

蝴蝶兰诱导研究

刘 钰 周胜芳 夏豫川 任 羽*
西华师范大学 四川南充 637000

摘要: 蝴蝶兰富有美观、经济意义,并具有更广泛的市场前景。文章还从外植体的研究等角度,综合介绍了对蝴蝶兰诱导的研究进展情况,对未来蝴蝶兰组培快繁的趋势做出了预测。

关键词: 蝴蝶兰; 组织培养; 诱导

Study on induction of Phalaenopsis

Liu Yu, Zhou Shengfang, Xia Yuchuan, Ren Yu*
West China Normal University, Nanchong, Sichuan 637000

Abstract: Phalaenopsis is rich in beauty and economic significance and has a broader market prospect. From the perspective of explant research, this paper also comprehensively introduced the research progress of Phalaenopsis induction and predicted the trend of tissue culture and rapid propagation of Phalaenopsis in the future.

Keywords: Phalaenopsis; Tissue culture; induction

1 引言

蝴蝶兰(PhalaenopsisaphroditeH.G.Reichenbach)是单子叶植物纲兰科虬子草属的几年生常绿草本。由于蝴蝶兰的花色美丽独特,而获得了“洋兰皇后”的美称^[1],和卡特兰、石斛兰、万代兰并列为世界四种观赏性兰^[2]。目前现已找到了超过七十多个原始种,产自于较潮湿的地方亚洲区域^[3],现有的蝴蝶兰杂交品种很多,经过官方认证的蝴蝶兰品种已经达到了10万多个^[4]。蝴蝶兰在空气中吸收水分,在树皮裂隙的腐殖质中汲取有机物。

蝴蝶兰再生力弱,较难通过分株繁育,且生长系数小,因而更难以开展常规的无性繁育。组织培养是蝴蝶兰高效生长的主要途径,利用植物组织培养方法不但能够缩短生长的时间,获取丰富成株,而且能够促进植物维持优异特性,保护种质资源^[5]。

2 蝴蝶兰诱导

2.1 诱导原球茎

2.1.1 原球茎的诱导

原球茎化是兰科植物组织培养后的特殊现象。花梗节段、根节、幼叶、茎尖等部分,均能够垂直形成原球茎;同时还能够诱发愈伤细胞,并由愈伤组织垂直诱发

原球茎产生^[6,7]。

(1) 茎尖

蝴蝶兰的分株能力弱,以茎尖为外植体进行组培快繁,能够有效地提高繁殖系数,是组织培养很好的方式。试验中多采用植物茎尖幼嫩的地方作为取材,因该地方细菌分裂力旺盛。但以蝴蝶兰的茎尖为外植体,有一定的困难。为单茎性植物,剥取蝴蝶兰的茎尖就会对母株产生危害,且蝴蝶兰的根茎很短,所以操作起来比较麻烦,易于污染,且成活率也较低。然而,以植物茎尖部作为外植体材料却有着相对容易获取类原球茎或愈伤组织的优点。潘学峰^[8]等人在对蝴蝶兰组织的培育研究中发现,以蝴蝶兰茎尖部作外植体在加入了6-BA+NAA的栽培基上,还原球茎率达到百分之九十。王芳^[9]等人用蝴蝶兰小苗上出土的茎尖为外植体,试验结果发现无菌敷料母株在MS附加高浓度的6-BA和NAA条件培育25~30d后,可以转接到单纯应用6-BA的栽培基上,并继代了几次后,能连续不断地分离、繁殖原球茎。

(2) 叶片

叶子的幼嫩程度、以及同一叶子的不同部位也会对类原球茎的构成产生影响,据张雯瓶^[10]等人的研究表明,叶子越是幼嫩,越是容易产生类原球茎;对叶片叶基底的诱发率,要明显地超过对叶子顶部。叶子中心比叶顶和叶的基部诱导率高。而且,不同切割方法对原鳞

致谢: 本研究由西华师范大学科研启动项目(412903)资助。

茎的成形也有很重要的影响^[11]。张秀清^[12]等人用未切割的实生苗叶在MS附加3mg/L 6-BA的培养基上培养, 幼叶诱导率高达百分之九十, 老叶基部比叶尖和叶片的切口诱导率还高, 老叶表面朝下几乎诱导不出原球茎。卜朝阳^[13]等人以蝴蝶兰花梗作为外植体, 诱导产生无菌苗并以其无菌叶呈材料诱导产生各类原球茎, 实验结果显示, 以 $\times 0.7\text{cm}$ 的叶片大规格生长、平放方式栽培类原球茎的诱发成功率最高, 达百分之六十。杨美纯^[14]等人研究表明, 将叶片从正面向上放, 诱导效率较高。

(3) 根

相比于其他材料而言, 以蝴蝶兰根的外植体诱导比较少。因此相应的研究也就比较少。黄恩平、张云锋^[15]用蝴蝶兰实生苗根段在MS培养基加入KT和NAA诱发原鳞茎, 诱发率仅为百分之九点七。李进进^[7]等用蝴蝶兰新发现的根尖注射, 培育二周后, 根端刀口处已开展膨大, 形成淡绿色瘤状愈伤组织, 并扩大, 顺利诱发出原鳞茎。张秀清^[12]等人用根尖注射, 培育五十d后, 从根尖顶部长出原鳞茎, 诱发率高达七十五%。

(4) 花梗

花梗为外植体取材比较方便、对母株的伤害也比较小、诱导率比较高。从开始有花梗, 到后来花朵凋谢但花梗还是绿色的没有发生枯黄现象, 都可以取材用为外植体^[16]。刘福林^[17]等人将花梗切成大小约1.5~2.0mm的小片状, 平置于固体培养基MS+6-BA上, 约二周后, 外植体膨胀, 约二个月后, 圆球形的小突起逐渐增多。张彦妮^[18]等人幼嫩花梗为外植体材料研究结果表明: 将花梗用百分之零点一的升汞灭菌灭菌十五min后, 花梗腋芽启动培养基。王怀宇、刘林、鲁雪华、刘彦珍^[19-22]等人则以漏斗形瓶蕨花茎节间以及花茎腋芽作为外植体, 诱导芽获得了成功并很快地建立了不同品种快速繁殖体系。陈之林^[23]等人由花茎腋芽中诱发花萼, 并从花萼节间切片中频段诱发分离的不定芽。但花茎的取材方式因受季节的差异, 其幼嫩性也有所不同, 且诱变量亦有很大的差别。汤久顺的^[24]项研究表明当原花茎生长10d后, 诱发率最大; 20d后最小; 30d后的诱发率最低, 50d后则完全无法诱发出原球茎。

2.1.2 原球茎增殖

(1) 基本培养基对原球茎增殖的影响

有科学研究人员提出: MS一般培养基更利于原鳞茎的生长^[25], 但也有发现低含量的无机盐更利于原鳞茎的生长。周俊辉^[26]等人以红花品种为主要材料, 研制了MS、二分之一MS和改良KC三个培养基, 结果显示发现改良KC的疗效最佳, 二分之一MS次之, 而MS则较差。

王静^[27]等以白花系二百一十七和红花系八十五的杂交繁殖种类为试材, 深入研究大量元素对蝴蝶兰原鳞茎生长与分化能力的负面影响, 结果表明大量元素对原鳞茎生长有很大负面影响, 二分之一MS对原鳞茎生长最有益。陈勇^[28]等人则指出, 二分之一MS培养基对原球茎的繁殖和分离效应好于MS培养基。

(2) 激素对原球茎增殖的影响

在蝴蝶兰的继代增殖中, 最常见的激素有6-BA和NAA。6-BA含量的上升, 原鳞茎生长倍数均有明显降低趋向, 而较低含量的NAA对原鳞茎生长和出苗都有作用。经杨海芸^[29]等人研究后证实, TDZ对蝴蝶兰不定芽的诱导远高于6-BA。周全^[30]等人先后以蝴蝶兰原鳞茎和幼芽为外植物, 探讨了蝴蝶兰原鳞茎生长的适应条件, 表明TDZ效果优于6-BA。

2.2 诱导丛生芽

不经愈伤组织直接诱导丛生芽是蝴蝶兰的一种快速繁殖方式, 能稳定遗传母本的特征。

2.2.1 丛生芽诱导

通过诱导在花茎腋芽上形成的丛生芽, 具有繁殖周期短、速度快、效果好等特点。刘荣维^[31]等人进行在总花梗腋芽诱发丛生芽, 并着力深入研究繁殖方法和壮苗培育。结果显示, 随6-BA含量增加, 丛生芽的生长率显著提高; 使用椰汁也可以培育高增殖率, 且长势也较好。而马晓娟^[32]等在蝴蝶兰丛生芽快速繁育体中研究发现, 二分之一MS的诱发率比MS高、褐化率也低。田甜^[33]将蝴蝶兰的外植体依次注射于MS、KYOTO、二分之一MS这三种培养基上, 经科学研究证明二分之一MS的培养基萌发效率最高。

2.3 无菌播种繁殖

无菌敷料种植技术把植物种子接种在合适培养基中, 并赋予相应的培育要求, 这个技术也适合于大多数热带附生兰的种子萌发, 较为普遍并取得了一定的成果。

蝴蝶兰的种子虽小而无胚乳, 但由于其播种的数量大、易于获得, 因此能够利用无菌敷料播种实现繁殖的目的, 还能够使用单胚培育技术进行杂交育种、以克服杂交培育的不亲和性、从而减少育种时间从而达到培育新品种的目的。范成五^[34]等人研究后发现选取生长一百二十d的蒴果, 播种于MS+6-BA+NAA+AC的培养基中, 在七十天以内即可出苗, 出苗率可以达到百分之一百。

3 结语

蝴蝶兰组织培养法对外植体的选取、运用及其栽培条件要求极高。如今蝴蝶兰的组织培养技术已比较成熟,

并在农业生产上进行了广泛地运用,并获得了很大的经济效益。不过,目前仍面临着继代周期长、生长期过长的问题,如何通缩短生产周期、降低生产成本还需要更加深入的研究。

参考文献:

- [1]卢思聪.中国兰与洋兰[M].中国兰与洋兰,1994.
- [2]黄胜琴,郭建军,叶庆生, et al.温度对蝴蝶兰成花诱导的研究初探[J].中山大学学报(自然科学版),2003(04):132-134.
- [3]曹孜义.实用植物组织培养技术教程[M].实用植物组织培养技术教程,1996.
- [4]陈宇勒.洋兰欣赏与栽培图说[M].洋兰欣赏与栽培图说,2004.
- [5]余增亮,邱励俭,霍裕平.离子注入生物效应及育种研究进展[J].安徽农学院学报,1991(04):251-257.
- [6]张秀清,王志武,刘玉敬, et al.蝴蝶兰实生苗不同器官的离体培养[J].植物学通报,1996(01):51+54.
- [7]李进进,廖俊杰,柯丽婉, et al.蝴蝶兰根段的组织培养[J].植物生理学通讯,2000(01):37.
- [8]潘学峰,黄凤娇.海南蝴蝶兰的组织培养研究[J].海南大学学报(自然科学版),1997(03):206-211.
- [9]王芳,文峰,武斌, et al.激素对蝴蝶兰快速繁殖的影响[J].新疆农业大学学报,2003(04):68-71.
- [10]张雯颖,张晓波,潘刚, et al.蝴蝶兰叶片诱导类原球茎的研究[J].湖北农业科学,2010(05):1033-1034.
- [11]谭文澄,戴策刚.观赏植物组织培养技术[M].观赏植物组织培养技术,1991.
- [12]张秀清,王志武,王春英, et al.蝴蝶兰实生苗原球茎诱导研究[J].莱阳农学院学报,1995,01:44-46.
- [13]卜朝阳,蒋慧萍,满若君.蝴蝶兰花梗离体培养及叶片诱导类原球茎研究[J].江苏农业科学,2008(03):147-150.
- [14]杨美纯,周歧伟,许鸿源, et al.外部因子对蝴蝶兰叶片原球茎状体发生的影响[J].广西植物,2000(01):42-46.
- [15]黄恩平,张云峰.蝴蝶兰无性繁殖初探[J].云南教育学院学报,1995(05):63-65.
- [16]刘翠兰,王小芳,李双云, et al.蝴蝶兰花梗芽的组织培养[J].山东林业科技,2004(4):37-37.
- [17]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(06):98-99.
- [18]张彦妮,边红琳,陈立新.蝴蝶兰幼嫩花梗组织培养和快速繁殖[J].草业科学,2011,28(04):590-596.
- [19]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(05):50-51.
- [20]刘彦珍,毛光志.蝴蝶兰快速繁殖关键技术研究[J].南方园艺,2011,22(04):3-5.
- [21]鲁雪华,郭文杰,徐立晖, et al.蝴蝶兰花梗节间段培养繁殖的初步研究[J].园艺学报,2002(05):491-492.
- [22]王怀宇.蝴蝶兰的快速无性繁殖[C],2004:4.
- [23]陈之林,叶秀舜,梁承邳.蝴蝶兰花萼的离体培养[J].园艺学报,2003(02):242-244.
- [24]汤久顺.蝴蝶兰组织培养与花期调控技术研究[D].扬州大学,2008.
- [25]张立全,田松英,张元国, et al.蝴蝶兰原球茎的增殖研究[J].北方园艺,2007(03):172-175.
- [26]周俊辉,叶超宏,陈旭高.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(03):13-17.
- [27]王静,姜玉霞,郝再彬, et al.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(03):21-23.
- [28]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(01):84-87+97.
- [29]杨海芸,吴震,王广东, et al.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(01):44-49.
- [30]周全,周翔,唐兴国, et al.蝴蝶兰原球茎和丛生芽增殖条件优化[J].湖北农业科学,2010,49(03):595-598.
- [31]刘荣维,梅庆超,崔元方, et al.丛生芽——蝴蝶兰无性快速繁殖的新途径[J].热带作物学报,1993(02):105-107.
- [32]马晓娟,陈瑶瑶,庄卫东, et al.蝴蝶兰丛生芽快速繁殖体系的建立[J].福建农业科技,2012(Z1):111-115.
- [33]田甜.蝴蝶兰组织培养快繁技术研究初报[J].南方农业,2015,9(031):23-24.
- [34]范成五,黄燕芬,久兰, et al.蝴蝶兰无菌播种繁殖试验[J].贵州农业科学,2006(04):28-29.