

蝴蝶兰组织培养快繁技术研究

邹金环¹, 赵大勇², 刘艳梅¹, 岳常彦¹, 徐嗣英¹

(1. 山东省东营职业学院农业工程系, 257091; 2. 山东省东营林业局, 257091)

摘要: 本试验对蝴蝶兰组织培养不同阶段的适用培养基和激素配比水平进行了筛选, 结果表明: 在蝴蝶兰花梗腋芽诱导中, 选用花宝(N-P-K: 6.5-6-19) 2.5 g/L(克/升)为基础培养基, 添加BA 3.0 mg/L(毫克/升)有利于对花梗腋芽诱导; 原球茎增殖培养以较低的无机盐浓度为好, 采用1.0 g/L(克/升)花宝为基础培养基, 添加2.0 mg/L(毫克/升)的6-BA和0.5 mg/L(毫克/升)的NAA, 原球茎的增殖系数2个月内能达5倍以上, 是最佳的原球茎增殖组合; 以2.7 g/L(克/升)的花多多1号(N-P-K: 20-20-20)为基础培养基, 添加0.1 mg/L 6-BA+0.5 mg/L(毫克/升)NAA, 植株生根率高, 根数多, 生根长, 是较为理想的生根培养基。

关键词: 蝴蝶兰; 组织培养; 培养基; 激素

中图分类号: S682.2⁺9; S603.6 文献标识码: B 文章编号: 1001-0009(2005)06-0086-02

蝴蝶兰(*Phalaenopsis*)又称蝶兰, 花大, 开花期长, 花色艳丽, 色泽丰富, 花形美丽别致, 深受世界各国人民的喜爱, 是兰科植物中栽培最广泛、最普及的种类之一, 被誉为“洋兰皇后”^[1], 目前是消费量较大的盆花之一^[2]。大规模种植蝴蝶兰种苗繁殖主要采用组织培养, 近几年来研究蝴蝶兰组织培养的报道有很多, 但蝴蝶兰组织培养的配方较乱, 我们试验借用他人的配方繁殖均不太理想。为了研究适合的配方, 我们重新设计方案, 对蝴蝶兰组培不同阶段的适用培养基和激素配比水平进行了筛选, 并获得了成功。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为东营职业学院植物组织培养中心种植的2个蝴蝶兰杂交品种大红袍和红唇美人, 花色分别为大红花和白花红唇。花梗来自这2个品种的当年生花茎, 幼叶、茎尖来自花梗培养所得试管苗内实生苗。

1.2 方法

1.2.1 材料处理 切取蝴蝶兰母株的花梗, 切割成2 cm~3 cm(厘米)长的切段, 用自来水冲洗20 min(分钟), 用70%酒精浸泡30 s(秒), 再用0.1% HgCl₂水溶液浸泡10 min(分钟), 然后用无菌水冲洗4~5次, 剪去茎段两端接触消毒的切口部分, 每个外植体带一个节, 按其自然生长方向接种到培养基上。将花梗培养中所得的试管内实生苗的叶片、茎尖作外植体接种到基本培养基上诱导原球茎并进行继代增殖。

1.2.2 初代培养 将蝴蝶兰花梗的外植体接种于添加BA的MS培养基上, 观察并记录外植体萌发率以选择适宜的培养基。

1.2.3 增殖培养 将初代培养抽出的小苗转接到MS继代培养基上。根据芽增殖情况来筛选适合蝴蝶兰继代培养的最适激素配比。

1.2.4 生根培养 继代培养产生的大量丛花芽转入适宜的MS生根培养基中, 根据苗的生根量, 株平均根数和根生长状况来选择适宜的激素配比和培养条件。

2 结果与分析

2.1 初代培养基的筛选

由于蝴蝶兰外植体接种后易褐变, 因此培养基的选择是关键, 为了找到诱导原球茎较好的培养基, 我们试用了3种

基本培养基, 如表1所示。

表1 不同培养基无机盐含量

| 培养基 | 无机盐及含量 |
|-----|----------------------------------|
| A | MS+花宝(N-P-K=6.5-6-19) 2.5 g/L |
| B | 1/3MS大量元素+MS微量元素 |
| C | MS+花多多1号(N-P-K=20-20-20) 1.9 g/L |

在这3种基本培养基中分别加BA 3.0 mg/L(毫克/升), EC值=2.0 pH值5.5~5.8。每种培养基接30瓶, 每瓶放入4~6个花梗腋芽置于散射光下, 培养温度25℃左右, 光照强度1500 Lx~2000 Lx(勒克斯), 3种培养基都能使花梗腋芽萌发。但不同培养基诱导效果不同(图1)。

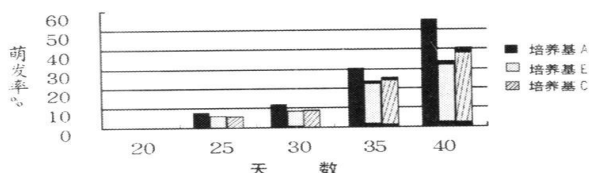


图1 在不同培养基上花梗腋芽的萌发率

(注: 萌发率=萌发芽数/腋芽总数×100%)

从图1可以看出不同培养基对花梗腋芽诱导作用各不相同, MS+花宝(N-P-K=6.5-6-19) 2.5 g/L+BA 3.0 mg/L(毫克/升)效果最好, 第40 d(天)诱导萌发率可达55%; 1/3MS大量元素+MS微量元素+BA 3.0 mg/L(毫克/升)培养基诱导效果最差, 第40 d(天)诱导萌发率为32%。因此, 蝴蝶兰腋芽诱导培养基用MS+花宝(N-P-K=6.5-6-19) 2.5 g/L+BA 3.0 mg/L(毫克/升)有利于花梗腋芽的诱导。

2.2 蝴蝶兰的增殖培养

表2 不同继代MS培养基花宝含量

| 培养基 | 花宝含量 | EC值 |
|-----|----------------------------|-----|
| D | 花宝(N-P-K=6.5-6-19) 2.2 g/L | 3.1 |
| E | 花宝(N-P-K=6.5-6-19) 1.8 g/L | 2.5 |
| F | 花宝(N-P-K=6.5-6-19) 1.4 g/L | 2.0 |
| G | 花宝(N-P-K=6.5-6-19) 1.0 g/L | 1.6 |

2.2.1 继代培养基的筛选 蝴蝶兰原球茎外观像瘤状愈伤组织, 表面球状物不明显, 在增殖过程中可见表面突起一个个圆球, 部分表面细胞分化出根毛状物。将原球茎置于不同无机盐含量培养基(培养基中均添加6-BA 2.0 mg/L(毫克/

升),培养基无机盐含量(见表2)中培养后,发现以培养基G处理组原球茎的增殖速度最快,原球茎生长势强,增殖倍数为8.5;培养基F处理组增殖速度次之,增殖倍数为4.2;培养基E处理组增殖速度为2.3;培养基D处理组最差,增殖倍数1.1。结果表明,蝴蝶兰原球茎增殖培养以较低无机盐浓度为好。

2.2.2 不同外源激素水平对蝴蝶兰增殖的影响 以添加花宝(N-P-K=6.5-6-19) 1.0 g/L(克/升)的培养基为基本培养基,分别添加不同浓度的6-BA和NAA。在无菌条件下,将原球茎取出切成(0.13±0.15)cm³的小块,接种到不同激素水平的培养基上培养,培养基pH值为5.5~5.8,光照时间12 h/d(小时/天),光照度1 500 Lx(勒克斯),培养温度为25℃。定期观察原球茎增殖情况,计算繁殖系数。

由表3可以看出原球茎状增殖在培养42 d(天)后已有较明显区别。BA为1.0 mg/L(毫克/升)增殖启动较早,但整体增殖水平以浓度2.0 mg/L(毫克/升)为最佳,增高或降低BA质量浓度,繁殖系数都会降低。NAA能促进原球茎的增殖,但对原球茎增殖启动较晚,浓度以0.5 mg/L(毫克/升)最好。在皆添加BA和NAA的培养基中,增殖启动均较早,持续期均较长,繁殖系数比单独添加BA或NAA的都高。

在F4:6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L(毫克/升)的培养基中,原球茎的增殖系数2个月内能达5倍以上,是最佳浓度组合。

表3 不同生长素水平对蝴蝶兰增殖的影响

| 编号 | 激素 (mg/L) | 繁殖系数 | | |
|----|--------------|------|------|------|
| | | 14d | 28d | 42d |
| F1 | BA1.0 | 2.33 | 2.87 | 3.02 |
| F2 | BA2.0 | 1.75 | 2.34 | 4.11 |
| F3 | BA5.0 | 1.66 | 1.97 | 2.69 |
| F4 | BA2.0+NAA0.5 | 2.11 | 2.60 | 4.32 |
| F5 | BA2.0+NAA1.0 | 2.20 | 2.84 | 4.88 |
| F6 | NAA1.0 | 1.47 | 2.21 | 3.01 |
| F7 | NAA2.0 | 1.58 | 2.17 | 3.22 |

(注:繁殖系数=(增殖数×接种数)/接种数)

2.3 蝴蝶兰瓶苗生根

2.3.1 生根培养基的筛选 为了提高试管苗移栽成活率,要求试管苗生根整齐而且粗壮,为了找到生根诱导较好的培养基,我们试用了3种基本培养基(主要是无机盐含量不同),见表4。在这3种基本培养基中分别加NAA0.3 mg/L(毫克/升),活性炭5 g/L(克/升),EC值=2.8, pH值5.5~5.8。每种培养基接30瓶,每瓶放入4~6株小苗,置于散射光,培养温度25℃左右,光照强度1 500~2 000 Lx(勒克斯),25 d(天)后,进行观察调查。

表4 不同培养基无机盐含量

| 培养基 | 无机盐及含量 |
|-----|----------------------------------|
| G | MS+花宝(N-P-K=6.5-6-19) 2.9 g/L |
| H | 1/2MS大量元素+MS微量元素 |
| I | MS+花多多1号(N-P-K=20-20-20) 2.7 g/L |

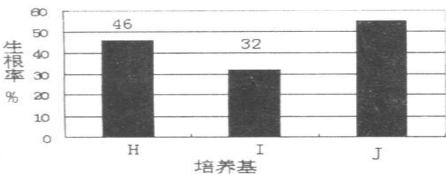


图2 不同培养基对小苗生根诱导率

图2结果表明,3种培养基都能使蝴蝶兰小苗生根,但不同培养基对小苗生根诱导效果不同。培养基花多多1号(N

-P-K=20-20-20)2.7 g/L(克/升)效果最好,最高达55%,培养基1/2MS大量元素+MS微量元素的诱导效果最差,为32%。因此,选择培养基花多多1号(N-P-K=20-20-20)2.7 g/L(克/升)为优良的生根基本培养基。

2.3.2 激素配比和水平对瓶苗生根的影响 以培养基花多多1号(N-P-K=20-20-20)2.7 g/L(克/升)为基本培养基,分别添加不同浓度的NAA(0.1 mg/L、0.5 mg/L、1.0 mg/L(毫克/升)),活性炭5 g/L(克/升),EC值=2.8, pH值5.5~5.8。将继代培养得到的蝴蝶兰小苗转入到各种生根壮苗基上,进行生根培养,置于散射光,培养温度25℃左右,光照强度1 500~2 000 Lx(勒克斯),30 d(天)后调查各培养基中的蝴蝶兰生根率、平均每株生根数,结果见表5。

表5 不同培养基蝴蝶兰生根情况

| NAA (mg/L) | 6-BA (mg/L) | 调查株数 (株) | 生根株数 (株) | 生根 率 | 总生根数 (根) | 平均根数 (根/株) | 平均根长 (cm) |
|---------------|----------------|-------------|-------------|---------|-------------|---------------|--------------|
| 0.3 | 0 | 50 | 39 | 78 | 156 | 4.7 | 0.57 |
| 0.5 | 0 | 50 | 45 | 90 | 174 | 5.1 | 1.21 |
| 1.0 | 0 | 50 | 41 | 82 | 114 | 3.8 | 1.01 |
| 0.3 | 0.1 | 50 | 40 | 80 | 160 | 4.9 | 0.63 |
| 0.5 | 0.1 | 50 | 48 | 96 | 197 | 5.9 | 1.42 |
| 1.0 | 0.1 | 50 | 44 | 88 | 145 | 4.1 | 1.19 |
| 0.3 | 0.3 | 50 | 29 | 58 | 97 | 3.1 | 0.33 |
| 0.5 | 0.3 | 50 | 31 | 62 | 109 | 4.3 | 0.98 |
| 1.0 | 0.3 | 50 | 32 | 64 | 128 | 5.2 | 1.34 |

试验结果表明:随着NAA浓度的升高,生根率呈现先升后降趋势,本试验中,单独使用NAA诱导生根,浓度以0.5 mg/L(毫克/升)为好;随着6-BA浓度的升高,生根率表现下降,表明高浓度6-BA抑制生根。因此,诱导蝴蝶兰生根的较为理想激素浓度配比为6-BA 0.1 mg/L+NAA0.5 mg/L(毫克/升),植株生根率高,根数多,生根长。

3 结论

用花梗作为外植体建立快速无性繁殖系,其优点是开花后取材不损母株,而且消毒较为容易,并对母株的整体情况能够了解,特别是对引进的新品种,可以在植株开花确定其观赏价值后再进行大量繁殖。尽管蝴蝶兰花梗腋芽是极好的外植体,但芽的来源有限,有待于更大范围寻找外植体。在蝴蝶兰花梗腋芽诱导中,选用MS培养基添加花宝(N-P-K=6.5-6-19)2.5 g/L(克/升)为基础培养基,添加BA3.0 mg/L(毫克/升)有利于对花梗腋芽诱导。

使原球茎快速增殖是实现蝴蝶兰快速生产的关键。蝴蝶兰的原球茎增殖培养以较低的无机盐浓度为好,采用MS培养基添加1.0 g/L(克/升)花宝(N-P-K=6.5-6-19)为基础培养基,添加2.0 mg/L的6-BA和0.5 mg/L(毫克/升)的NAA,原球茎的增殖系数2个月内能达5倍以上,是最佳的原球茎增殖组合。

为了提高试管苗移栽成活率,要求试管苗生根整齐而且粗壮,以2.7 g/L(克/升)的花多多1号(N-P-K=20-20-20)为基础培养基,添加0.1 mg/L 6-BA+0.5 mg/L(毫克/升)NAA,植株生根率高,根数多,生根长,是较为理想的生根培养基。

参考文献:

[1] 李晶. 蝴蝶兰的组织培养[J]. 中国林副特产, 1999, (2): 231.
[2] 陈达宽. 国内兰花消费市场前景[J]. 台湾花卉园艺月刊, 2004, 198: 8~9.
[3] 张秀清, 王志武. 蝴蝶兰实生苗原球茎诱导研究[J]. 莱阳农学院学报, 1995, 12(1): 44~46.
[4] 李向英. 蝴蝶兰的快速繁殖及栽培管理研究. 山东农业科学, 2000, (4): 13~143.

*注: 本文作者还有: 王明珍¹