

中国春兰组织培养初探

孙志栋¹ 陈惠云^{1,2} 葛红² 王晓武²

(1 宁波市农科院, 浙江宁波 315040; 2 中国农科院蔬菜花卉研究所, 北京 100081)

摘要: 中国春兰原球茎液体和固体交替培养繁殖速率快于单一固体或液体培养。原球茎诱导培养基配方 1/2MS + 0.7% 琼脂糖 + 30g 蔗糖 + 0.01% 活性炭, pH 值为 5.4 - 5.6。增殖培养基配方 1/2MS + 0.1 ~ 0.5BA + 0 ~ 0.01NAA (+ 0.7% 琼脂糖) + 30g 蔗糖 + 0.1% 活性炭, pH 值为 5.2 - 5.4。

关键词: 组织培养; 快速增殖; 中国春兰

中图分类号 Q945 **文献标识码** B **文章编号** 1007-7731(2006)01-20-01

中国春兰 (*Cymbidium goeringii* (Rchb. f.) Rchb. f.) 是中国兰花大家族中品种最丰富多彩的一个种, 也是繁殖最困难的一个种之一, 一般繁殖系数很低, 最多 1 年 2 - 3 倍, 而那些名贵品种繁殖系数更低些, 如荫养不当, 兰草可能越养越少。随着前几年国兰野生资源遭毁灭性破坏, 国兰品种已濒临灭绝的边缘。因此, 加快国兰的繁殖速度, 更好地保护国兰品种资源, 已成为当前我国兰花科学研究的重点和热点。目前兰花组织培养在洋兰诸如大花蕙兰^[1]、蝴蝶兰^[2]、文心兰^[3]等实施工厂化生产比较成熟, 国兰除少数几个种如墨兰^[4]、虎头兰^[5]等也比较成功外, 其它国兰成功的鲜有报道。本项目以中国兰花最具代表的春兰为研究材料, 试图找出国兰通过组织培养获得快速繁殖的方法, 为国兰的品种开发和其它国兰的快速繁殖提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

实验材料: 中国春兰 (*Cymbidium goeringii* (Rchb. f.) Rchb. f.) 品种。

实验主要设备: VS-840u 型生物洁净工作台, HZP-150 型全震荡培养箱。

培养基: 原球茎诱导培养基配方 1/2MS + 0.7% 琼脂糖 + 30g 蔗糖 + 0.01% 活性炭, pH 值为 5.4 - 5.6。增殖培养基配方①号为 1/2MS + 0.1 - 0.5BA + 0 - 0.01NAA + 0.7% 琼脂糖 + 30g 蔗糖 + 0.1% 活性炭, pH 值为 5.2 - 5.4; 增殖培养基配方②号为 1/2MS + 0.1 - 0.5BA + 0 - 0.01NAA + 30g 蔗糖 + 0.1% 活性炭, pH 值为 5.2 - 5.4。

1.2 方法

取芽或种荚先用洗洁精泡洗 30min, 然后用自来水冲洗干净, 搁燥后在超净台上用 75% 酒精擦洗外表, 再在 1% 升汞中浸洗约 5 - 6min, 用无菌水反复冲洗 3 - 4 次, 搁干。切去茎芽外包被或解剖种荚, 取芽尖或种子接种于原球茎诱导培养基。其间如发现材料污染, 应及时处理转接。约 4 - 6 个月诱导出籽麻大小原球茎, 转接到增殖培养基①

号, 培养 1 - 2 个月转接到增殖培养基②号, 交替培养 2 - 3 次, 原球茎增多可切割成数小块。置于 HZP-150 型全震荡培养箱内培养, 温度控制在 24℃ - 26℃, 转速调至 80 - 100rpm。

2 结果与讨论

芽或种子接种到原球茎培养基, 约 4 - 6 个月诱导出籽麻大小浅绿色原球茎, 转接到增殖培养基①号培养约 1 个月, 原球茎长至米粒大小, 与增殖培养基②号交替培养 2 - 3 个月, 原球茎增殖速度加快, 形成由许多原球茎组成的指状大小原球茎团 (见图 1)。经分割转接至增殖培养基①号和②号交替培养, 在全震荡培养箱内培养 (24 - 26℃, 80 - 100rpm) 约 15 - 20d, 几乎每个原球茎上可长出 3 - 4 个白色籽麻粒大小原球茎 (见图 2); 约 30 - 40 d, 原球茎多的可增加到十余个, 大的长至有米粒大小, 这样分割继代培养多次, 原球茎增殖系数可大大提高。

实验结果表明, 采用增殖培养基①号或增殖培养基②号交替培养, 比单独使用一种培养基效果要好。采用增殖培养基①号培养原球茎, 一般在静止状态下培养, 增殖速度较慢, 约需 40 - 50d 才长出 1 - 3 个籽麻状大小原球茎, 但原球茎较为粗壮; 而采用增殖培养基②号在全震荡培养箱内培养, 一般 30 - 40d 可长出 3 - 4 个原球茎, 繁殖系数相对较高, 但原球茎长的相对比较细弱, 不及固体培养基健壮。

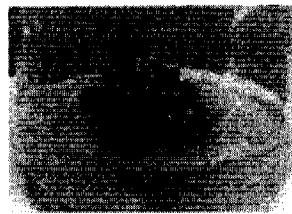


图 1 诱导的春兰原球茎

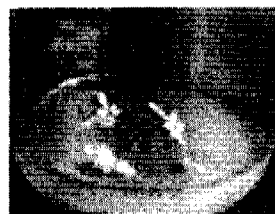


图 2 增殖培养的春兰原球茎

培养基的形态, 对组织、细胞等外植体的生长过程、生长速度具有较大影响。固体培养基的优点是固定外植体位置, 生长过程和性状便于观察, 其缺点 (下转第 26 页)

基金项目: 宁波市科技合作基金 (2003D10023) 和宁波市农科院院长基金资助。

作者简介: 孙志栋 (1962 -), 男, 浙江慈溪人, 硕士, 现为宁波市农科院高级农艺师, 主要从事植物遗传育种与植物生物技术研究, 在省级以上刊物发表论文 30 余篇, 主编书 1 本, 参编 1 本, 获奖 5 项次。收稿日期: 2006 - 01 - 20

由表中看出,小麦产量随着穗数的增加而逐步提高,当产量达到 530kg/666.7m² 以上时,穗数在 43.26 - 49.80 万/666.7m² 范围内,若突破 50 万/666.7m²,因穗部性状变劣,产量在 500kg/666.7m² 以下。

将表中 5 个中穗型品种的产量(y)与穗数(x₁)、穗粒数(x₂)、千粒重(x₃),用逐步回归方法建立回归方程如下: $y = -763.189 + 9.054x_1 + 14.960x_2 + 9.722x_3$ 。

复相关系数 R = 0.942,呈极显著相关,用 F 值测验, $F = 26.125 > F_{0.01}$,方程达极显著标准。从方程的标准回归系数得出: $bX_1 = 0.929$, $bX_2 = 0.908$, $bX_3 = 0.576$,可见在影响高产小麦的三因素中,穗数是主导因素,穗粒数略次于穗数,屈居第二,千粒重的作用最小。

将表中 5 个中穗型品种的产量(y)与穗数(x₁)、穗粒重(x₂)用逐步回归方法建立回归方程如下: $y = -369.823 + 9.344x_1 + 360.938x_2$ 。

复相关系数 R = 0.936,呈极显著相关,用 F 值测验, $F = 38.697 > F_{0.01}$,方程达极显著标准,从方程的标准回归系数得出: $bX_1 = 0.958$, $bX_2 = 1.106$,可见在影响高产更高产(600kg/666.7m² 以上)的二因素中,穗粒重是主导因素,穗数降为次要地位。(若去掉 632.9kg/666.7m² 的多丰 2000,其方程为: $y = -393.74 + 9.613x_1 + 371.651x_2$, $R = 0.888$, $F = 18.683 > F_{0.01}$,呈极显著相关,方程达极显著标准。 $bX_1 = 1.238$, $bX_2 = 1.132$,穗数是主导因素,穗粒重屈居第二)。

将表中 4 个中穗型品种 11 点次小区高产栽培试验、高产攻关的穗数(y)与基本苗、冬前总茎数、最高总茎数(x),用逐步回归方法建立回归方程如下: $y = 4.982 + 0.372x$ 。

复相关系数 R = 0.929,呈极显著相关,经 F 值测验, $F = 45.599 > F_{0.01}$,方程达极显著标准。说明最高茎数与穗数有密切关系,最高茎数越多,穗数就越多。而最高茎数的多少,与年后幼苗阶段生长时间长短、积温多少有关。小麦返青早,年后幼苗阶段生长时间长、积温多的年份,能

够促进中等分蘖生长发育,提高其成穗数,大大增加穗数,往往突破适宜范围的穗数高限^[1]。小麦返青晚,越冬时间长,麦株体内消耗有机物质多,年后幼苗阶段次生根和绿叶面积少,光合能力低,有机和无机营养不足,导致分蘖成穗率低,穗数往往不足^[2]。因此,应根据不同年份小麦返青早晚、返青至起身期积温多少,采取相应技术措施,促进或控制分蘖生长发育,达到穗足不倒,穗多粒饱。

3 讨论

小麦进入高产(400 - 600kg/666.7m²)阶段^[3],穗数仍然是构成产量三因素中的主导因素,产量随着穗数的增加而逐渐提高,但当穗数增加到一定值时,产量则出现下降的趋势。中穗型品种,产量 400 - 500kg/666.7m²,适宜的穗数 40 万/666.7m²,范围 34 - 45 万;产量 500 - 600kg/666.7m²,适宜的穗数 47 万/666.7m²,范围 43 - 50 万。穗数若超过 50 万/666.7m²,增加穗数提高的产量,往往弥补不了导致穗粒数的减少、千粒重的减轻而引起产量的降低。

小麦进入高产更高产(600kg/666.7m² 以上)阶段^[3],穗粒重则是构成产量的主导因素,增加穗粒数、提高粒重是栽培的主攻方向。中穗型品种实现高产更高产比较稳妥,适宜的穗数 40 - 45 万/666.7m²,穗粒数 40 - 45 个,千粒重 40 - 45g,穗粒重 1.6 - 2.0g。

小麦的穗数,取决于年后最高茎数的多少,最高茎数多,穗数就多,最高茎数少,穗数则少。最高茎数的多少,则取决于年后幼苗阶段时间长短、积温多少。因此,应根据不同的年份,采取相应栽培措施,促进或抑制分蘖生长,以获得穗足不倒,穗大粒饱。

参考文献

- [1] 孙本普等,气候条件对冬小麦穗数的影响研究,中国生态农业学报,2005,13(4):60 - 64.
- [2] 孙本普等,不同年份对小麦穗数穗粒数的影响及其对策,小麦研究,2004,25(4):28 - 33.
- [3] 山东省农业厅编著,山东小麦,农业出版社,1990,203.

(上接第 20 页)

则是外植体仅与部分培养基接触,营养供应范围小,且易于局部积累外植体代谢所产生的有害物质。液体培养基的最大优点是增加外植体与培养基的接触面,改善营养供应,外植体生长速度较快,同时可避免代谢有害物质的积累,但其缺点是透气性差,且外植体难以固定位置进行性状和生长过程观察。但液体培养在震荡条件下可以适当改善气体的交换。

此外,培养基的形态,也与组织的器官建成有一定影响,通常情况下固体培养基有利于诱导愈伤组织,而液体培养则有利于细胞和胚状体增殖,因此液体培养基和固体培养基交替培养春兰原球茎,有利于组织的快速增殖。

参考文献

- [1] 朱根发,蒋明殿.大花蕙兰的组织培养和快速繁殖技术,广东农业科学.2004(4):36 - 38.
- [2] 李军,柴向华,曾宝王.蝴蝶兰组培工厂化生产技术,园艺报.2004,31(3):413 - 414.
- [3] 崔广荣,刘云兵,张俊长,谷业理.文心兰组织培养的研究,园艺学报.2004,31(2):253 - 255.
- [4] 项艳,於凤安,彭镇华.墨兰离体快繁研究,林业科学研究.2003,16(4):434 - 438.
- [5] 熊英,黄寿先,黄广业,周传明,潘晓芳.虎头兰组培快速繁殖技术的研究,广西农业生物科学.2003,22(3):186 - 190.

(责任编辑:王方芳)