

蝴蝶兰花梗节间切段的类原球茎诱导与增殖

苏家乐¹, 陈尚平¹, 汤久顺², 何小弟^{2,*}, 李晓刚¹, 姜维华²

¹江苏省农业科学院园艺研究所, 南京 210014; ²扬州大学农学院, 江苏扬州 225009

提要: 采用不同基本培养基和生长调节物质浓度组合, 诱导蝴蝶兰花梗节间切段形成类原球茎和增殖的结果表明, 花梗可见后 10 d 的切段诱导效果较好, 较适宜的培养基为 $N_6+5.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} 6\text{-BA}+0.2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{KT}+2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 活性炭。活性炭控制外植体褐化的效果明显优于维生素 C。类原球茎增殖的适宜培养基为 $1/3\text{MS}+0.3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{TDZ}+0.2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{NAA}+2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 活性炭。
关键词: 蝴蝶兰; 类原球茎; 诱导; 增殖

Protocorm-like Body Induction and Propagation of *Phalaenopsis* by Using the Cutting Segment of Lower-stem-knot as Explants

SU Jia-Le¹, CHEN Shang-Ping¹, TANG Jiu-Shun², HE Xiao-Di^{2,*}, LI Xiao-Gang¹, JIANG Wei-Hua²

¹Institute of Horticulture, Jiangsu Academy of Agricultural Science, Nanjing 210014, China; ²College of Agriculture, Yangzhou University, Yangzhou, Jiangsu 225009, China

Abstract: The cutting segment of lower-stem-knot of the *Phalaenopsis* was used as explant to study PLB (protocorm-like body) induction and propagation by different basic medium formula with growth regulation substance. The result showed that the induction effect was the best at 10 d among cutting section of flowers-stem-knot from different growth phase, N_6 medium supplemented with $6\text{-BA } 5.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}+\text{KT } 0.2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}+\text{AC } 2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ was the optimum medium for PLB induction, and AC could keep less browning than Vitamin C. $1/3\text{MS}$ medium supplemented with $\text{TDZ } 0.3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}+\text{NAA } 0.2 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}+\text{AC } 2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ was the optimum medium for propagation of PLB.

Key words: *Phalaenopsis schilleriana*; protocorm-like body; induction; propagation

蝴蝶兰(*Phalaenopsis* sp.)属热带气生兰, 多产亚洲, 其花型似蝴蝶, 色泽丰富, 花期长达 1~2 个月, 在洋兰中素有“洋兰皇后”的美称(刘晓荣等 2005)。生产用的蝴蝶兰优良品种多为杂交一代, 种子繁殖会发生种性分离现象, 因此只能用无性繁殖方法繁殖。蝴蝶兰单茎气生, 多数品种不发生分株, 茎为短缩鳞球, 难于用常规无性繁殖方法繁殖, 组织培养是建立蝴蝶兰快速繁殖无性系的手段之一。近几年来关于蝴蝶兰组织培养的报道较多, 外植体多取用花梗芽(张元国等 2004), 而以花梗节间切段培养繁殖的报道尚少见。花梗节间切段诱导频率明显高于其他外植体(鲁雪华等 2002), 用花梗节间切段诱导类原球茎有明显的优势, 能在较短的时间内形成类原球茎, 提高诱导率, 有较大的生产应用价值。

本文以蝴蝶兰花梗为外植体, 探讨不同培养条件对其类原球茎诱导和增殖的影响, 以期建立

高效的花梗再生和增殖体系, 为生产服务。

材料与方法

材料为江苏省农科院智能温室内种植的银斑蝴蝶兰(*Phalaenopsis schilleriana*)。花梗来自当年生花茎。按照花梗的幼嫩程度分成 5 个处理, 分别采用花梗可见后 10、20、30、40 和 50 d 的花梗。取顶端下第 2 节花梗节间的切段用于试验。

从母体切下的花梗切割成 3~5 cm 长的切段, 用流水冲洗干净, 在超净台上, 先用 70% 酒精浸泡 20 s, 再用 0.1% HgCl_2 水溶液浸泡 6 min, 无菌水冲洗 5 次, 茎段两端各剪去 0.5 cm 后接种。

诱导类原球茎的试验: 设有基本培养基 N_6 加

收稿 2007-06-28 修定 2007-09-14

基助 江苏省农业三项工程项目[SX(2006)118]。

* 通讯作者(E-mail: he8068@163.com; Tel: 0514-7979395)。

入浓度分别为 1.0、5.0、10.0 mg·L⁻¹ 的 6-BA 和浓度为 0.2 mg·L⁻¹ 的 KT 的处理。最初 30 d 于暗中培养。培养基中加入维生素 C (VC) (0、20 mg·L⁻¹) 和活性炭(AC) (0、2 g·L⁻¹), 60 d 后统计数据。

类原球茎增殖试验有选用 N₆、MS、1/3MS (大量元素减至 1/3)、花宝 1 号(Hyponex 1) 4 种基本培养基。生长调节物质有浓度分别为 0.1、0.3、0.5 mg·L⁻¹ 的苯基噻二唑脲(TDZ), 和浓度分别为 0.1、0.2、0.3 mg·L⁻¹ 的 NAA。所有培养基均加 2% 蔗糖、6.8% 琼脂粉和 2% 活性炭, pH 5.2~5.4, 培养温度为(26±2), 光照强度为 30~40 μmol·m⁻²·s⁻¹, 每天连续光照 12 h。2 个月 后统计类原球茎的增殖量和增殖倍数(刘真华等 2005)。

结果与讨论

1 花梗节间幼嫩程度对类原球茎诱导率的影响

从表 1 可见, 在 N₆ 培养基上, 不同幼嫩程度的类原球茎分化率有较大差异, 花梗越幼嫩, 诱导率越高, 以花梗生长时间为 10 d 的诱导率最高(达 30%), 20 d 的次之(25%), 30 d 以后的仅为 4%, 50 d 的则不能诱导出类原球茎。类原球茎的生长也是越是幼嫩花梗诱导的类原球茎生长情况越好, 30 d 后, 虽有少量萌动, 但褐化严重, 长出的植株不健壮。

表 1 花梗生长时间对类原球茎诱导率的影响

Table 1 Effects of the pedicel growth time on induction rate of protocorm-like body (PLB)

花梗生长时间/d	诱导率/%	类原球茎生长情况
10	30	生长较快
20	25	生长良好, 轻度褐化
30	4	少量萌动发育, 褐化严重
40	6	褐化严重, 生长缓慢
50	0	失绿坏死

2 不同生长调节物质对类原球茎诱导的影响

取花梗可见后第 10 天的幼嫩花梗节间段切成 1.0~2.0 mm 薄片, 迅速接种于 N₆ 培养基中的结果(表 2)表明, 类原球茎诱导率在一定范围内随着 6-

BA 浓度的增加而增大, 6-BA 的浓度大于 5 mg·L⁻¹ 时, 诱导率下降, 这可能是 6-BA 促进组织褐化(李冬杰等 2005), 尤其是高量 6-BA 会使组织严重褐化之果; 从类原球茎生长情况来看, 加活性炭和 VC 的外植体褐化均减弱, 活性炭的效果优于 VC。

表 2 不同生长调节物质对类原球茎诱导的影响

Table 2 Effects of different growth regulation substances on protocorm-like body formation from the cutting segment of lower-stem-knot of *Phalaenopsis*

6-BA/ mg·L ⁻¹	维生素 C/ mg·L ⁻¹	活性炭/ g·L ⁻¹	诱导率/%	类原球茎 生长情况
1.0	0	0	0	变褐坏死
1.0	20	0	0	失绿坏死
1.0	0	2	0	不萌动
5.0	0	0	9	褐化严重
5.0	20	0	22	生长良好, 稍有褐化情况
5.0	0	2	25	生长良好
10.0	0	0	0	失绿坏死
10.0	20	0	10	少量萌动
10.0	0	2	15	生长缓慢

3 不同培养基和生长调节物质对类原球茎增殖的影响

图 1 和图 2 显示:(1)类原球茎在 1/3MS 培养基中的增殖系数最高为 4.40, N₆ 培养基次之, 增殖系数为 3.88, MS 仅为 2.20, 增殖系数最差的为花宝 1 号培养基, 仅为 1.60。削减大量元素的用量, 即降低无机盐的浓度有利于 PLB 的增殖(刘晓燕等 2005), 这可能是低盐可降低组织褐化(谭文澄和戴

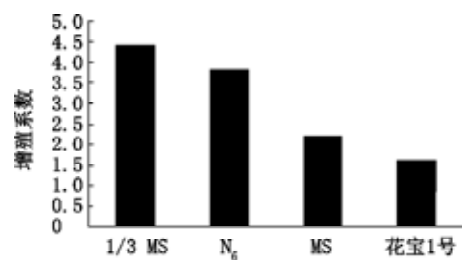


图 1 不同培养基对类原球茎增殖的影响

Fig.1 Effects of different media on propagation of PLB

策刚 1997), 从而有利于类原球茎增殖之果。

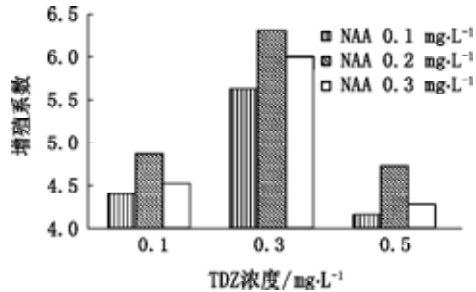


图2 生长调节物质组合对原球茎增殖的影响

Fig.2 Effects of growth regulation substance combinations on propagation of PLB

(2)在 1/3MS+150 mg·L⁻¹ 椰乳基本培养基中分别附加浓度为 0.1、0.3 和 0.5 mg·L⁻¹ TDZ 的, 加入的 NAA 浓度增加, 类原球茎的增殖系数呈增长趋势; 浓度分别为 0.1、0.2、0.3 mg·L⁻¹ NAA 中,

类原球茎增殖系数均呈先高后低的趋势, 以加 0.3 mg·L⁻¹ TDZ 的类原球茎系数为最高, 最高达 6.3 (图 2)。

参考文献

- 李冬杰, 张进献, 魏景芳, 李世杰(2005). 培养基和培养条件与红豆杉细胞培养中褐化的关系. 植物生理学通讯, 41 (1): 96~98
- 鲁雪华, 郭文杰, 徐立晖, 林新华(2002). 蝴蝶兰花梗节间段培养繁殖的初步研究. 园艺学报, 29 (5): 491~49
- 刘晓荣, 王碧青, 朱根发, 程智慧(2005). 影响蝴蝶兰生长发育的环境因子及花期调控研究进展. 西北农业学报, 14 (4): 81~85
- 刘真华, 葛红, 郭绍霞, 刘洪涛, 曹灿景, 周玉杰, 李秋香 (2005). 蝴蝶兰组织培养中的褐化控制研究. 园艺学报, 32 (4): 732~734
- 谭文澄, 戴策刚(1997). 观赏植物组织培养技术. 北京: 中国林业出版社, 150~156, 234~241
- 张元国, 刁家连, 刘玉娥, 李芳, 包艳存, 刁希强 (2004). 蝴蝶兰花梗腋芽组培再生技术体系的研究. 山东农业科学, (6): 3~5