

兰科是植物界较大的一个科,蝴蝶兰属花器官形似蝴蝶,是最具有欣赏价值的属之一。20 世纪 60 年代,将兰属分生组织在旋转式摇床上用液体培养,形成小植株,小植株的叶片上有时会有圆球茎形成。之后,用叶片组织培养进行克隆繁殖的研究工作越来越多^[1~3]。把蝴蝶兰和万代兰幼苗叶片切成小块培养,容易诱导出原球茎,但从成年植株的叶片取得的小块不易产生原球茎^[3]。

蝴蝶兰花茎上的腋芽在一定环境条件下能萌发形成枝。将花茎切成小段,在无菌条件下培养,可以产生枝。推测这种试管中产生的叶片生理上较幼嫩,适合诱导圆球茎产生。本试验以这种生理上较为幼嫩的叶做外植体,研究不同激素的组合对诱导出圆球茎的影响,筛选理想的激素使用技术。

1 材料与方法

表 1 诱导花茎切段产生营养枝的培养基

组分	化学式	1 000 mL 中含量
磷酸钙	Ca ₃ (PO ₄) ₂	0.2g
硝酸钾	KNO ₃	0.525g
磷酸二氢钾	KH ₂ PO ₄	0.25g
硫酸镁	MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.25g
硫酸铵	(NH ₄) ₂ SO ₄	0.50g
硫酸锰	MnSO ₄ ·H ₂ O	0.0068
蔗糖		20.00g
琼脂		10.00g
水		985ml
BA		10 ng/kg
乙二胺四乙酸铁		5mL
(1, 14 g 100 mL)		

从 4~5 年生蝴蝶兰 (*Phalaenopsis amabilis*) 上取花茎,用 10% 漂白粉水溶液(加 3~4 滴吐温-20)浸泡 10 min(分钟)消毒,从上至下取第 1、2、3 节,每节 3 cm~4 cm(厘米)长,插入培养基中,节位与培养基表面持平。培养环境条件为:28℃,光照 500 lux(勒克斯),每日光照 16 h(小时)。培养基为 VW,稍有改动(表 1)。培养 2 个月,枝的第一片叶展开。无菌条件下从幼枝上取下幼叶,做切块,切块大小为 8×8 mm(毫米),切块植于固体培养基上,近轴面向上。基本培养基为 MS 加蔗糖 20 g/l(克/升),琼脂 10 g/l(克/升),再加以不同浓度的 NAA、BA、激动素和腺嘌呤组合,共设 10 个处理(表 2),每处理 20 个外植体。用 18×180 mm(毫米)试管做培养器皿,每支装 8 ml(毫米)培养基。接种后,用橡皮塞封口。培养条件:温度 25℃,光照 500 lux(勒克斯),每日光照 16 h(小时)。

2 结果与分析

培养 2 个月后,只在 MS 培养基中加 NAA 和激动素的情况下,不管 NAA 和激动素浓度多高,都不产生圆球茎。用 NAA、激动素和腺嘌呤时,也不产生圆球茎。NAA、BA 和腺嘌呤的组合,NAA 为 1 mg/kg(毫克/公斤)、腺嘌呤为 10 mg/kg(毫克/公斤)时,如果 BA 浓度为 1 mg/kg(毫克/公斤)或更

诱导蝴蝶兰叶片产生圆球茎的研究

刘 林

(临沂师范学院生命科学系,临沂 276005)

摘要:研究了不同的激素浓度对蝴蝶兰圆球茎形成的影响。先将花茎切段在试管中培养,诱导腋芽产生营养枝。从营养枝上取幼嫩叶片,以叶片切块为外植体,在 MS 培养基上培养,温度 25℃、光照 500 lux、每日光照 16 h(小时)的条件下,含有 1 mg/kg(毫克/公斤)NAA、10 mg/kg(毫克/公斤)腺嘌呤、10 mg/kg(毫克/公斤)BA 的培养基容易诱导圆球茎产生。

关键词:蝴蝶兰;圆球茎;激素

中图分类号:S682.31;S603.6 文献标识码:A 文章编号:1001-0009(2003)06-0051-01

小时,不产生圆球茎;BA 为 10 mg/kg(毫克/公斤)时,则产生圆球茎(表 2)。一个叶片组织块上产生的圆球茎数目从 1 个到 7 个不等。

表 2 不同浓度 NAA、腺嘌呤、BA 和激动素及其组合对圆球茎诱导的效果

基本培养基	培养基				结果 (产生原球茎的外植体数目)
	NAA ng/kg	激动素 ng/kg	腺嘌呤 ng/kg	BA ng/kg	
MS	1	2	0		0
MS	5	10	0		0
MS	10	10	0		0
MS	1	0	10		0
MS	1	0.1	10		0
MS	1	1	10		0
MS	1	10	10		0
MS	1		10	0.1	0
MS	1		10	0.5	0
MS	1		10	2	0
MS	1		10	10	8

在试管培养条件下,叶片组织细胞开始活动第一个特征是产生小的突起。小突起是叶的近轴面叶肉和表皮细胞分裂增生形成的,这些细胞具有旺盛的分生能力,很快发育成圆球茎。不需要更换培养基,圆球茎就可产生小植株。小植株可以转到用于培养不成熟种子的培养基上继续培养。圆球茎不会同时发育成小植株,将小植株转移后,圆球茎继续留在相同的培养基上培养,可得到大量增殖,一直到所需要数量为止。

在很多植物组织培养时,激动素与椰子汁可以交换使用。在本试验中,椰子汁对圆球茎的形成没有明显效果。

3 结论与讨论

蝴蝶兰花茎的茎节在无菌条件下培养长成的幼枝上的叶片切块做外植体,在 MS 培养基上培养,培养基中加 1 mg/kg(毫克/公斤)NAA、10 mg/kg(毫克/公斤)腺嘌呤、10 mg/kg(毫克/公斤)BA、1% 琼脂和 2% 蔗糖,容易产生圆球茎。该技术对大批量生产蝴蝶兰克隆苗有参考价值,为研究兰花生物学提供资料。

参考文献:

[1] Churchill ME, Ball EA, Arditti J. Clonal propagation of orchids from leaf tips. Amer Orchid Soc Bull 1971, 40: 109~113.
[2] Churchill ME, Ball EA, Arditti J. Tissue culture of orchid. I. Methods for leaf tips. NeW Phytol, 1973, 72: 161~166.
[3] Tanaka M, Hasegawa A, Goim. Studies on the clonal propagation of monopodial orchids by tissue culture. I. Formation of protocorm-like bodies from leaf tissue in Phalaenopsis and Vanda. J Japan Soc Hort Sci, 1975, 44(1): 47~58.

收稿日期: 2003-06-21