

墨兰增殖培养基的筛选研究

丁雪珍, 韩磊, 张文静

(潍坊职业学院 山东 潍坊 261031)

摘 要:以墨兰中的金凤锦为试验材料进行组织培养, 研究了不同因素对墨兰根状茎增殖的影响。结果表明:最适于墨兰根状茎增殖的基本培养基为 1/2MS; 添加 2 mg/L BA、0.1 mg/L NAA 有利于墨兰根状茎的增殖; 添加香蕉汁对墨兰的增殖效果不明显。认为墨兰根状茎增殖的最佳培养基配方为: 1/2 MS+BA 2 mg/L+NAA 0.1 mg/L+0.8 g/L 活性炭。

关键词: 墨兰; 增殖; 培养基

中图分类号: S 682.31; S 603.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2009)08-0208-02

墨兰(*Cymbidium sinense*)又称报岁兰、拜岁兰、丰岁兰, 兰科兰属的多年生草本花卉, 在我国有悠久的栽培历史。花瓣香气浓郁、花色多变、叶形独特, 花期冬季至早春, 具有很高的观赏价值和经济价值。由于墨兰的胚发育不完全, 没有胚乳和子叶, 自然情况下很难萌发, 传统上墨兰靠分株繁殖, 繁殖周期长, 繁殖率低, 难以推广。另外, 由于长期无性繁殖, 植株病毒增多, 使墨兰的品质下降, 因此, 墨兰的组织培养格外引人注目。利用组织培养方式进行快繁, 不仅不受季节限制, 而且还可以脱毒, 可在短时间内生产大量的组培苗, 满足市场需求。

1 材料与方法

1.1 材料来源

该试验所用材料为墨兰中的金凤锦。取八九成熟的蒴果, 用水洗净后, 在超净工作台上用 75% 的酒精灭菌 10 min, 用无菌水涮洗 3~5 次, 剖开蒴果, 将种子包裹于细白布中, 用 0.1 mol/L KOH (NaOH) 溶液浸泡 10~30 min 后晾干, 散落于诱导培养基上: MS+BA 0.5 mg/L+NAA 0.5 mg/L。黑暗条件下, 室温 20~25℃ 培养。种子萌发后转移至光下, 照光 16 h/d, 光强 2 000 lx 培养。球形胚顶端细胞分裂, 胚体积增大胀破种皮, 形成原球茎。然后去掉激素, 原球茎顶端分生组织不断分裂并延伸形成根状茎。将诱导形成的根状茎切成 1.5 cm 备用。

1.2 方法

制作各种培养基均添加活性炭 0.8 g/L、糖 30 g/L、琼脂粉 6.5 g/L, pH 5.2。

1.2.1 基本培养基筛选

第一作者简介: 雪珍(1972-), 女, 山东乳山人, 硕士, 讲师, 现从事植物组织培养教学及科研与生产管理工作。E-mail: dingxz7900@126.com。

收稿日期: 2009-03-10

蛋白胨 2 g/L+活性炭 0.8 g/L)对照 (Kyoto 是墨兰组织培养中最常用培养基), 研究以 MS、1/2MS 作为基本培养基对根状茎增殖的影响。每种培养基分别接种 60 瓶, 每瓶接种 15 个根状茎。照光 12 h/d, 光强 2 000 lx, 温度 (25±2)℃, 湿度 70%~80% 培养, 80 d 后数出每种培养基每瓶内的根状茎数目并计算增殖系数, 同时测量根状茎的长度, 计算平均值。研究不同基本培养基对墨兰根状茎增殖的影响, 确定墨兰根状茎增殖优于 Kyoto 的基本培养基。

1.2.2 BA、NAA 不同浓度配比对墨兰根状茎增殖的影响 在 1.2.1 中选出的优于 Kyoto 的基本培养基中添加不同浓度 BA、NAA, 研究不同浓度的 BA、NAA 配比 (表 1) 对墨兰根状茎增殖的影响, 每种培养基接种根状茎 80 瓶, 每瓶 15 个, 培养时间、条件及结果处理同 1.2.1, 筛选最佳培养基。

表 1 BA、NAA 不同浓度对墨兰根状茎增殖的影响

编号	BA/mg · L ⁻¹	NAA/mg · L ⁻¹
1	0.5	0.1
2	0.5	0.2
3	0.5	0.4
4	1.0	0.1
5	1.0	0.2
6	1.0	0.4
7	2.0	0.1
8	2.0	0.2
9	2.0	0.4

1.2.3 不同的香蕉添加量对墨兰根状茎增殖的影响 在 1.2.2 筛选出的最佳培养基中添加 30、50、100 g/L 的香蕉汁, 在含不同香蕉汁浓度的培养基上接种根状茎 100 瓶, 每瓶 15 个。培养时间、条件及结果处理同 1.2.1。筛选最佳香蕉汁浓度。

2 结果与分析

2.1 基本培养基的筛选

墨兰根状茎在 MS、1/2 MS 和 Kyoto 3 种基本培养基中均有较好增殖, 其中 MS 培养基上球状茎的平均长

度是 1.5 cm, 增殖系数是 5. 9; 1/2 MS 培养基上球状茎的平均长度是 2. 0 cm, 增殖系数是 6. 4; Kyoto 培养基上球状茎的平均长度是 0. 8 cm, 增殖系数是 5. 1(表 2)。所以 MS 与 1/2MS 培养基对墨兰根状茎的增殖效果均优于 Kyoto 培养基, 而且 1/2MS 培养基对墨兰根状茎的增殖效果最好。

表 2 不同基本培养基对墨兰根状茎增殖的影响

基本培养基	增殖数/个·瓶 ⁻¹	增殖系数	平均长度/cm
MS	89	5. 9	1. 5
1/2MS	96	6. 4	2. 0
Kyoto	76	5. 1	0. 8

2.2 BA、NAA 不同浓度对比对墨兰根状茎增殖的影响

在 MS 和 1/2 MS 培养基上 7 号处理即 BA 2. 0 mg/L+NAA 0. 1 mg/L 对墨兰根状茎的增殖系数都是最高的, 分别达 6. 6 和 8. 3 在 MS 培养基上 7 号处理根状茎的平均长度最长, 达 2. 0。在 1/2 MS 培养基上 3 号处理即 BA 0. 5 mg/L+NAA 0. 4 mg/L 根状茎的平均长度最长, 达 2. 5, 但其增殖系数最小, 只有 5. 7; 7 号处理的增殖系数最大, 根状茎的平均长度位居第二, 达 2. 3。总体上看(表 3), 1/2 MS 培养基中添加 BA 2. 0 mg/L+NAA 0. 1 mg/L 对墨兰的增殖效果是最好的。

表 3 BA、NAA 不同浓度对比对墨兰根状茎增殖的影响

编号	增殖数/个·瓶 ⁻¹		增殖系数		平均长度/cm	
	MS	1/2 MS	MS	1/2 MS	MS	1/2 MS
1	87	94	5. 8	6. 6	1. 5	2. 0
2	85	91	5. 7	6. 1	1. 6	2. 2
3	81	85	5. 4	5. 7	1. 8	2. 5
4	93	95	6. 2	6. 3	1. 5	2. 0
5	87	93	5. 8	6. 2	1. 0	1. 6
6	82	90	5. 5	6. 0	1. 5	1. 8
7	99	124	6. 6	8. 3	2. 0	2. 3
8	92	105	6. 1	7. 0	1. 4	1. 9
9	85	96	5. 7	6. 4	1. 2	1. 7

表 4 不同香蕉添加量对墨兰根状茎增殖的影响

香蕉添加量/g·L ⁻¹	增殖数/个·瓶 ⁻¹	增殖系数	平均长度/cm
30	126	8. 4	0. 8
50	76	5. 1	0. 5
100	52	3. 5	0. 5

2.3 不同香蕉添加量对墨兰根状茎增殖的影响

在 1/2 MS+BA 2. 0 mg/L+NAA 0. 1 mg/L 培养基中添加不同浓度的香蕉汁, 当添加量为 30 g/L 时, 墨兰根状茎的增殖系数是 8. 4, 平均长度为 0. 8 cm; 当香蕉添加量为 50 g/L 和 100 g/L 时, 墨兰根状茎的增殖系数分别为 5. 1 和 3. 5, 平均长度均为 0. 5 cm (表 4)。由此可看出: 随着香蕉量的增加, 墨兰根状茎的增殖系数反而降低, 平均长度也有缩短。说明不是香蕉的添加量越多越好, 所以 3 个水平中, 30 g/L 的香蕉添加量最有利于墨兰根状茎的增殖。

3 结论与讨论

以 1/2 MS 作为基本培养基对墨兰根状茎的增殖效果优于传统的墨兰培养基 Kyoto。当添加 2. 0 mg/L BA 与 0. 1 mg/L NAA 时, 根状茎的增殖系数有大幅度提高, 从 6. 4 增加到 8. 3, 平均长度也由 2. 0 cm 增加到 2. 3 cm, 说明适当添加激素有利于根状茎的大量增殖。在 1/2 MS+2. 0 mg/L BA+0. 1 mg/L NAA 培养基中添加 30 g/L 的香蕉汁后, 根状茎的增殖系数略有增加从 8. 3 到 8. 4, 但平均长度有大幅度下降, 从 2. 3 cm 降到 0. 8 cm, 这样又影响到二次增殖培养的取材。所以总体上看, 添加香蕉汁对墨兰的增殖效果不是非常明显, 传统的墨兰组织培养中通常添加香蕉汁, 考虑到成本和增殖效果两个方面, 认为可以不添加香蕉。所以墨兰根状茎增殖的最佳配方是: 1/2 MS+BA 2. 0mg/L+NAA 0. 1 mg/L+0. 8 g/L 活性炭。

参考文献

[1] 吴应祥. 中国兰花 [M] . 2 版. 北京: 中国林业出版社, 1993: 50-58.
[2] 钟士传, 王狭礼. 中国兰花-墨兰微体繁殖技术研究[J] . 北方园艺, 2004(1): 56-57.
[3] 张志胜, 欧秀娟. 墨兰组织培养[J] . 园艺学报, 1995, 22(3): 303-304.
[4] 陈进勇, 程金水, 朱莹. 几种中国兰种子试管培养根状茎发生的研究[J] . 北京林业大学学报 1998 20(1): 32-35.
[5] 祝鹏芳, 陈长卿. 中国兰的无菌播种与茎尖培养[J] . 北方园艺, 1997 (1): 47-48.
[6] 陈菁瑛. 兰花组织培养与快速繁殖技术[M] . 北京: 中国农业出版社 2004.

Study on Screening Multiplying Medium in *Cymbidium Sinensis*

DING Xue-zhen, HAN Lei, ZHANG Wen-jing
(Weifang Vocational College, Weifang, Shandong 261031, China)

Abstract: *Cymbidium sinensis* JinFengJin was used as material to carried out tissue culture. The effects of different factors on multiplication of rhizome of *Cymbidium sinensis* were analyzed. The results showed that the optimal basic medium for multiplication of rhizome of *Cymbidium sinensis* was 1/2MS, and 1/2 MS supplemented with 2.0 mg/L BA+0.1 mg/L NAA was beneficial for multiplication of rhizome, and 1/2 MS+2.0 mg/L BA+0. 1 mg/L NAA supplemented with banana juice had no obvious proliferative effect. So the optimal medium for multiplication of rhizome of *Cymbidium sinensis* was 1/2 MS+BA 2 mg/L+NAA 0. 1 mg/L+0.08% activated carbon.

Key words: *Cymbidium Sinensis*; Multiplication; Medium