

线艺建兰的组织培养和快速繁殖(简报)

李 丽, 罗君琴, 聂振鹏, 孙建华, 柯甫志, 徐建国

(浙江省柑橘研究所, 浙江 黄岩 318020)

Tissue Culture and Rapid Propagation of *Cymbidium ensifolium* with Verge Line Pattern Leaves

LI Li, LUO Jun-qin, NIE Zhen-peng, SUN Jian-hua, KE Fu-zhi, XU Jian-guo

(Citrus Research Institute of Zhejiang Province, Huangyan 318020, Zhejiang China)

摘 要: 以线艺建兰茎尖、腋芽为外植体, 接种在 $1/2MS + 6-BA\ 3.0mg/L + NAA\ 0.3mg/L$ 培养基上形成原球茎, 原球茎在 $1/2MS + 6-BA\ 0.1mg/L + NAA\ 1.0mg/L$ 培养基上可大量增殖, 并伸长生长形成丛生型根状茎; 根状茎在 $MS + 6-BA\ 2.0mg/L + PP_{333}\ 1.0mg/L + NAA\ 0.5mg/L$ 培养基上可分化成小苗, 分化率达 46.3%; 小苗在 $MS + IBA\ 1.0mg/L + GA\ 0.5mg/L +$ 香蕉泥 $100g/L$ 的培养基上生根壮苗, 生根率达 100%。

关键词: 线艺建兰; 茎尖; 腋芽; 根状茎; 植株再生

中图分类号: Q943.1

文献标识码: B

文章编号: 1009-7791(2008)02-0069-02

1 植物材料类别 线艺建兰 (*Cymbidium ensifolium* with Verge Line Pattern Leaves)的茎尖和腋芽。

2 培养条件 基本培养基为改良的 $1/2MS$ (含 $1/2MS$ 大量元素、 $1/2MS$ 微量元素)。根状茎诱导及增殖培养基: (1) $1/2MS + 6-BA\ 3.0mg/L$ (单位下同) + $NAA\ 0.3$; (2) $1/2MS + 6-BA\ 0.1 + NAA\ 1.0$ 。芽分化培养基: (3) $MS + 6-BA\ 2.0 + PP_{333}\ 1.0 + NAA\ 0.5$ 。生根及壮苗培养基: (4) $1/2MS + IBA\ 1.0 + GA\ 0.5$ 。以上培养基 (1) (2) (3) 含蔗糖 $20g/L$, (4) 含蔗糖 $30g/L +$ 香蕉泥 $100g/L$, 琼脂 0.8% , 活性炭 $0.5 \sim 1.0g/L$, $pH\ 5.4 \sim 5.6$ 。培养温度 $(23 \pm 2)^{\circ}C$, 光强 $20 \sim 30\ \mu mol/m^2 \cdot s$, 光照周期 $10h/d$ 。

3 生长与分化情况

3.1 无菌材料获取 选取叶片尚未展开的健壮无病新芽, 自来水冲洗干净, 在超净工作台上剥去外层叶片, 用 70% 酒精浸泡 $30s$, 再用 10% 次氯酸钠消毒 $5min$, 无菌水冲洗数次, 最后用 0.1% 升汞(加 3 滴吐温-80)消毒 $8min$, 无菌水冲洗数次。小心剥去包叶, 掰下腋芽, 切去茎尖基部伤口褐变部分, 切成 $2 \sim 5mm$ 长的芽, 再接种到诱导培养基上。

3.2 根状茎诱导与增殖 茎尖和腋芽接种于培养基 (1) 中, 约 $40d$ 后茎尖和腋芽由白转绿, 茎尖开始膨大, $80d$ 后在茎尖膨大处形成愈伤(图 1), 其上分布着类似桑椹的球状突起, 至 $100d$ 左右这些球状突起伸长生长形成原球茎或根状茎, 原球茎表面覆有白色绒毛, 顶端有芽点(图 2); 腋芽培养 $60d$ 后, 基部开始膨大; 约 $100d$ 后从膨大处分化出原球茎, 当原球茎长度达 $5mm$ 左右时, 将其掰散转入培养基 (2) 中进行增殖培养, $50d$ 为 1 个培养周期, 经 $3 \sim 4$ 个周期的培养, 原球茎大量增殖并形成丛生型根状茎, 同时部分根状茎分化成小苗(图 2)。将丛生型根状茎掰成带 $3 \sim 5$ 条根状茎的接种体, 转入培养基 (3) 中, 根状茎生长约 $60d$ 开始大量分化成苗(图 3), $90d$ 后芽分化率达 46.3% 。

3.3 壮苗与生根 将分化出的高约 $3 \sim 5cm$ 的小苗切成单株, 接种在培养基 (4) 中进行生根与壮苗培养, 约 $7d$ 后小苗开始产生白色根尖, $15d$ 后形成 $3 \sim 5$ 条约 $3 \sim 5cm$ 长的粗壮根(图 4), 生根率达 100% 。

3.4 试管苗移栽 将经过壮苗生根培养的试管苗移至培养室外, 在 $3\ 000 \sim 8\ 000\ lx$ 散射光下锻炼 $3 \sim 5d$,

收稿日期: 2008-01-09

基金项目: 浙江省台州市科技资助项目 (053ky07)

作者简介: 李丽 (1976-), 女, 浙江黄岩人, 助理研究员, 大学本科, 从事园艺植物组培技术研究。

注: 徐建国为通讯作者。

再移入温室大棚内(遮光率 70%~80%), 先将瓶盖略微打开, 直至完全打开锻炼 5~7d, 最后小心倒出试管苗, 用清水洗去根部琼脂, 移入陶粒、苔藓(1:1)的基质中, 再用 1 000 倍多菌灵溶液浇透, 置于相对湿度 80%~90%、温度 15~25℃条件下培养, 并注意遮荫和通风。移栽苗生长健壮, 成活率达 50% 以上。

4 意义与进展 线艺兰是国兰线艺品种的总称, 是国兰受雷击、辐射等自然环境因素的刺激, 叶片上出现黄、白色线条或斑纹等艺象。受人们新奇消费心理的影响, 线艺兰比同种无艺象的兰花更具观赏价值, 同时由于自然环境恶化、人为野蛮采挖和人工养护困难等因素, 使本就稀少的野生艺兰珍品大量丧失, 许多珍稀品种无法大量繁殖以满足日益增长的市场需求。本试验应用组织培养方法, 以线艺建兰茎尖和腋芽为外植体, 成功诱导出根状茎并获得再生植株, 其组培苗线艺性状明显保持, 说明线艺通过无性条件的组织培养可以稳定遗传。本研究所获得的大量可靠数据, 可为线艺兰的快速繁殖和种质资源保存提供理论依据。

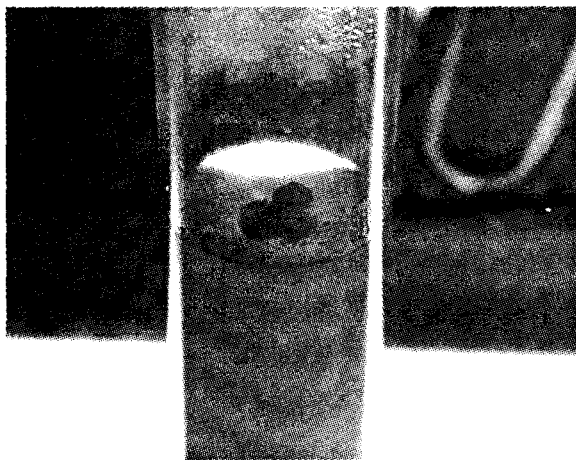


图 1 茎尖诱导出愈伤组织



图 2 增殖的原球茎或根状茎



图 3 再分化苗

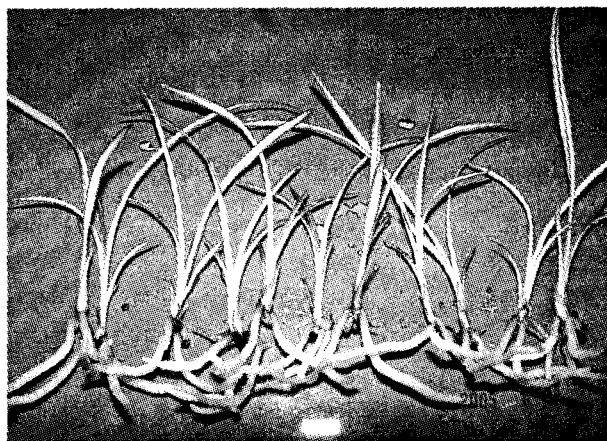


图 4 生根苗