

# 蝴蝶兰丛生芽、原球茎途径的组织培养研究

刘 亮, 易自力, 蒋建雄, 陈智勇, 黄丽芳

(湖南农业大学 生物科学技术学院, 湖南 长沙 410128)

**摘 要:** 对蝴蝶兰丛生芽、原球茎途径的组织培养进行研究, 结果表明, 不经过愈伤组织直接诱导丛生芽的过程中, 1/2MS + 6-BA 6.0mg/L 和 1/2MS + 6-BA 3.0mg/L + NAA 0.2mg/L 两种培养基的诱导率可达 100%, 丛生芽增殖阶段采用 1/2MS + 6-BA 5.0mg/L + NAA 0.5mg/L 效果最好; 原球茎途径中, 1/2MS + 6-BA 15.0mg/L + NAA 1.0mg/L 诱导率达 20.0%, 接入 1/2MS + 6-BA 3.0mg/L + NAA 0.5mg/L 培养基中, 增殖倍数达 7.4, 随后转入 1/2MS + 6-BA 1.0mg/L + NAA 0.5mg/L 中, 可很快分化成芽。生根培养基以 1/2MS + IBA 0.3mg/L 较好, 将生根的蝴蝶兰移栽至水苔中, 两个月后成活率达 100%。此外, 蝴蝶兰移栽 6 个月后转至水培更有利于生长。  
**关键词:** 蝴蝶兰; 原球茎; 丛生芽; 组织培养

中图分类号: S682.31; Q943.1 文献标识码: A 文章编号: 1009-7791(2008)03-0043-03

## A Study on Tissue Culture of *Phalaenopsis* spp.

LIU Liang, YI Zi-li, JIANG Jian-xiong, CHEN Zhi-yong, HUANG Li-fang

(College of Bioscience & Technology, Hunan Agriculture University, Changsha 410128, Hunan China)

**Abstract:** The experiment studied in the tissue culture of *Phalaenopsis* spp.. The results showed that in 1/2MS medium with 6-BA3.0mg/L+NAA0.2mg/L or with 6-BA 6.0mg/L, the induction rate of clustered shoots reached 100%. During the proliferating period of clustered shoots, the 1/2MS medium with 6-BA5.0mg/L+NAA0.5mg/L showed the best effects; in 1/2MS medium with 6-BA 15.0mg/L + NAA 1.0mg/L, the induction rate of protocorm-like body reached 20%, and in 1/2MS medium with 6-BA3.0mg/L+NAA0.5mg/L, the coefficient of reproduction is up to 7.4. It was easy for protocorm-like body differentiation to buds in 1/2MS+6-BA1.0mg/L+NAA0.5mg/L. In rooting stage, the 1/2MS medium with IBA0.3 mg/L was efficient. Transplanted them on water moor, and its survive rate reached 100% after two months. In addition, it was more conducive to the growth by water culture in the late cultivation.

**Key words:** *Phalaenopsis* spp.; protocorm-like body; clustered shoots; tissue culture

蝴蝶兰(*Phalaenopsis* spp.)为兰科蝴蝶兰属花卉, 原产于菲律宾、印度尼西亚、泰国、马来西亚及我国台湾等地<sup>[1]</sup>。蝴蝶兰花型奇特, 色彩艳丽, 花朵色彩和花纹变化层出不穷, 花期持久, 可达 2~4 个月, 素有“洋兰皇后”之美誉。它不仅是高档盆花, 还可用作贵宾胸花、花篮插花等, 具有极高的欣赏价值与经济价值。长期以来, 世界各地广泛开展蝴蝶兰快速繁殖途径的研究, 以满足日益增长的市场需要。蝴蝶兰为单茎气生兰, 少有侧芽萌发, 很难通过分蘖繁殖; 其种子发芽率低, 播种繁殖更加困难。因此, 繁殖蝴蝶兰一般采用组织培养方式。利用种子无菌发芽及原球茎途径快速繁殖蝴蝶兰的报道较多, 但以上两种方法均会产生较高的变异率。为了进一步减少变异, 人们开始研究蝴蝶兰丛生芽途径的快速繁殖<sup>[2,3]</sup>。本文对两个蝴蝶兰品种丛生芽、原球茎途径的组织培养及生根壮苗、移栽等方面进行研究, 并成功获得再生植株。

收稿日期: 2008-03-31

基金项目: 湖南省长沙市科技计划重大专项 (K051003-22) 资助

作者简介: 刘亮 (1982-), 女, 湖南长沙人, 硕士, 从事花卉组织培养研究。

注: 易自力为通讯作者。

## 1 材料与方 法

### 1.1 丛生芽途径

1.1.1 材料 供试材料为两个蝴蝶兰杂交品种,分别为白花红唇系列的‘红唇美人’和迷你系列的‘婚宴’(多分枝品种)。

1.1.2 方法 (1)取材与消毒:剪取花朵将要凋谢的花梗,其中多分枝品种在花梗芽即将抽出时剪取。用 75%酒精将花梗擦拭干净,然后以节为单位切成段,含芽的花梗上下留不同长度,置于超净工作台。将花梗腋芽的苞片去除,放入 0.1%升汞中 12min,无菌水洗涤 5 次,然后截去两端,取中间部分插入培养基中。(2)培养基:以 1/2MS 为基本培养基,在不同培养阶段分别添加不同浓度的生长调节剂(表 1 和表 2),加入 0.5%琼脂粉,3%食用白砂糖,pH5.8。(3)培养条件:培养温度(25±2)℃,光照强度 1 500 ~ 2 000 lx,连续光照 12h/d。

### 1.2 原球茎途径

1.2.1 材料 材料为萌发出的休眠芽的幼嫩叶片和成熟植株的花柄。

1.2.2 方法 (1)花梗的取材及消毒:剪取花梗,用 75%酒精擦拭干净,然后切成约 2mm 的薄片,放入 0.1%升汞中 10min,无菌水洗涤 5 次,分别接入⑤~⑧培养基中。(2)幼嫩叶片的取材:休眠芽萌发出 1~2 片叶后,取其幼嫩叶片,切去边缘部分,直接接种于①~④培养基中。(3)培养基:①1/2MS + 6-BA 6.0mg/L(单位下同) + NAA 1.0,②1/2MS + 6-BA 10.0,③1/2MS + 6-BA 10.0 + NAA 1.0,④1/2MS + 6-BA 15.0 + NAA 1.0,⑤1/2MS + 6-BA 3.0,⑥1/2MS + 6-BA 1.0 + NAA 0.5,⑦1/2MS + 6-BA 3.0 + NAA 0.5,⑧1/2MS + 6-BA 5.0 + NAA 0.5,以上培养基均添加 0.5%琼脂粉,3%蔗糖,pH 5.8。(4)培养条件:培养温度(25±2)℃,光照强度 1 500 ~ 2 000 lx,连续光照 12h/d。

## 2 结果与分析

### 2.1 丛生芽途径

2.1.1 花梗腋芽诱导 外植体接种约 14d 后,腋芽开始萌动膨大,约 20d 后长出小叶。各培养基均能诱导出花梗芽,且出芽率较高,但出芽时间有明显差异,其中接种于 1/2MS + 6-BA 6.0 的腋芽最早诱导出花梗芽(表 1)。对于多分枝的‘婚宴’品种,接种约 14d 后,腋芽开始萌动膨大,随后抽出细嫩梗茎,细嫩梗茎上的芽点又可抽出芽来,可使诱导率提高 2~3 倍。

表 1 不同 6-BA 与 NAA 配比对蝴蝶兰花梗腋芽诱导的影响

培养基(mg/L)	诱导时间(d)	接种数(个)	诱导成苗(个)	诱导率(%)
1/2MS + 6-BA 1.0	28	20	15	75
1/2MS + 6-BA 3.0	20	20	18	90
1/2MS + 6-BA 6.0	14	20	20	100
1/2MS + 6-BA 3.0 + NAA 0.2	15	20	20	100

在不添加 NAA 的条件下,随着 6-BA 浓度的增加,诱导率提高,且诱导时间缩短,说明 6-BA 是影响腋芽诱导的重要因素,且较高浓度的 6-BA 更有利于腋芽诱导。当 6-BA 3.0mg/L 时,添加少量 NAA,诱导率也可达 100%,可见 6-BA 和 NAA 混合使用能达到较好的诱导效果。

2.1.2 丛生芽诱导 截取花梗腋芽诱导得到的花梗芽数目较少,因此笔者将切割下来的花梗芽移接到 1/2MS+6-BA3.0 培养基中诱导丛生芽,约 1 个月后可诱导出丛生芽。

2.1.3 丛生芽增殖 为了使丛生芽快速增殖,采用 4 种培养基进行实验。培养两个月后统计,结果表明,1/2MS + 6-BA 5.0 + NAA 0.5 培养基中增殖倍数最高,可达 5.5 倍(表 2)。可见丛生芽的增殖仍需较高浓度

表 2 6-BA 与 NAA 不同配比对蝴蝶兰丛生芽增殖的影响

培养基(mg/L)	接种数(个)	新增芽数(个)	增殖倍数
1/2MS + 6-BA 1.0 + NAA 0.5	89	228	3.56
1/2MS + 6-BA 3.0 + NAA 0.5	100	480	4.80
1/2MS + 6-BA 5.0 + NAA 0.5	90	405	5.50
1/2MS + 6-BA 3.0	86	374	5.35

6-BA 与低浓度 NAA 混合使用。

### 2.2 原球茎途径

2.2.1 原球茎诱导 外植体叶片接入培养基后约 38d,③、④培养基中均出现浅绿色的颗粒状突起,约 50d 左右,①培养基中也开始出现原球茎状体,但②培养基中一直未诱导出原球茎状体。接入到各培养基中的花柄薄片两个月后仍未诱导出原球茎状体,诱导结果见表 3。

从叶片诱导原球茎过程中可知,原球茎诱导需高浓度的6-BA,本实验设定的最高6-BA浓度为15mg/L,诱导率为20.0%。②培养基的6-BA虽然达到了10mg/L,但由于未添加NAA,诱导率为0,可见NAA在原球茎的诱导中也起着重要作用。在花柄诱导原球茎的实验中,⑤~⑧培养基中均未产生原球茎,其原因有待进一步实验。

**2.2.2 原球茎增殖与分化** 将叶片诱导的原球茎接入1/2MS+6-BA 3.0+NAA 0.5培养基中,两个月后增殖倍数达7.4,随后转入1/2MS+6-BA 1.0+NAA 0.5中,可很快分化出芽。

### 2.3 生根壮苗

将两种途径获得的增殖芽转入1/2MS+NAA 1.0和1/2MS+IBA 0.3培养基中进行生根壮苗试验。结果表明,两种培养基均能诱导试管苗生根,但后者生根快,平均根数可达3.3条,植株生长健壮。

### 2.4 移栽

当试管苗具3~4片叶、2~3条根时即可出瓶移栽。为了提高试管苗移栽成活率,移栽前应进行炼苗。将试管苗移至明亮通风的炼苗室中,揭开瓶盖炼苗2~3d,然后将苗取出,洗净粘在根部的培养基。将试管苗放入0.1%高锰酸钾中浸泡20~30min,再移栽至已消毒的基质上。本实验选用水苔、泥炭+珍珠岩两种基质进行实验,并用水培方式进行对比,以期找到更适合蝴蝶兰的栽培方式。

由表4可见,水苔较适合蝴蝶兰移栽,其移栽成活率可达100.0%。而水培蝴蝶兰前两个月成活率可达92.3%,但幼苗长势不佳,植株弱小,且长霉较多。至第三个月,较弱小的苗相继死亡,成活率仅64.6%。为进一步明确水培方式是否适合蝴蝶兰栽培,笔者将水苔栽培六个月的幼苗转为水培,结果发现水培植株生长速度比基质中的快,且长势好。一些栽培在基质中根已腐烂、叶片萎蔫的蝴蝶兰转为水培后,又能长出新根,叶片也重新挺立。综上所述,蝴蝶兰组培苗前期适宜用基质栽培,待其生长较为健壮后再转至水培,则更有利于生长。

表3 6-BA与NAA不同对比对蝴蝶兰原球茎诱导的影响

培养基	外植体	诱导时间(d)	原球茎诱导率(%)
①	叶片	50	11.1%
②	叶片	60	0
③	叶片	38	15.0%
④	叶片	38	20.0%
⑤~⑧	花柄	60	0

表4 不同栽培方式对移栽成活率的影响

栽培方式	移栽苗数 (株)	成活率(%)		3个月后长势
		2个月	3个月	
水苔	30	100.0	100.0	长势较好
泥炭+珍珠岩	40	62.5	60.0	长势差,长霉较多
水培	65	92.3	64.6	长势差,长霉较多

## 3 结论

目前,蝴蝶兰组织培养研究大多采用原球茎途径<sup>[4-6]</sup>,而从生芽途径报道较少。本实验对两种途径进行了研究,发现在原球茎诱导的环节中,叶片的原球茎诱导率很低,且诱导时间较长,而花柄不能诱导出原球茎,可见提高原球茎诱导率是该途径的关键,仍待进一步提高;而从生芽途径诱导率高,诱导时间较短,丛生芽增殖率也较高,可达3~5倍,且变异率较前者低。相对而言,丛生芽诱导是一条快速繁殖蝴蝶兰的好途径。

从花梗腋芽诱导实验来看,花梗消毒是极为重要的一步,只要消毒液及消毒时间掌握准确,一般能诱导出芽,且诱导率较高。本实验培养基均采用白糖代替蔗糖,不论是诱导还是增殖培养,均取得较好结果,且节约成本。有分枝的‘婚宴’红花品种在花梗芽即将抽出分枝时取材,可先抽出梗茎,然后由梗茎的芽点再抽出芽,可使诱导率提高2~3倍。

蝴蝶兰栽培实验结果表明,组培苗前期适宜用水苔基质栽培,待生长较为健壮后转至水培,则更有利于生长。

## 参考文献:

- [1]曹改义,等.实用植物组织培养技术教程[M].兰州:甘肃科学技术出版社,2002,6:179,181.
- [2]刘荣维,等.丛生芽—蝴蝶兰无性快速繁殖的新途径[J].热带作物学报,1993,14(2):105-107.
- [3]潘学峰,等.利用丛生芽途径快速繁殖蝴蝶兰的研究[J].海南大学学报(自然科学版),2005,23(1):47-52.
- [4]周俊辉,等.蝴蝶兰原球茎增殖培养的研究[J].仲恺农业技术学院学报,2002,15(3):13-17.
- [5]王静,等.大量元素、有机添加物、激素对蝴蝶兰原球茎增殖的影响[J].上海农业科技,2004(3):21-23.
- [6]邹金环,等.蝴蝶兰组织培养快速繁殖技术研究[J].北方园艺,2005(6):86-87.