

蝴蝶兰组培快繁的应用研究

柏峰, 高如宾, 柏杨, 齐志广

(河北师范大学 生命科学学院, 河北 石家庄 050016)

摘要: 以蝴蝶兰的叶片、花瓣、花梗、花梗顶芽和腋芽为外植体, 通过组织培养方法诱导原球茎和丛生芽。结果表明, 花梗丛生芽诱导率为 80%, 且腋芽的萌动反应优于顶芽。

关键词: 蝴蝶兰; 组织培养; 原球茎; 丛生芽

中图分类号: Q813.1¹2

文献标识码: A

文章编号: 1009-9115 (2007) 02-0041-02

兰花生长点组织培养在国外起步较早, Morel 最先报道了用兰花生长点培养繁殖花苗的方法, 随后 Vanda 也报道了兰花生长点培养成功的试验。但是, 上述成功的实例因只用生长点为外植体, 浪费较多。在此基础上, 美国的 Wenda (1963) 进一步研究了较容易的无性繁殖兰花苗的方法, 1965 年后, 在美国、法国、日本先后出现了利用组培繁殖兰花的专业种苗商。国内也有以蝴蝶兰的茎尖、根尖、叶片等为外植体进行组培繁殖报道, 但增殖速度和增殖系数都不太理想。本试验旨在选择蝴蝶兰组培的最适外植体, 筛选诱导原球茎体、丛生芽及其增殖和生根的最佳培养基, 为蝴蝶兰试管苗的工厂化生产提供可重复的技术和科学依据。^[1]

1 材料和方法

1.1 材料

3月初从花市采购花期中的蝴蝶兰, 以蝴蝶兰叶片、花瓣、花梗、花梗腋芽和顶芽为外植体。

1.2 方法

1.2.1 培养基的配制

选用 MS 作为基本培养基, 在此基础上添加不同浓度、不同配比的植物激素, 以选择最适配比及浓度, 蔗糖 2%, 琼脂 0.7%, pH5.6。1/3MS 为无机物质减为原来的 1/3, 1/2MS 为无机物质减半。在诱导原球茎的培养基中还加有活性炭 (AC), 以防止外植体褐化。在诱导丛生芽的培养基中附加水解乳蛋白 (LH)^[2]。

表1 诱导原球茎培养基配方

序号	基本培养基	蔗糖%	琼脂%	GA ₃ (mg/L)	NAA(mg/L)	AC(mg/L)
A ₁	MS	3	0.6	1.5	0.1	300
A ₂	MS	3	0.6	1.5	0.5	300
A ₃	MS	3	0.6	2.0	0.1	300
A ₄	MS	3	0.6	2.0	0.5	300
A ₅	MS	3	0.6	2.5	0.5	300

表2 诱导丛生芽培养基配方^[3]

序号	基本培养基	LH(mg/L)	6-BA(mg/L)	NAA(mg/L)
B ₁	1/3MS	500	10	1
B ₂	1/2MS	500	7	0.7
B ₃	1/2MS	1000	3	0.2

1.2.2 材料的选取和预处理

采花梗、叶片、花瓣作为外植体, 蝴蝶兰开花过后, 剪下花梗, 剪成带一个芽, 芽上下各留 1.5~2cm 的节段, 用洗洁灵水浸泡 5~10min, 清洗后用自来水冲洗 1h^[4]。

1.2.3 灭菌处理

用 75%酒精表面灭菌 15s, 无菌水冲洗一次; 再放入

0.1%HgCl₂ 溶液中浸泡 12~15min, 其间不断摇晃, 然后用无菌水冲洗 3~4 次; 再放入 30%NaClO 溶液消毒 10~12min, 然后用无菌水冲洗 4~5 次。切除两端接触消毒液的切口, 花瓣和叶片切成 1cm² 大小, 然后在无菌条件下按极性接种在培养基上。

1.2.4 诱导培养

基金项目: 河北师范大学自然科学基金资助项目

收稿日期: 2006-04-02

作者简介: 柏峰 (1958-), 男, 河北承德人, 副教授。

将外植体接种在不同激素浓度的 MS 培养基上, 培养条件为 $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, 初期在黑暗条件下培养 7~10d, 以防止褐化, 然后在光强度为 2000~2500lx, 每天光照 12h 条件下培养。

2 结果与讨论

2.1 原球茎的诱导

通过激素的不同浓度配比, 选择最适诱导培养基, 活性炭在试验过程中起防止褐化作用。在试验中总共接种 75 个外植体, 其中无芽花梗 15 段, 叶片 40 块, 花瓣 20 块。由表 3 可知 A_2 有一定诱导力, 但不明显。在实验中观察到有萌动的外植体为叶片, 且生长很慢, 很难继续培养。总体看原球茎很难诱导。

2.2 丛生芽的诱导

由表 4 可知 B_2 、 B_3 培养基的诱导率较低, B_1 培养基诱导率最高, 可达 80%, 为最适培养基。而且在试验过程中发

现, 花梗顶芽的萌动反应不及腋芽, 腋芽的生长较快。

2.3 灭菌过程与污染率

B_2 、 B_3 培养基接种的外植体没有经过升汞灭菌, 用次氯酸钠消毒的时间加长至 30min, 结果污染率较高, 而且外植体有脱水现象, 可能由于浸泡时间过长及溶液浓度偏高造成。

2.4 分泌物

在培养过程中, 插入培养基中花梗的横断面会向培养基中分泌一种黑褐色物质并不断扩散, 在暗培养条件下会减缓分泌, 分泌物会减缓丛生芽的生长。起初猜测可能是酚类化合物, 为防止外植体褐化死亡, 一发现有黑色分泌物就不断转接。但后来发现外植体并没有因分泌物而褐化及死亡, 因此基本可以排除其分泌物是酚类物质的可能性。但其究竟是什么物质, 还有待进一步研究。

表 3 诱导原球茎结果

序号	接种数	污染数	萌动数	污染率%	萌动率%
A_1	15	2	0	13.3	0
A_2	15	2	2	13.3	13.3
A_3	15	3	0	20	0
A_4	15	2	0	13.3	0
A_5	15	4	0	26.7	0

表 4 诱导丛生芽结果

序号	接种数	污染数	芽分化数	污染率%	诱导率%
B_1	10	2	8	20	80
B_2	10	6	0	60	0
B_3	10	5	2	50	20

参考文献:

- [1] 彭立新, 王姝, 孟广云. 蝴蝶兰组织培养快繁研究[J]. 天津农业科学, 1999, 5(2): 27-28.
- [2] 潘瑞焱. 植物组织培养[M]. 广州: 广东高等教育出版社, 2001. 7-58.
- [3] 张秀清, 王志武, 刘玉敬, 等. 蝴蝶兰实生苗不同器官的离体培养[J]. 植物学通报, 1996, (1): 50-53.
- [4] 祁素萍. 蝴蝶兰、唐菖蒲组培快繁相关技术研究. 山西农业大学硕士研究生毕业论文, 2001-02.

Study on Tissue Culture and Rapid Propagation of *Phalaenopsis Hybrid*

BAI Feng, GAO Ru-bin, BAI Yang, QI Zhi-guang

(College of Life Science, Hebei Normal University, Hebei Shijiazhuang 050016, China)

Abstract: Clustered shoots were induced by tissue culture from explants that selected from flower peduncle terminal buds and flower peduncle axillary buds of *Phalaenopsis hybrid*. Inducing protocorm-like-body from leaves, flower stalks and petal. Result shows that clustered shoots induction rate can be 80%, and axillary shoot were better than terminal buds.

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

责任编辑、校对: 李春香