

辐射诱变的线艺兰快繁技术体系研究

王玉英, 苏 畅, 李海燕, 李枝林

(云南农业大学 园林园艺学院花卉研究所, 云南 昆明 650201)

摘 要:以辐射诱变的线艺兰无菌丛芽为试材, 设置不同 BA、NAA 浓度, 研究了丛芽继代增殖、无根苗生根培养的快繁技术。结果表明: 1/2MS+BA 2.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L+香蕉泥 80 g/L 对丛芽的增殖效果最好, 增殖率为 310%, 1/2MS+NAA 1.0 mg/L+0.1% 活性炭诱导生根效果最好, 生根率达到 100%, 且植株长势健壮, 线艺艺性能够稳定遗传。

关键词:辐射诱变; 线艺兰; 快繁技术

中图分类号:S 682.31 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2015)23-0101-03

兰花是我国的传统名贵花卉, 其婀娜多姿的叶片具有很高的观赏价值。叶艺兰(线艺兰)是兰属(*Cymbidium*)植株的叶片上镶嵌着或金黄色、或银白色、或浓绿色、或朱红色、或墨黑的嘴、边、点、线、斑的中国兰统称^[1]。叶(线)艺兰品种以墨兰最多, 建兰次之, 春兰、蕙兰与寒兰较少。叶艺兰已有千年的栽培历史, 被誉为“花中君子”, 是珍贵的观赏花卉^[2]。叶(线)艺兰最早流行于日本, 培育出了“加冶屋”、“真鹤”、“瑞玉”等诸多品种; 近几十年在中国大陆流行, 虽然起步较迟, 但发展迅猛, 奇花、奇叶和矮种等各种变异类型层出不穷, 市场前景十分广阔。线艺兰由于叶片艳丽, 形态优美, 在国内外有极高声誉, 被誉为珍贵名花, 很受市场欢迎。

只有兰花遗传基因产生变异才能出现真正的叶(线)艺兰, 为可遗传的变异, 艺性才能够世代稳定遗传^[3]。辐射诱变育种是一种常用的育种手段, 可以创造更多的叶艺类型, 目前已在月季、菊花、美人蕉、大丽花、叶子花、荷花^[4]; 碧玉兰、西藏虎头兰、冬凤兰、竹叶兰^[5]; 墨兰^[6]; 兰花春剑隆昌素^[7]上应用, 并获得了多种突变体。然而, 中国叶(线)艺兰品系多从常规栽培手段获得, 并多采用分株繁殖法, 繁殖系数低, 加之栽培管理养

护不当, 常导致线艺基因退化或消失, 无法满足市场需求。李丽等^[1]建立了线艺建兰的组培快繁体系, 石乐娟^[8]报道了线艺春兰快繁的再生体系, 但辐射诱变的线艺兰快繁技术体系研究尚鲜见报道。现以辐射诱变的线艺兰的无菌丛芽为材料, 成功地培育出大量组培苗, 并能够使线艺艺性稳定遗传, 为这类线艺兰的组培快繁奠定了理论参考基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为‘TRIR-2’(叶尖和叶边缘为绿色, 叶片其它为白色的叶艺株系, 叶艺部分观赏价值较高、叶形较为优美)的组培苗丛芽。将素花虎头兰(*Cymbidium tracyanum* var *huanghua*)与黄蝉兰(*Cymbidium iridioides* D. Don)杂交, 获得 F₁ 杂交苗, 之后筛选出性状稳定、一致的 F₁ 株系, 在云南华源辐射有限公司进行⁶⁰Co γ 射线急性照射, 培育 2 年, 发现数株叶艺品系, 再经过 6 年的继代培养, 获得特异性状稳定的叶艺新品系, 命名为‘TRIR-2’, 其植株形态见图 1。

1.2 试验方法

1.2.1 丛芽增殖培养 将‘TRIR-2’嫩芽接种到继代增殖培养基上, 培养基为 1/2MS 附加各种激素(表 1)及 8% 的香蕉泥, 设置 6 个处理, 每个处理 3 次重复。60 d 后观察丛芽的增殖效果。培养条件: 温度(25±2)℃、光照强度 1 600 lx。

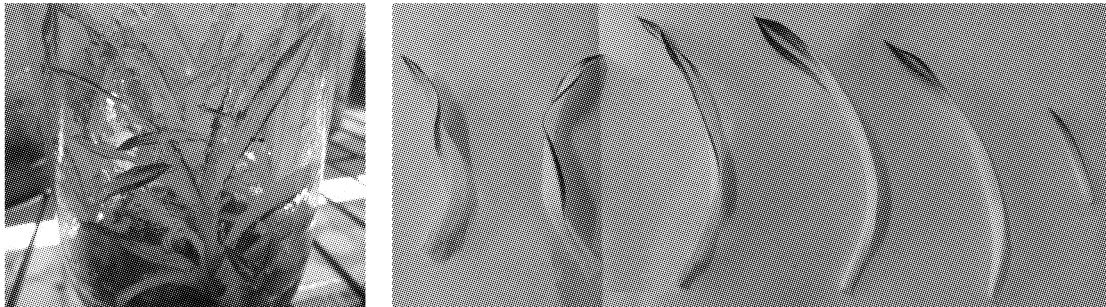
1.2.2 生根培养 将高 3.5~4.0 cm 的无根‘TRIR-2’兰苗体, 接种到含有不同浓度 NAA(表 2)和附加相同浓度碳粉的培养基中, 设置 5 个处理, 每处理 3 次重复。40 d 后观察兰株的生根情况。培养条件: 温度(25±2)℃、光照 1 600 lx。

第一作者简介:王玉英(1980-), 女, 云南大理人, 博士, 讲师, 现主要从事植物资源的利用和创新等研究工作。E-mail: wyysxp@126.com。

责任作者:李枝林(1955-), 男, 云南大理人, 硕士, 教授, 现主要从事观赏植物资源利用及创新等研究工作。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30160074); 云南省自然科学基金重点资助项目(2002C0003P); 云南省重点新产品开发资助项目(2012BB008); 云南农业大学园林园艺学院院级基金资助项目(2014001)。

收稿日期:2015-07-31



植株叶片由外层到内层

图1 ‘TRIR-2’的植株形态

Fig. 1 Plant morphologic characters of ‘TRIR-2’

1.3 数据分析

数据采用统计软件 SPSS (Inc., Chicago, IL, USA) 的方差分析(ANOVA)和 Duncan 的多重比较法进行分析。

2 结果与分析

2.1 不同激素处理对‘TRIR-2’丛芽增殖的影响

由表 1、图 2(A)可知,在 1/2MS 基本培养基中,附加 NAA 0.5 mg/L、香蕉泥 80 g/L 和不同激素处理对

表 1 不同处理对 ‘TRIR-2’丛芽增殖的影响

Table 1 The effect of different treatments on bud's proliferation of ‘TRIR-2’

处理 Treatment	培养基 Medium	接种数 Number of inoculation/个	丛芽总数 Number of buds/个	增殖率 Rate of proliferation/%
T1	1/2MS+0.5 mg/L NAA+80 g/L 香蕉泥+0.5 mg/L BA	50	120	140±10e
T2	1/2MS+0.5 mg/L NAA+80 g/L 香蕉泥+1.0 mg/L BA	50	135	170±8.7cd
T3	1/2MS+0.5 mg/L NAA+80 g/L 香蕉泥+1.5 mg/L BA	50	147	194±9.6c
T4	1/2MS+0.5 mg/L NAA+80 g/L 香蕉泥+2.0 mg/L BA	50	205	310±10a
T5	1/2MS+0.5 mg/L NAA+80 g/L 香蕉泥+2.5 mg/L BA	50	185	270±17b
T6	1/2MS+0.5 mg/L NAA+80 g/L 香蕉泥+3.0 mg/L BA	50	150	200±17c

注:同列相同字母表示差异不显著,不同的字母表示差异显著($P<0.05$)。下同。

Note: Different letters in the same column show significant difference at 0.05 level.

The same below.

表 2 不同处理对 ‘TRIR-2’生根的影响

Table 2 The effect of different treatments on rooting of ‘TRIR-2’

处理 Treatment	培养基 Medium	转接时根数 Number of roots	生根率 Rate of Root	生根情况 Rooting capacity		
		/条	/%	平均根数 Average number of roots/条	平均根长 Average length of roots/cm	平均根粗 Average width of roots/cm
T1	1/2MS+0.1%活性炭	0	3±1b			
T2	1/2MS+0.5 NAA mg/L+0.1%活性炭	0	100±0a	2.0±0.40	1.3±0.21	0.21±0.02
T3	1/2MS+0.7 NAA mg/L+0.1%活性炭	0	100±0a	2.5±0.50	2.0±1.00	0.18±0.03
T4	1/2MS+1.0 NAA mg/L+0.1%活性炭	0	100±0a	3.6±0.36	1.8±0.58	0.21±0.02
T5	1/2MS+1.5 NAA mg/L+0.1%活性炭	0	100±0a	3.4±0.51	1.5±0.17	0.23±0.02

丛芽增殖率的影响差异显著。T4 处理对‘TRIR-2’丛芽的增殖率分别显著高于 T5、T6、T3、T2 和 T1 处理 14.81%、55.00%、59.79%、82.35%和 121.43%($P<0.05$),且苗体长势正常,艺性稳定保持。因此,T4 处理为丛芽增殖的最佳配方。

2.2 不同生长素对‘TRIR-2’生根的影响

从表 2、图 2(B)可以看出,不同的培养基配方对‘TRIR-2’生根效果的影响差异显著。T2、T3、T4 和 T5 处理对‘TRIR-2’的生根率都达到 100%,显著高于 T1 处理($P<0.05$)。T4 处理下,生根情况最好,因此,该处理最适合‘TRIR-2’组培苗生根。T1 处理下,生根较少,且统计时有部分苗体已死亡,因此生根情况未进行统计。

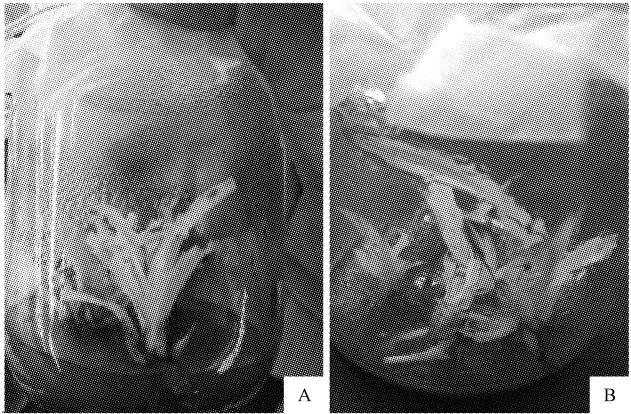


图 2 ‘TRIR-2’丛芽增殖(A)和植株生根(B)情况

Fig. 2 Bud's proliferation and rooting of ‘TRIR-2’

3 讨论

目前,组织培养分离、稳定突变体是较有效的一种方法^[5]。该试验采用组培离体技术,成功地培育出大量组培苗,并使得线艺性稳定遗传,证明组培是稳定突变体的一种有效方法。BA 在兰花组织培养中对叶诱导与芽增殖起着重要作用^[9],在线艺兰芽增殖培养过程,试验发现线艺兰芽增殖对 BA 较为敏感,不同浓度梯度的 BA 对芽的增殖效果差异显著,随着 BA 浓度从 0.5 mg/L 增加到 2.0 mg/L,BA/NAA 值 ≤ 4 时,丛芽增殖率呈现递增趋势;但当 BA 浓度达到 2.5 mg/L,BA/NAA 值 ≥ 5 时,丛芽增殖率显著下降,这可能是由于 BA 和 NAA 2 种激素互作促芽发生的效果产生了变化。生长素在根的培养中是必须的,KEBAUY^[10] 在卡德丽亚兰杂种根尖培养中进一步强调了生长素参与的重要性。在该试验中,不同浓度的 NAA 促使线艺兰生根率达 100%,但生根效果与 NAA 浓度增加呈现不一致趋势,生根效果出现峰值后下降,说明高浓度 NAA 对线艺兰生根有抑制作用;JIANG 等^[11] 报道碳粉能够促进植物生根和生长,因此该试验在生根试验阶段添加了 0.1% 的碳粉,但当培养基中无添加 NAA 时,植株几乎不长根且植株叶片发黄。因此,活性碳只有在合适的 NAA 浓度下,促生根和生长效果才明显。这与野生黄蝉兰无菌快繁的生根效果研究结果相符^[12]。

参考文献

- [1] 李丽,罗君琴,聂振鹏,等.线艺兰的组织培养及植株再生研究[J],浙江农业科学,2008(6):679-681.
- [2] 卢思聪.中国兰与洋兰[M].北京:金盾出版社,1994:34-39.
- [3] 王元东,赵久然,郭景伦,等.诱变育种在创造玉米新种质中的应用[J].北京农业科学,1999,17(2):2-16.
- [4] 陈子元.从辐射育种的发展来展望航天育种的前景[J].核农学报,2002,16(5):261-265.
- [5] 彭绿春,黄丽萍,余朝秀,等.四种兰花辐射育种研究初报[J].云南农业大学学报,2007,22(3):332-336.
- [6] 傅雪琳,张志胜,何平.⁶⁰Co γ 射线辐射对墨兰根状茎生长和分化效应研究[J].核农学报,2000,14(6):333-336.
- [7] 蒋彧,何俊蓉,刘非,等.⁶⁰Co γ 辐射兰花春剑隆昌素根状茎分化苗的 ISSR 分析[J].核农学报,2013,27(9):1247-1252.
- [8] 石乐娟.线艺春兰再生体系的优化及组织结构解剖学的研究[D].杭州:浙江大学,2006.
- [9] SEENI S, LATHA P G. Foliar regeneration of the endangered *Red vanda*, *renanthera imschootiana* Rolfe[J]. Plant cell, Tissue and Organ Culture, 1992, 29(3):167-172.
- [10] KEBAUY G B. *In vitro* conversion of *Cattleya* root tip cells into protocorm like bodies [J]. J Plant Physiol, 1991, 138:248-251.
- [11] JIANG J C, TAINTER F H. Micro propagation of short leaf, virginia and loblolly short leaf pine hybrids via organogenesis[J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 1991, 25(1):57-61.
- [12] 王玉英,李光宏,李志敏,等.野生黄蝉兰无菌快繁技术的研究[J].安徽农业科学,2013,41(28):11275-11277.

Study on Rapid Propagation Technique of *Cymbidium* With Verge Line Pattern Leaves Induced by Irradiation

WANG Yuying, SU Chang, LI Haiyan, LI Zhilin

(Insistute of Landscape Plants, College of Horticulture and Landscape, Yunnan Agricultural University, Kunming, Yunnan 650201)

Abstract: Taking *Cymbidium* with verge line pattern leaves induced by irradiation as test material, sterile buds were used as explants in tissue culture to study the influence of BA and NAA in different concentration, mashed bananas and activated carbon on their regeneration under 1/2MS basic medium. The results showed that 1/2MS+BA 2.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L+mashed bananas 80 g/L could make multiplication rate to be 310%. 1/2MS+NAA 1.0 mg/L+0.1% active carbon could make rooting rate to be 100% and plant grown healthily, while the verge line pattern leaves could be stable genetic.

Keywords: induced by irradiation; *Cymbidium* with verge line pattern leaves; rapid propagation