根长最短, 为 2.41 cm。MS 培养基平均根长最大, 为 3.66 cm, 其次为 H 培养基(2.75 cm)。因此, 从生根率、每株根数、平均根长等因素综合考虑, MS 培养基更适合杂交春兰芽的生根培养。

表 1 不同培养基对杂交兰生根的影响

培养基 种类	接种芽数 /个	生根时间 /d	生根率 /%	每株根数 /条	平均根长 /cm
1/2MS	30	17	83.33±0.0333a	1.16±0.0333a	2.41±0.1667a
MS	30	14	86.67±0.0333a	1.10±0.0577ab	3.66±0.5833a
H	30	17	80.00±0.0577a	0.93±0.0882b	2.75±0.8036a

注: 表中数据为平均值±标准误, 不同小写字母表示显著差异(P<0.05)。下同。

2.2 植物生长调剂对杂交兰生根的影响

各培养基上接种的芽在第 15 天左右大多分化出不同数量的根, 100 d 后进行统计观察。结果表明, 6-BA 浓度梯度对生根的影响不显著(Sig.=0.683>0.05), NAA 浓度梯度对生根的影响也不显著(Sig.=0.272>0.05), 二者浓度组合对芽生根效果显著(Sig.=0.037<0.05)。当 NAA 浓度为 2.0 mg/L, 6-BA 浓度为 0.3 mg/L 和 NAA 浓度为 3.0 mg/L, 6-BA 浓度为 0.1 mg/L 时生根

效果最好, 为 86.67%, 可见过高或过低的 NAA/6-BA 比都不利于生根。随着 NAA 浓度的增加, 每株根数逐渐减少, 而根长逐渐增加, 可见 NAA 浓度对调节根的生长有重要作用。总体看来, NAA 浓度对生根的影响要高于 6-BA, 二者浓度对比对芽生根起着至关重要的作用, 最佳浓度配比为 NAA 3.0 mg/L+6-BA 0.1 mg/L。

表 2 NAA、6-BA 对杂交兰生根的影响

处理号	激素浓度/mg·L ⁻¹		接种芽数 /个	生根时间 /d	生根率 /%	每株根数 /条	平均根长 /cm
	NAA	6-BA					
1	2	0.1	30	14	76.67	1.80	2.88
2	2	0.2	30	13	70.00	1.73	3.87
3	2	0.3	30	16	86.67	1.53	3.17
4	3	0.1	30	14	86.67	1.60	3.87
5	3	0.2	30	16	76.67	1.47	3.50
6	3	0.3	30	13	66.67	1.10	2.70
7	4	0.1	30	17	80.00	1.27	4.67
8	4	0.2	30	18	83.33	1.13	2.33
9	4	0.3	30	17	83.33	1.40	3.13

表 3 杂交兰生根率方差分析

源	III 型平方和	df	均方	F	Sig.
校正模型	0.110	8	0.014	2.056	0.097
截距	17.440	1	17.440	2 616.056	0.000
6-BA	0.005	2	0.003	0.389	0.683
NAA	0.019	2	0.009	1.389	0.272
6-BA×NAA	0.086	4	0.021	3.222	0.037
误差	0.120	18	0.007		
总计	17.670	27			
校正的总计	0.230	26			

注: $R^2=0.544$ (调整 $R^2=0.341$), 因变量为分化数。

2.3 有机附加物对杂交兰生根的影响

由表 4 可知, 添加有机附加物能提高杂交兰芽的生根率, 其中椰汁对提高芽生根率有较好的作用, 香蕉泥对生根数有较高影响, 而添加土豆泥和椰汁的培养基芽的根最长, 可见, 添加附加物对杂交兰生根均起到一定作用。综合来看, 添加椰汁对杂交兰生根效果最好。

表 4 有机附加物对杂交兰生根的影响

附加物 种类	接种芽数 /个	生根时间 /d	生根率 /%	每株根数 /条	平均根长 /cm
无	30	14	73.33±0.0333a	1.10±0.2082a	2.33±0.1667a
香蕉泥	30	12	76.67±0.0333a	1.73±0.2404a	3.55±0.8505a
土豆泥	30	14	76.67±0.0333a	1.10±0.3512a	3.63±0.4807a
椰汁	30	14	83.33±0.0882a	1.10±0.1528a	3.63±0.0864a

2.4 活性炭(AC)浓度对杂交兰生根的影响

由表 5 可知, 杂交兰试管苗生根对 AC 浓度的适应能力较强, 在 2.0~4.0 g/L 的范围内生根率均在 90% 以上, 可见 AC 对生根有主要作用。但在根的质量上, 过高或过低的浓度都不利于根的生长, 3.0 g/L 的 AC 浓度下平均根数最多(2.76 条), 平均根长最长(6.16 cm), 因此, 最适合生根的活性炭浓度为 3.0 g/L。

表5 活性炭浓度对杂交兰生根的影响

AC 浓度 /g·L ⁻¹	接种芽数 /个	生根时间 /d	生根率 /%	每株根数 /条	平均根长 /cm
2.0	30	16	93.33±0.0333a	1.96±0.6667a	4.53±0.4969a
3.0	30	14	96.67±0.0333a	2.76±0.5897a	6.16±0.79493a
4.0	30	14	100.0±0.0000a	2.56±0.4177a	4.41±0.5833a

3 讨论与结论

基本培养基是植物组织培养的重要基质,国兰组织培养中常用的基本培养基有 MS、1/2MS、H、White、KC 等,由于各种植物的遗传特性、生物学特点等不同,培养基的选择也因品种和生长阶段而异^[8]。该试验发现 MS 培养基最适合春兰芽的生根培养,但已有报道^[9]认为 MS 培养基中幼苗叶片生长健壮,但根生长极差,建议将无根幼苗先在 MS 培养基中培养 4~6 周,然后转入 KC、W 培养基中培养。该试验只研究了幼苗在单一培养基中的生根情况,对培养基的交叉使用效果的影响尚需进一步研究。

生长调节剂的种类与浓度配比是影响春兰花芽分化的主导因子^[10]。目前常使用的生长调节剂主要是生长素类(如 IAA、NAA)和细胞分裂素类(如 6-BA、KT),一般认为 NAA/6-BA 比值大时促进生根,反之促进发芽。该试验发现杂交兰在 NAA 3.0 mg/L+6-BA 0.1 mg/L 时生根效果最好,支持上述说法。

一些天然有机物质,如椰子汁、香蕉泥、马铃薯泥等由于营养丰富,具有缓冲培养基 pH 的功能,被广泛应用于国兰的组织培养中。这些有机物质在国兰根状茎分化中的作用已被证实^[11],该试验结果表明,这些有机物质对提高杂交兰幼苗的生根率和根的生长同样起着重要作用,其中添加椰汁对根的生长效果最显著。

活性炭能吸附培养基中的有害物质,使培养基变黑促进培养物极性的发生,有利于植物的正常生长,但同时也会吸附加入的植物激素和其它营养物质,因此,合理使

用活性炭对于提高杂交兰根的生长有重要作用^[12]。该试验发现,最适合杂交兰生根的活性炭浓度为 3.0 g/L。

国兰的组织培养是一项极其复杂和精细的工作,影响生根的因素还很多,如外植体的大小、培养条件等。组培苗在生长过程中常出现的褐化、污染等问题也成为亟待解决的重要任务^[13]。随着兰花产业的发展,利用组培技术培育无毒苗将是今后兰花组培的新方向,加快组培苗分化、生根进程,缩短培育周期,必将使兰花产业走向新的辉煌。

参考文献

- [1] 卢思聪. 中国兰与洋兰[M]. 北京:金盾出版社,1994.
- [2] 许东生. 兰花赏培要诀[M]. 沈阳:辽宁科学技术出版社,2005.
- [3] 罗毅波. 国兰产业化发展中的几个问题[J]. 中国西部科技,2006(15):14-17.
- [4] Morel G. Producing virus free *Cymbidium*[J]. Am Orchid Soc Bull, 1960,29:495-497.
- [5] 孙芳,李承秀,张林,等. 春兰名品杂交后代快繁与分化研究[J]. 中国农学通报,2012,28(10):819-193.
- [6] 陈云喜,何丹丹,廖浩如,等. 影响墨兰×兔耳兰根状茎芽分化的因素[J]. 中国农学通报,2010,26(9):65-69.
- [7] 陈丽,潘瑞焱,陈汝民. 墨兰原球茎生长研究[J]. 热带亚热带植物学报,1999,7(1):65-64.
- [8] 徐程,詹忠根. 中国兰的组织培养[J]. 植物生理学通讯,2002,38(2):171-174.
- [9] 李子红,贾燕. 珍品兰花快速繁殖与养护[M]. 上海:上海科学技术出版社,2006.
- [10] 石乐娟,张放,张士良,等. 植物生长调节剂对线艺春兰根状茎的增殖与分化的影响[J]. 园艺学报,2006,33(4):887-890.
- [11] 李承秀,黄艳艳,赵进红,等. 建兰变种组培快繁试验研究[J]. 现代园林,2007,9(5):44-48.
- [12] 刘用生,李友勇. 植物组织培养中活性炭的作用[J]. 植物生理学通讯,1994,30(3):214-217.
- [13] 陈少珍,卜朝阳,闭志强,等. 兰花组织培养中常见问题及解决方法[J]. 广西农业科学,2006(1):72-74.

Some Influencing Factors of Root Differentiation of Seedlings in Hybridization of *Cymbidium goeringii* 'Songmei' × 'Jiyuan'

YU Yong-chang¹, ZHANG Lin², WANG Hou-xin², LI Cheng-xiu², NIU Tian¹, WANG Chang-xian²

(1. Forestry College, Shandong Agricultural University, Tai'an, Shandong 271018; 2. Taishan Academy of Forestry, Tai'an, Shandong 271000)

Abstract: Taking the seedlings from the hybridize seeds of *Cymbidium goeringii* 'Songmei' × 'Jiyuan' as test materials, the effects of basic medium, plant growth regulator, organic additives, and activated carbon concentration on the rooting rate of seedlings were studied, in order to solve the problem of the slow propagation speed in the traditional breeding methods of the Chinese orchid. The results showed that the most appropriate cultivating medium was MS. The plant growth regulator had a significant effect on rooting rate. The highest rooting rate was appeared on 3.0 mg/L NAA+0.1 mg/L 6-BA. The organic additives promoted the rooting rate of the seedlings. The activated carbon could improved the rooting rate and the best concentration was 3.0 g/L.

Key words: hybridization of *Cymbidium goeringii*; culture medium; plant growth regulator; rooting rate; influencing factors