

蝴蝶兰组培快繁技术的研究进展

李娜

(辽宁工程技术大学理学院, 辽宁 阜新 123000)

摘要: 蝴蝶兰采用组培快繁技术进行种苗繁殖, 具有增殖迅速、增殖率高、易脱毒及可周年生产等优点, 是大规模生产蝴蝶兰的唯一途径。概述了我国蝴蝶兰组培快繁技术的研究进展, 分别论述了不同外植体、基本培养基、激素及其他添加物对蝴蝶兰类原球茎诱导、增殖和分化的影响, 介绍了蝴蝶兰外植体褐变的防治措施以及生根壮苗培养的方法, 并分析了蝴蝶兰组培快繁中存在的问题。

关键词: 蝴蝶兰; 组培快繁; 研究进展

中图分类号: S682.31

文献标识码: A

文章编号: 1004-874X(2007)11-0044-03

Research progress on the tissue culture and rapid propagation of *Phalaenopsis* spp.

LI Na

(College of Science, Liaoning Technical University, Fuxin 123000, China)

Abstract: The seedling propagation with the techniques of tissue culture had the advantages of high reproducibility with quick speed, easy to remove the virus, anniversary production without season limited and so on. Therefore, it became the only method for the mass production of *Phalaenopsis*. The progress of tissue culture of *Phalaenopsis* in China was reviewed in this paper. The effects of different explants, culture mediums, hormones and other nutrition compositions on the inducement, multiplication and differentiation of protocorm-like body were compared. Besides, the measures of inhibiting the browning of explants and rooting of seedlings before transplanting were also introduced. At last, the exist problems in the tissue culture of *Phalaenopsis* were analysed.

Key words: *Phalaenopsis*; tissue culture and rapid propagation; research progress

蝴蝶兰(*Phalaenopsis* spp.)属热带、亚热带气生兰, 原产于菲律宾、印度尼西亚、泰国、马来西亚和我国台湾等地, 其株型美观, 枝叶繁茂, 花朵硕大、形状奇特、色彩艳丽且开花期长, 观赏价值极高, 在热带兰中素有“兰花皇后”的美誉, 是目前兰科植物中栽培最广泛的种类之一, 同时也是室内绿化美化的新型观赏花卉, 国内外市场对其需求量越来越大。但是, 由于蝴蝶兰是单茎性气生兰, 植株很少发育侧枝, 很难采用常规分株方式进行无性繁殖; 其种子也不含胚乳或其他组织, 在自然条件下萌发率极低, 因此无法利用播种方式进行有性繁殖^[1]。而采用组织培养方法进行种苗繁殖是目前蝴蝶兰大规模生产的唯一途径。蝴蝶兰快速繁殖的途径

主要是利用各种类型的外植体诱导类原球茎, 进而诱导分生苗实现快繁, 不用通过诱导愈伤组织而直接分化丛生芽。近年来也有通过诱导愈伤组织途径进行蝴蝶兰植株再生^[2-3]以及花萼培养、试管苗分株等方法进行繁殖。本文概述了近年来蝴蝶兰的组织培养与快繁技术的研究进展, 包括外植体、基本培养基、激素及其他添加物的选择, 外植体褐变的防治措施以及生根壮苗培养方法等, 以期对蝴蝶兰的生产发展提供参考。

1 蝴蝶兰组培快繁的影响因素

1.1 外植体的选择

近年来, 国内外学者对蝴蝶兰的组织培养技术进行了大量研究, 研究者利用各种外植体如种子^[4-5]、胚^[6-7]、叶片^[8]、根段^[9]、根尖^[4]、茎尖^[10-12]、花梗腋芽^[13]、花萼节间^[14]、花梗节或节间切段^[15-16]等诱导类原球茎, 进而诱导分生苗实现快繁。大量研究表明, 在蝴蝶兰进行组织

收稿日期: 2007-08-22

基金项目: 辽宁工程技术大学青年科学基金项目

作者简介: 李娜(1976-), 女, 硕士, 讲师, E-mail: linamaoyongqiang@126.com

培养过程中,选取的外植体不同,原球茎的诱导率也有很大差异,其中幼叶、茎尖、花梗腋芽是蝴蝶兰原球茎诱导的较佳外植体,叶片和根段的诱导效果最差。但是,采用茎尖作外植体会对植株造成损伤,因此蝴蝶兰的组织培养通常以幼叶或花梗腋芽为外植体。

1.2 基本培养基的选择

蝴蝶兰组织培养采用的基本培养基有 MS、1/2MS、VW、B5、KC、花宝及其改良型等。在原球茎的诱导过程中,不同的蝴蝶兰品种和外植体对最适培养基的选择有所不同,且适当减少培养基中大量元素和部分微量元素的添加量有利于原球茎的增殖。周俊辉等^[17]以蝴蝶兰红花品种为试材,研究了 MS、1/2MS 和改良 KC 等 3 种基本培养基的快繁效果,结果表明改良 KC 的效果最好、1/2MS 次之、MS 最差。杨海芸等^[18]以蝴蝶兰品系 RSW 的离体叶片为外植体,比较了 3 种基本培养基对不定芽诱导的影响,结果发现 MS 和 1/2MS 最为适宜,而改良 KC 则不利于不定芽的发生。王静等^[19]以红花系 085 号和白花系 0217 号的蝴蝶兰杂交品种为材料,研究了大量元素对蝴蝶兰原球茎增殖与分化的影响,结果表明,大量元素对原球茎增殖影响较大,1/2MS 培养基对原球茎增殖最有利。鲁雪华等^[15]在筛选花梗节间切段诱导原球茎的最适培养基时发现,1/2MS 和改良 MS 比 MS 的诱导培养效果较好,减少 MS 培养基中的大量元素、部分微量元素和有机成分或增加少量叶酸和生物素,对原球茎的增殖生长有利。曾宋君等^[4]以花宝一号、花宝二号为主要成分研制出 G3 培养基,其对蝴蝶兰的接种效果优于 1/2MS、MS 和 KC 等基本培养基。

1.3 激素及其他添加物的选择

一般情况下,原球茎在基本培养基上即可增殖、分化,但在基本培养基中附加适量激素或其他添加物可显著促进原球茎的增殖与分化。目前,在蝴蝶兰组织培养中常用的激素有 GA_3 、6-BA、NAA、2,4-D 和 IAA 等。有关研究表明,高浓度(6 mg/L)6-BA 将刺激多酚氧化酶(PPO)的活性、容易使原球茎发生褐变,而降低 6-BA 浓度(3~5 mg/L)则能促使原球茎的分化^[20]。周俊辉等^[17]研究认为,低浓度 NAA 对原球茎的增殖和出苗均有促进作用,高浓度则不利于原球茎增殖。王静等^[19]发现,适宜浓度的 6-BA 与较低浓度的 NAA 配合,有利于原球茎的增殖,其中 6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.3 mg/L 是蝴蝶兰原球茎增殖的最佳激素组合;此外,在培养基中添加 GA_3 1.0 mg/L 对原球茎分化成芽有一定

的抑制效果,因此为获得大量原球茎而避免分化成芽可适当添加 GA_3 。陈勇等^[21]研究认为,高浓度 NAA 对蝴蝶兰原球茎增殖有一定的抑制作用,当 NAA 浓度从 1.0 mg/L 增加至 3.0 mg/L 时,原球茎增殖率相应从 98.3%下降至 38.3%;而在单独添加 6-BA 3.0 mg/L 的条件下,原球茎增殖迅速,且增殖率高于其他激素组合。

在培养基中添加适量蛋白胍、椰子汁、香蕉汁、番茄汁、苹果汁等天然提取物对原球茎增殖也有明显的促进效果。陈勇等^[21]研究表明,附加椰子汁、苹果汁、马铃薯汁和香蕉汁的培养基与对照相比,原球茎增殖率明显提高。王献等^[22]以白色花系蝴蝶兰的原球茎为材料,研究了椰子汁、马铃薯汁和香蕉汁对原球茎幼苗分化的影响,结果表明,3 种添加物均可提高原球茎的增殖率,其中椰子汁和马铃薯汁的效果优于香蕉汁。

2 外植体褐变的防治措施

蝴蝶兰外植体在组织培养过程中容易褐变死亡,褐化问题是影响其成活率的关键因素。褐化是由于植物组织中含有的 PPO 作用于酚类物质形成醌而引起的。培养基的 pH 值、矿质元素含量以及培养期间的光照、温度等都能影响植物组织的 PPO 活性,从而对植物组织的褐变产生重要影响。印芳等^[23]研究了蝴蝶兰外植体初代培养过程中不同浓度 Fe、K、Ca、Zn、Cu 等矿质元素对其褐变的影响,结果表明,培养基中 Fe、Cu 浓度越高,褐变情况越严重;培养基中 K、Ca、Zn 浓度越高,褐化越轻。赵伶俐等^[24-26]研究表明,对外植体进行遮光处理可减缓植物组织中酚类物质的合成,从而抑制褐变的发生,且不同光照强度对褐化的影响不同,其中 1 000 lx 和 3 000 lx 光强培养可降低褐化率;培养前的黑暗预处理能减轻外植体的褐化,其中以黑暗预处理 10 d 的褐化程度最轻;此外,当培养基 pH 值为 6.5 或培养温度为 20℃时外植体的褐化率最低。

有关研究表明,活性炭对蝴蝶兰原球茎和幼苗的生长均具有积极作用,在每升基本培养基中添加活性炭 1~2 g,适时切除培养物的褐化部分并及时更换新鲜培养基,能有效抑制外植体的褐变死亡^[27]。

3 生根壮苗培养方法

壮苗培养是提高植株移栽成活率的一项重要措施,而生根效果将直接影响生产效益,此阶段的关键在于严格筛选壮苗生根培养基中激素的种类和浓度,以便形成健壮幼苗。有研究表明,较高浓度的 6-BA 对蝴

蝶兰小苗的生根有明显抑制作用,低浓度的 6-BA 能促进生根;NAA 对生根有促进作用;添加苹果汁、香蕉汁、椰子汁和活性炭等也可明显促进壮苗的培养和生根,提高移栽成活率。鲁雪华等^[15]研究认为,GA₃ 0.1 mg/L+NAA 0.1 mg/L 能明显提高蝴蝶兰小苗的生根率,且植株健壮、长势好。陈勇等^[12]研究发现,在每升继代培养基中添加活性炭 0.2~1.0 g,可以促进再生植株壮苗生根。卜朝阳^[28]研究发现,改良 VW+6-BA 0.1 mg/L+NAA 0.5 mg/L+IBA 0.2 mg/L 是经济有效的生根诱导培养基。秦凡等^[10]研究认为,蝴蝶兰壮苗阶段以改良型 KC+6-BA 0.1 mg/L+NAA 0.5 mg/L 的效果较佳。

4 建议

近年来,尽管国内外在蝴蝶兰组培快繁方面取得了一定的进展,但仍然存在繁殖系数低、增殖难、继代周期偏长等问题,而且有些研究结果不一致,说明不同品种、不同外植体对培养基和培养条件的要求也大大不同。因此,应对蝴蝶兰组培快繁的影响因素进行更加细致的研究,建立更加完善和科学的体系,以更好更快地实现蝴蝶兰稀有优良品种的大量繁殖,进而保护和维持蝴蝶兰的原生种及丰富品种资源。此外,目前关于蝴蝶兰的组培快繁和栽培生理的研究较多,但有关新品种的选育研究很少,我国栽培的蝴蝶兰新品种主要从国外引进,而市场上多为陈旧品种,因此应加强蝴蝶兰育种工作,培育观赏性强、生长快、且易于栽培的新品种。

参考文献:

- [1] Park S Y, Murthy H N, Pack K Y. Rapid propagation of Phalaenopsis from floral stalk-derived leaves [J]. In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant, 2002, 38: 168-172.
- [2] Tokuhara K, Mii M. Induction of embryogenic callus and cell suspension culture from shoot tips excised from flower stalk buds of Phalaenopsis (Orchidaceae) [J]. In Vitro Cellular & Development Biology-Plant, 2001, 37 (4): 457-461.
- [3] 伍成厚,叶秀萍,梁承邳.蝴蝶兰愈伤组织诱导研究[J].亚热带植物科学, 2004, 33(4): 29-31.
- [4] 曾宋君,彭晓明,张京丽,等.蝴蝶兰的组织培养和快速繁殖[J].武汉植物学研究, 2000, 18(4): 344-346.
- [5] 章玉平,刘成运,胡鸿钧,等.蝴蝶兰无菌萌发技术的研究[J].武汉植物学研究, 2004, 22(1): 82-86.
- [6] 王慧瑜,张晓申,杨录军,等.蝴蝶兰的胚培养技术及其快速繁殖研究[J].北方园艺, 2003(5): 57.
- [7] 曹君迈,任贤,王薇,等.蝴蝶兰种子胚高频率诱导原球茎的研究[J].北方园艺, 2006(6): 130-132.
- [8] 李成慧,蔡斌,单丽丽,等.应用正交设计法探讨蝴蝶兰叶片类原球茎的诱导 [J]. 扬州大学学报 (农业与生命科学版), 2004, 25(2): 76-78.
- [9] 李进进,廖俊杰,柯丽婉,等.蝴蝶兰根段的组织培养[J].植物生理学通讯, 2000, 36(1): 37.
- [10] 秦凡,周吉源.蝴蝶兰的组织培养研究[J].生物学杂志, 2003, 20(3): 19-21.
- [11] 袁全国,庞冉琦.蝴蝶兰的组培快繁技术[J].北方园艺, 2002(4): 61.
- [12] 王荣钦.外植体部位、激素浓度对卡特兰、蝴蝶兰原球茎形成与增殖的影响[J].福建热作科技, 2000, 25(1): 31-32.
- [13] 刘林,李淑兰.温度、节位和 BA 对蝴蝶兰花茎腋芽生长的影响[J].北方园艺, 2003(5): 50-51.
- [14] 陈之林,叶秀萍,梁承邳.蝴蝶兰花萼的离体培养[J].园艺学报, 2003, 30(2): 242-244.
- [15] 鲁雪华,郭文杰,徐立晖,等.蝴蝶兰花梗节间段培养繁殖的初步研究[J].园艺学报, 2002, 29(5): 491-492.
- [16] 刘福林,李淑萍.蝴蝶兰花梗的组织培养和植株再生[J].商丘师范学院学报, 2001, 17(6): 98-99.
- [17] 周俊辉,叶超宏,陈旭高.蝴蝶兰原球茎增殖的研究[J].仲恺农业技术学院学报, 2002, 15(3): 13-17.
- [18] 杨海芸,吴震,王广东,等.不同培养条件对蝴蝶兰离体叶片不定芽发生的影响[J].南京农业大学学报, 2007, 30 (1): 44-49.
- [19] 王静,姜玉霞,郝再彬,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.
- [20] 秦凡,周吉源.不同植物生长调节剂对蝴蝶兰快速繁殖的影响[J].武汉植物学研究, 2003, 21(5): 452-456.
- [21] 陈勇,林开县,王君晖.蝴蝶兰的快速繁殖和规模化栽培技术研究[J].浙江大学学报(理学版), 2004, 31(1): 84-88.
- [22] 王献,鲁琳,刘保国,等.培养基和添加物对蝴蝶兰原球茎分化幼苗的影响[J].中南林学院学报, 2003, 23(5): 11-13.
- [23] 印芳,彭克勤,葛红,等.矿质元素对蝴蝶兰组培褐变的影响[J].北方园艺, 2006(6): 137-139.
- [24] 赵伶俐,葛红,范崇辉,等.不同光照强度对蝴蝶兰组培中外植体褐化的影响[J].北方园艺, 2006(4): 160-161.
- [25] 赵伶俐,范崇辉,葛红.黑暗预处理对蝴蝶兰组培中外植体褐化的影响[J].西北农业学报, 2006, 15(5): 248-250.
- [26] 赵伶俐,葛红,范崇辉,等.蝴蝶兰组培中 pH 和温度对外植体褐化的影响[J].园艺学报, 2006, 33(6): 1373-1376.
- [27] 姚丽娟,林绍生,徐晓薇,等.蝴蝶兰防褐化技术探讨[J].广西热带农业, 2004(3): 12-13.
- [28] 卜朝阳.蝴蝶兰高效离体繁殖途径的研究[J].西北农林科技大学学报(自然科学版), 2005, 33(12): 69-72, 77.