

# 大花蕙兰组培工厂化生产技术

杨录军, 李晓青

(郑州市农林科学研究所, 河南 郑州 450005)

中图分类号: S 682.31; S 603.6 文献标识码: B

文章编号: 1001-0009(2007)08-0186-02

大花蕙兰(*Cymbidium*)又名虎头兰, 是一种观赏价值很高的洋兰, 其花朵硕大, 枝叶俊秀, 深受国内外兰花爱好者的欢迎。但是由于大花蕙兰多为杂交品种, 种子繁殖无法保持其品种特性, 且结实率也相当低, 分株能力又很弱, 因而繁殖系数极低, 繁殖速度慢<sup>[1]</sup>, 远远不能满足商品化生产的需求。国外已将组培技术应用于大花蕙兰的组培与生产<sup>[2,3]</sup>, 我国一些科研院所和企业也进行了这方面的研究和生产<sup>[4-6]</sup>, 但普遍繁殖系数较低。现经过多年的探索与研究, 现已建立了一整套大花蕙兰组织培养高效快繁与工厂化生产的技术体系, 并在大花蕙兰优良品种“红公子”、“水晶宫”、“开心果”和郑州市农林科学研究所选育的新品种组培生产中取得了成功, 逐渐形成了年产各类规格种苗 30 万株, 开花株近 10 万株的规模。

## 1 生产流程

母株选择→侧芽启动→圆球茎诱导→继代增殖→丛生芽分化→壮苗生根→练苗出瓶。

## 2 启动诱导

### 2.1 母株选择

由于数以万计的组培苗均来源于同一外植体, 故母株的选择应慎之又慎, 应遵循 3 项基本原则: 整个引种群表现出该品种的典型性状; 群体生长发育良好, 没有普遍发生特定病害侵染, 特别是东亚兰花叶病毒(CyMV), 齿舌兰轮斑病毒(ORSV), 这 2 种病毒复合感染的现象十分普遍, 有条件的母株要先进行病毒检测; 在符合上述条件的群体中选择性状优异的健壮单株作母株。

### 2.2 外植体处理

选择叶片未完全展开的肥壮营养芽(勿选花芽)为外植体, 先剥去 2~3 片外层叶片, 再手持兰花叶芽梢(勿触及已处理好的芽基部, 以免污染外植体), 切去基部脏物及损伤、老化组织, 最后逐层剥净外层叶片, 直至有小

顶芽和小侧芽露出。然后在超净工作台上先用 70% 酒精浸泡外植体 30 s, 无菌水冲洗后, 再放入 0.1% HgCl<sub>2</sub> 溶液中浸泡 8 min 左右, 无菌水冲洗 3~4 次, 在无菌接种盘上小心切下顶芽和侧芽。

### 2.3 圆球茎诱导与驯化

将切下的顶芽和侧芽插入诱导培养基中, 基部向下, 稍露出芽尖。诱导培养基为 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L+AC 0.3 g/L+香蕉泥 100 g/L+蔗糖 20 g/L+琼脂 7 g/L(pH 5.5 左右)。置于培养室中进行培养, 光照强度 1 000~1 500 Lx, 光照时间 14 h/d, 培养温度 25℃左右。10~15 d 后芽开始萌动, 诱导率可达 85% 以上。在圆球茎的诱导过程中, 发现有 80% 左右的芽萌发后, 很容易长成小苗。诱导约 30 d 后, 待小苗长至 3~4 cm, 其基部膨大时, 将苗切离基部, 并将膨大基部纵切成厚 3~4 mm 的薄片, 切口向下重新放入相同新鲜培养基中, 约 30~35 d, 从下端切口部位可以长出类似愈伤组织的类圆球茎, 其中顶芽诱导率最高, 诱导速度也最快, 侧芽次之。

第一次从外植体分化出来的圆球茎形态不典型, 质地较硬, 很容易转变为不定芽, 应经常观察, 根据每一个圆球茎的具体情况, 及时切除圆球茎萌生的芽尖, 继续纵切成块, 使其沿着圆球茎的方向发展。经过数次诱导, 方能形成质地柔嫩, 生长迅速的圆球茎团。

将分化苗和生根苗剥离叶片, 切除根茎后, 放入诱导培养基中进行诱导, 也可以诱导出圆球茎。利用这一方法, 可以周年进行诱导, 极大改善生产上原材料少的限制, 加快组培材料的积累。

## 3 继代增殖和幼苗分化

将营养芽、分化苗或生根苗芽尖诱导出的圆球茎接种于继代培养基 1/2 MS+6-BA 0.5~2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L+AC 0.5 g/L+香蕉泥 120 g/L+蔗糖 20 g/L+琼脂 7.2 g/L(pH 5.5 左右), 置于培养室中培养, 培养温度 25℃左右, 光照强度 3 000 Lx, 光照时间 10 h/d。每 45~50 d 继代一次, 增殖倍数可达 10 倍以上。继代增殖初期用 1.5~2.0 mg/L 的 6-BA 可以较快的积累材料, 随着继代次数的增加, 特别是 15 代以后或变异株开始出现后, 只能用 0.5~1.5 mg/L 浓度的 6-BA, 并在生产中及时清除变异的圆球茎。变异的圆球茎表面只是光滑一片, 没有芽尖, 不能分化出芽苗。

试验发现: 圆球茎的增殖生长表现出一定的群体效应, 即当圆球茎纵切成块时, 只保留 1~2 个小芽尖时, 圆球茎的增殖大大减少, 大多数一个继代周期后增殖倍数只有 2 左右, 有些还会褐化死亡。当保留 3~4 个小芽尖时, 原球茎的增殖则较为正常。当有 5 个以上小芽尖时, 由于块状物分割的数量较少, 增殖倍数不能达到最大化。当圆球茎继代到所需数量时, 直接将完整的原球

第一作者简介: 杨录军(1978-), 男, 本科, 农艺师, 主要从事植物的组织培养与脱毒快繁研究。E-mail: ylj202@sohu.com。

基金项目: 河南省科技厅重点攻关资助项目(0623010500)。

收稿日期: 2007-04-02

茎转移到新鲜的增殖培养基中, 不要纵切分割, 也不要切除芽尖, 让圆球茎表面的芽尖直接分化萌发为小苗。

4 生根与练苗

当苗长至3~4 cm, 2~3片叶时, 即可将苗小心切离基部, 转入壮苗生根培养基 1/2 MS+NAA 1.0 mg/L+GA<sub>3</sub> 1.0 mg/L+AC 1.0 g/L+香蕉泥 150 g/L+蔗糖 25 g/L+琼脂 7.5 g/L(pH 5.5 左右), 置于培养室中培养, 培养温度 25~28℃, 光照强度 5 000~6 000 Lx, 光照时间 12 h/d, 20 d 左右开始生根, 35 d 即可进行练苗处理。大花蕙兰瓶苗移栽前先移入遮荫棚内, 在自然散射光下(7 000~8 000 Lx), 光照时间 8~12 h/d 的环境下 15~20 d, 可以明显提高瓶苗的质量和栽植成活率。当瓶苗叶色浓绿, 叶片坚挺, 植株健壮时, 即可出瓶移栽。

5 生产中易出现的问题及注意事项

5.1 香蕉添加物

香蕉泥对大花蕙兰圆球茎诱导、圆球茎增殖和壮苗生根都有明显的促进作用, 但即使是充分成熟的香蕉也含有大量对兰花生长有抑制作用的酚类物质, 所以培养基中添加香蕉泥时要相应加入活性炭。单用香蕉泥对大花蕙兰生长有害。第一次培养时, 如加入过多香蕉泥外植体容易褐变死亡。香蕉泥用量随着大花蕙兰圆球茎诱导、圆球茎增殖和壮苗生根应渐次增加。

5.2 无性系崩溃问题

要达到按计划稳定生产的目标, 必须防止因偶然的因素造成无性系的崩溃。无性系的重建是颇费时日的工作, 势必严重影响交货。因此培养基配制时要求配制前计算、复核, 称量时核对, 称量后记载, 分装前核对, 分装后标记; 要求工作人员在灭菌的每一步骤应检查灭菌程序是否正确; 同一无性系应至少人为分割为两个或两

个以上的子系统, 不同子系统之间避免同时使用同一批次培养基和接种工具继代。

5.3 无性系变异问题

无性系变异是兰花组培苗工厂化生产中值得关注的问题, 对大花蕙兰而言, 主要是僵化苗的问题。在继代过程中必须剔除僵化圆球茎和僵化苗。僵化圆球茎表现为表面光滑, 没有芽尖, 不分化幼苗; 僵化苗表现为植株矮小、粗硬, 叶片宽短呈鸟喙状。大花蕙兰僵化原球茎和僵化苗与增殖代数有关, 据实践, 大花蕙兰每一无性系增殖代数应在 15 代以内为宜, 超过此限度则僵化原球茎和僵化苗及其它异常会急剧增加。大花蕙兰在原球茎诱导, 原球茎增殖和壮苗生根各个阶段培养温度过高都能加剧僵化变异, 必需将温度控制在适宜范围内。大花蕙兰在原球茎诱导和增殖阶段细胞分裂素浓度过高会诱导僵化变异<sup>[5,7]</sup>。此阶段, 应严格控制分裂素浓度, 不宜过高。

参考文献

[1] 谭文澄, 戴策刚. 观赏植物组织培养技术[M]. 北京: 中国林业出版社, 1997: 237-239.  
[2] Sagawa Y, Serгал O P. Aseptic stem propation of vanda miss Juaquam [J]. Lindleyana, 1988(3): 27-29.  
[3] Winder D D. Clonal multiplication of cymbidium through tissue culture of the shoot meristem [J]. Am Orchid Soc Bull, 1963, 32: 105-107.  
[4] 曹孜义, 刘国民. 实用植物组织培养技术教程[M]. 兰州: 甘肃科学技术出版社, 1996: 170-177.  
[5] 徐宏英, 赵玉明, 谢海军, 等. 大花蕙兰组培快繁影响因素分析[J]. 园艺学报, 2002, 29(2): 183-185.  
[6] 宋仪农, 杜启兰, 陈景秀, 等. 植物激素和大量元素对大花蕙兰组织培养的影响[J]. 山东林业科技, 2001(5): 13-15.  
[7] 徐大成, 刘晓砚, 曹伟, 等. 几种植物生长调节物质对大花蕙兰组培圆球茎增殖的影响[J]. 植物研究, 2004, 24(1): 76-79.

西瓜二次结瓜的新技术, 效益相当可观。具体做法是: 当头茬西瓜采摘后, 割掉老蔓, 8~10 d 就可长出新蔓, 45~50 d 就可采收二茬瓜, 增产 1 500 kg/667m<sup>2</sup>。

**培养新蔓** 西瓜二次结瓜宜采取割蔓再生法, 即在头茬瓜采收后, 距根部 30~35 cm 处剪去老蔓, 利用基部叶腋下的潜伏芽萌发后结瓜, 在老蔓的基部留 1~2 个健壮新蔓, 其余剪除。采取这种方法, 坐瓜位置低, 瓜蔓生长迅速、旺盛, 西瓜成熟快, 瓜型大, 产量高, 比其它方法增产 500~600 kg/667m<sup>2</sup>。

**高产措施** 保护根系: 对头茬瓜的施肥、浇水、除草等管理时, 要保护好根系, 保证根系不受伤, 使之能正常健壮地生

西瓜二次结瓜技术



长; 肥水管理: 头茬瓜在采收前 3 d 施一次速效性氮肥, 一般每株 15~20 g 尿素, 当植株有 80% 坐果时, 再重施一次肥料。一般施硫酸钾 10 kg、磷酸二氢钾 10 kg, 尿素 5 kg 或充分腐熟有机肥 500 kg、多元复合肥 20 kg; 清园防病: 头茬瓜采收前, 及时清理田间杂草、

烂瓜、病株、残叶和遗留的小瓜, 并连续喷 2~3 次 500 倍多菌灵或 600 倍白菌清, 以防治病害, 对割掉的老瓜蔓要及时运出田外, 并对瓜田进行清理; 新蔓整枝: 一般采用一株留一瓜的方法, 因植株剪去老蔓, 新蔓萌发快, 结果多。为不影响选留瓜的正常生长, 促使二茬瓜迅速膨大, 应及早剪除支蔓、小果, 使养分集中供应。