

不同激素浓度对万代兰及其辐射苗增殖的影响

杨静坤¹ 黄丽萍² 唐敏² 余朝秀² 毛焱彤² 李枝林^{2*}

(¹ 昆明铝业股份有限公司, 云南昆明 650502; ² 云南农业大学)

摘要 以万代兰及其辐射无菌苗为材料, 探讨不同激素浓度对万代兰及其辐射无菌苗快速繁殖的影响。结果表明: 万代兰及其辐射无菌苗增殖以 MS+6-BA 2.5mg/L+NAA 0.3mg/L+香蕉泥 80g/L 效果最好, 特别是辐射处理后小苗在加入香蕉泥后, 增殖率达到 150%, 且长势较好, 叶色嫩绿, 褐化现象明显改善。

关键词 万代兰; 组织培养; 辐射; 快速繁殖

中图分类号 S682.31; S482.8 **文献标识码** A **文章编号** 1007-5739(2008)12-0007-02

万代兰 (*Vandopsis gigantean* Pfitz) 属于典型的热带气生兰, 原产于泰国、菲律宾和夏威夷等地。在亚洲、大洋洲和南美洲分布广泛, 至今发现的原生种共有 70 多个, 而杂交种则更为丰富。万代兰的花较大, 花色艳丽, 有白、黄、粉红、紫红、茶褐和天蓝等。花序从叶腋间抽出, 有花 10~20 朵, 花期长, 可开放 3~8 周, 既可作盆栽花卉, 又能作切花。花萼片特别发达, 尤其 2 枚侧萼更大, 是欣赏的重点, 有直立茎干和发达的肉质气生根。叶片在茎的两侧排成两列, 通常有扁平、圆柱和半圆柱 3 种形态^[1]。

自 20 世纪中叶以来, 万代兰开始在世界各地流行, 只要是较为温暖的地区, 都可以见其踪影。世界各地的兰花爱好者也培育出了大量的万代兰品种, 除了在万代兰属内的种间杂交品种外, 还有不少与其他属兰花的属间杂交种, 而研究万代兰的快速增殖也是当前热门研究之一^[2]。近年来, 植物辐射已用于多种植物育种, 是以电离辐射使植物的遗传发生变异, 然后从后代中选出人们所需要的新品种的一种新型育种方法^[3]。经过辐射处理后的植株细胞受到损伤诱发染色体数量结构的变异, 在后代遗传中产生突变体, 但达到诱变效果的剂量往往造成较大程度的生长、增殖、分化受抑制和大量死亡, 常常造成间接的变异率降低^[4]。

本试验选用万代兰辐射无菌苗作研究材料, 使用不同激素浓度对其增殖效果进行研究比较, 一方面能够找到正常万代兰的最佳增殖配方, 确保万代兰的快速繁殖, 同时也具有较好的经济价值; 另一方面可以找出万代兰辐射受抑制无菌苗增殖的最佳培养基, 提供较多的变异材料, 为选育新品种打下良好基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

云南农业大学花卉研究所提供经 ⁶⁰Co γ 射线辐射处理和未处理的 2 种万代兰试管苗。

1.2 试验时间

试验于 2006 年 11 月至 2007 年 5 月在云南农业大学花卉研究所实验室进行。

基金项目 国家自然科学基金资助项目 (30760155); 教育部春晖计划资助项目 (Z2005-2-65008)。

作者简介 杨静坤 (1975-), 女, 云南宾川人, 从事绿化工作。

* 通讯作者

收稿日期 2008-04-23

1.3 培养条件

控制培养温度 25±2℃, 光照强度 2 000Lx, 每天光照 12h。

1.4 试验方法

1.4.1 不同激素浓度对万代兰及其辐射苗增殖的影响。基本培养基为 MS 培养基, pH 值为 5.8。未辐射材料附加激素采用 6-BA+NAA 组合, 当 NAA 为 0.3mg/L 时, 6-BA 设置 1.5mg/L、2.0mg/L、2.5mg/L、3.0mg/L、3.5mg/L 共 5 个浓度梯度; 辐射材料附加激素采用 6-BA+NAA 组合, 当 NAA 为 0.3mg/L 时, 6-BA 设置 1.0mg/L、1.5mg/L、2.0mg/L、2.5mg/L、3.0mg/L、3.5mg/L、4.0mg/L 共 7 个浓度梯度, 设置 1 个对照 (只用基本培养基, 不添加任何激素)。培养 22d 后, 观察记录生长情况, 统计试验数据。

1.4.2 不同类型培养基对万代兰无菌苗增殖的影响。采用 MS 基本培养基, 激素浓度用 6-BA 2.5mg/L+NAA 0.3mg/L, 一种类型培养基添加 80g/L 香蕉泥; 一种类型培养基不添加。设置 1 个对照 (只用基本培养基, 不添加任何激素)。培养 90d 后, 观察记录生长情况, 统计数据。

1.4.3 不同类型培养基对辐射无菌苗增殖的影响。辐射材料培养基 MS+6-BA+NAA+80g/L 香蕉泥, 当 NAA 浓度为 0.3mg/L 时, 6-BA 设置 1.0mg/L、1.5mg/L、2.0mg/L、2.5mg/L、3.0mg/L、3.5mg/L、4.0mg/L 共 7 个浓度梯度, 设置 1 个对照 (只用基本培养基, 不添加任何激素)。培养 90d 后, 观察记录生长情况, 统计数据。

2 结果与分析

2.1 不同激素浓度对万代兰及其辐射苗增殖的影响

将万代兰及其辐射无菌苗分别接入不同激素浓度的培养基内观察其增殖效果。接入时植株长势较好, 叶片多, 有根, 无褐化现象。经过无菌培养 22d 后, 观察统计数据见表 1、表 2。

从表 1 可以看出, 万代兰小苗的增殖数目最多的激素浓度为 NAA 0.3mg/L+6-BA 2.5mg/L, 增殖率达到 13%, 且未辐射材料长势好, 新发叶片嫩绿。

从表 2 可以看出, 辐射材料增殖率几乎为零, 死亡率也比对照材料高, 无新发叶片, 叶片无明显长大且变厚, 叶尖端有分叉, 植株脆化 (类似于玻璃化现象)^[5], 培养基变黑, 褐化现象较严重。说明经辐射处理过的材料, 生长严重受抑制, 即使在较低浓度 1.0mg/L 和较高浓度 4.0mg/L 条件下

表1 不同6-BA浓度对未辐射材料增殖及生长的影响

培养基编号	基本培养基	激素//mg/L		接种数//株	增殖数//株	增殖率//%	死亡数//株	死亡率//%	平均株高//cm
		6-BA	NAA						
1	MS	1.5	0.3	22	0	0	0	0	0.02
2	MS	2.0	0.3	21	0	0	1	5	0.03
3	MS	2.5	0.3	23	3	13	1	4	0.08
4	MS	3.0	0.3	23	0	0	2	9	0.02
5	MS	3.5	0.3	21	1	5	3	14	0.01

表2 不同6-BA浓度对处理材料增殖和生长的影响

培养基编号	基本培养基	激素//mg/L		接种数//株	增殖数//株	增殖率//%	死亡数//株	死亡率//%	平均株高//cm
		6-BA	NAA						
1	MS	1.0	0.3	22	0	0	4	18	0.01
2	MS	1.5	0.3	24	0	0	5	21	0.02
3	MS	2.0	0.3	24	0	0	4	17	0.04
4	MS	2.5	0.3	24	0	0	2	8	0.03
5	MS	3.0	0.3	24	0	0	3	13	0.02
6	MS	3.5	0.3	20	0	0	2	10	0.03
7	MS	4.0	0.3	24	1	4	4	17	0.04
8	MS	0	0	15	1	6	0	0	0.06

都不能启动其增殖。空白对照增殖率为6%,无死亡现象,植株增高0.06cm。

2.2 不同类型培养基对万代兰无菌苗增殖的影响

由于使用原培养基褐化现象严重,增殖率低,死亡率高,

希望通过添加有机附加物来提高万代兰无菌苗的增殖率,在基本培养基中加入了香蕉泥,未辐射材料在2种类型的培养基中培养90d后,对照原培养基和香蕉培养基,观察生长情况,统计数据得出表3。

表3 不同培养基类型对未辐射材料增殖和生长的影响

培养基编号	基本培养基	激素//mg/L		有机附加物	接种数//株	增殖数//株	增殖率//%	死亡数//株	死亡率//%	平均株高//cm
		6-BA	NAA							
1	MS	2.5	0.3	-	45	12	27	8	18	0.14
2	MS	2.5	0.3	香蕉泥 80g/L	59	25	42	7	12	0.44

从表3可以看出,对比万代兰无菌苗在2种不同类型培养基中的生长状况,发现添加香蕉泥后,增殖率大大提高,可达42%,叶片长势更好,叶大且嫩绿,数量多,平均株高也明显增高,达到0.44cm,采用香蕉培养基后褐化现象得到明显改善。原培养基增殖效果没有香蕉培养基明显,增殖率仅为27%,叶片较小,平均株高增加也不明显,仅增高

0.14cm。

2.3 不同培养基类型对辐射无菌苗增殖的影响

未辐射材料在添加了香蕉泥后,植株长势比原培养基的好,增殖率提高,死亡率降低,增殖效果得到改善。在此基础上将辐射处理后的小苗接入香蕉培养基,观察其生长情况统计数据得出表4。

表4 添加香蕉泥后不同6-BA浓度对辐射材料增殖和生长的影响

培养基编号	基本培养基	激素//mg/L		有机附加物	接种数//株	增殖数//株	增殖率//%	死亡数//株	死亡率//%	平均株高//cm
		6-BA	NAA							
1	MS	1.0	0.3	香蕉泥 80g/L	13	2	15	7	53	0.37
2	MS	1.5	0.3	香蕉泥 80g/L	20	6	30	14	70	0.43
3	MS	2.0	0.3	香蕉泥 80g/L	14	12	86	6	43	0.52
4	MS	2.5	0.3	香蕉泥 80g/L	12	18	150	4	33	0.57
5	MS	3.0	0.3	香蕉泥 80g/L	17	10	59	7	41	0.49
6	MS	3.5	0.3	香蕉泥 80g/L	13	6	46	7	54	0.34
7	MS	4.0	0.3	香蕉泥 80g/L	17	6	35	3	18	0.36

由表4可以看出,辐射处理过的小苗在添加了香蕉泥后,各个激素浓度组合都出现了增殖现象,其中当细胞分裂素6-BA浓度为2.5mg/L时,增殖率最高,达到150%,死亡率相对较低,平均株高增加最多,增高了0.57cm,辐射小苗长势最好。且其他各浓度梯度的增殖效果也较之前有了很大改善。

3 讨论

(1)添加有机附加物香蕉泥后,植株生长健壮,长势较好,叶片嫩绿,说明香蕉泥起到了壮苗作用,促使了植株增殖和增高;也可尝试在万代兰培养过程中添加不同的有机

附加物,如:椰子汁、马铃薯汁、甘氨酸、水解酪蛋白等,这些有机附加物对万代兰无菌苗的增殖和分化有一定的促进作用^[6];还可通过改变这些有机附加物的类型,找到更适宜万代兰增殖的配方。

(2)从本次试验结果看,死亡率都比较高,而植株不适应激素组合往往只会表现出生长缓慢、黄化等现象。造成死亡的原因可能是在接种的时候,将植株的根部切掉或生长点切断,接入培养基后无法生长,死亡率增高。此原因是由于操作不熟练及对植株的生长观察不够仔细造成的,要

(下转第10页)

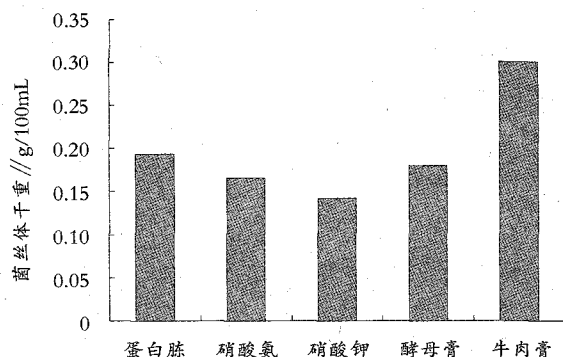


图2 不同氮源对杨树菇菌丝干重的影响

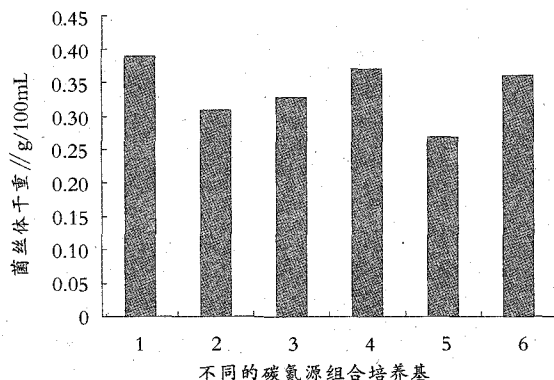


图3 不同碳氮源组合对杨树菇菌丝干重的影响

养的良好氮源。

3.3 不同碳氮组合对杨树菇菌丝生长的影响

3.3.1 菌球长势的观察对比。对菌球形态的观察比较结果见表3。

表3 不同碳氮组合对菌丝生长的影响

培养基	菌丝生长速度	菌球大小	菌球密度	菌球均匀度	菌球有无毛刺	溶液澄清度
1	较快	大	大	好	有	较清澈
2	慢	小	较小	良好	有	较清澈
3	较快	较小	小	好	无	较清
4	快	大	较小	弱	无	清澈
5	慢	小	小	很弱	有	清澈
6	较快	大	较大	好	有	清澈

由表3可以看出,培养基1中的菌丝生长速度、菌球大小、菌丝均匀度、菌球密度明显优于其他培养基,可在短时间内获得较多生物量。

3.3.2 菌丝干重的对比。对菌丝干重的比较结果见图3。由图3可以看出,培养基1的生物量最多,其碳氮源组合是2%的可溶性淀粉和0.5%的牛肉膏,可以得出培养基1为较

好碳氮组合培养基,菌丝体干重为0.39g/100mL。

4 结论

(1)在4种所试碳源中根据碳源选择试验,确定较好碳源为可溶性淀粉。从菌丝的整体生长情况比较得出,葡萄糖仅次于可溶性淀粉。

(2)在5种氮源中,最适氮源为牛肉膏。蛋白胨的效果次于牛肉膏,但以蛋白胨为氮源的培养液内菌球没有出现老化现象,表明菌丝还有生长空间。

(3)在6种碳氮组合培养液中,最适碳氮源组合为2%的可溶性淀粉和0.5%的牛肉膏。

5 参考文献

- [1] 洪震,卯晓岚.食用药用菌试验技术及发酵生产[M].北京:中国农业出版社,1991.
- [2] 黄年来.中国食用菌百科[M].北京:农业出版社,1993.
- [3] 汪维云,朱金华.食用菌液体深层发酵技术研究进展及展望[J].中国食用菌,2001(2):11.
- [4] 徐平,涂俊铭,陈少英.6-BA对杨树菇液体培养的影响[J].食用菌,2003(4):6-7.
- [5] 陈兴,庄阳秋,罗孝坤.温度对杨树菇栽培性状影响的统计学分析[J].中国食用菌,2004,16(4):16-19.

(上接第8页)

尽量避免因此类操作不当而造成的植株死亡。

(3)植物激素是培养基中的关键物质,在万代兰的增殖培养过程中起关键作用,激素发挥作用不是孤立的,而是各激素间的相对含量。细胞分裂素配合一定的生长素共同促进万代兰的增殖和生长,在万代兰及辐射苗培养过程中,配合细胞分裂素6-BA使用的生长素是NAA^[7],本次试验最佳激素组合为6-BA 2.5mg/L+NAA 0.3mg/L,6-BA浓度高于或低于2.5mg/L时,增殖率呈下降趋势(见表4),说明较高或较低浓度都会抑制万代兰增殖。

(4)本次试验仅使用了1种细胞分裂素6-BA和一种生长素NAA,可尝试改变细胞分裂素和生长素的类型比如KT、IBA等^[8],可能会通过改变激素的类型调整浓度梯度找到更适宜万代兰增殖和生长的培养基配方。

由于时间原因未进行万代兰生根及组培苗的炼苗和移栽试验,在生根、炼苗和移栽方面的研究还有待探讨。

4 结论

(1)MS+6-BA 2.5mg/L+NAA 0.3mg/L+香蕉泥 80g/L是万代兰正常苗和辐射苗的最佳增殖配方。

(2)香蕉泥能有效促进万代兰的增殖和生长。

(3)辐射对万代兰的伤害较大,培养中几乎不增殖,但香蕉泥能缓解辐射伤害的影响。

5 参考文献

- [1] 胡松华.热带兰花[M].北京:中国林业出版社,2002.
- [2] 廖福琴,张咏柏,黄萍萍,等.洋兰组织培养技术[J].广西农业科学,2004,35(5):357-358.
- [3] 吴根良,商世能,沈国正,等.兰花育种技术研究进展[J].北方园艺,2006(4):115-117.
- [4] 李雅志,王贵.无性繁殖植物辐射育种新方法[M].北京:原子能出版社,1991.
- [5] 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.
- [6] 吴俊玲.万代兰的组织培养和试管苗的初探[J].福建热作科技,2004,29(3):7-8.
- [7] 颜东敏.兰花繁殖技术[M].北京:农业出版社,1989.
- [8] 袁文达.园艺植物组织培养[M].上海:上海科技出版社,1986.