

刘幸佳,崔玉花,徐伟伟,等. 真菌诱导子对春兰根状茎增殖分化的影响[J]. 江苏农业科学,2013,41(12):45-47.

# 真菌诱导子对春兰根状茎增殖分化的影响

刘幸佳<sup>1</sup>,崔玉花<sup>2</sup>,徐伟伟<sup>3</sup>,崔永一<sup>1</sup>

(1. 浙江农林大学,浙江临安 311300, 2. 吉林省龙井市农村能源环保办公室,吉林龙井 133400;

3. 浙江省慈溪市农业技术推广中心,浙江慈溪 315300)

**摘要:**以春兰茎尖诱导出来的根状茎为材料,探讨分离自野生国兰根部的菌根真菌所制成的液体真菌诱导子对春兰根状茎增殖分化的影响。结果表明:12 种真菌诱导子均能在不同程度上促进春兰根状茎的增殖,其中分离自野生春兰根部的真菌所制成的诱导子对根状茎芽分化有明显的促进作用;此外,真菌诱导子的添加剂对春兰根状茎的增殖分化有显著影响。

**关键词:**春兰;真菌诱导子;增殖;分化

**中图分类号:**S682.310.4<sup>+</sup>3 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2013)12-0045-02

春兰(*Cymbidium goeringii*)是兰科植物中品种最为丰富的一个种,也是繁殖相对困难的种之一。兰花生产一般采用分株的方式,但繁殖系数较低。在自然条件下,兰花种子发育不完全,极难萌发,许多名贵兰花无法大量繁殖。组织培养技术的应用在一定程度上加快了国兰的繁育速度,但仅限于普通种和少数品种,需要进一步通过大量研究来改善培养基配方;同时,组培出瓶苗内含营养物质有限,抗逆性差,致使移栽驯化后生长缓慢,成活率较低。自然条件下,菌根真菌能够提供供兰科植物养分,能够分泌促进植株生长发育的物质。诱导子能够诱导植物产生抗毒素,引起植株过敏反应,在植物与微生物相互作用的过程中,刺激特定基因的表达,进而调控次生代谢产物的合成,促进植物细胞的生长与分化。真菌诱导子与植物的相互作用过程中,通过酶和基因水平调节次生代谢产物的含量。兰科菌根真菌能够分泌赤霉素、吲哚乙酸、脱落酸、玉米素、玉米素核苷等植物激素以及维生素 B<sub>2</sub>、B<sub>6</sub>、B<sub>12</sub>(叶酸)等<sup>[1-2]</sup>。而维生素和激素对兰科植物的生长发育起着重要的作用。已有研究报道,菌根真菌发酵液及其乙酸乙酯萃取液均能促进兰科植物的种子萌发、原球茎和幼苗的生长<sup>[3-5]</sup>。本研究利用菌根真菌诱导子促进春兰根状茎的生长和分化,旨在为春兰组培苗的大规模繁殖与生产探索新途径。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

供试材料:由茎尖诱导产生的春兰品种“宋梅”的根状茎。

供试菌株:分离自浙江临安大明山野生国兰营养根根部,经纯化鉴定,保存于 4℃,具体菌株来源与属名详见表 1。

表 1 菌根真菌属名及来源

编号	属名	来源	编号	属名	来源
FC2	被孢霉属	春兰	FC10	被孢霉属	春兰
FC3	被孢霉属	春兰	FC11	被孢霉属	春兰
FC4	被孢霉属	春兰	FC12	被孢霉属	春兰
FC5	毛霉属	蕙兰	FC13	被孢霉属	寒兰
FC7	毛霉属	蕙兰	FC14	被孢霉属	蕙兰
FC9	被孢霉属	蕙兰	FC17	被孢霉属	四季兰

### 1.2 方法

1.2.1 真菌诱导子的制备 将菌株分别在 PDA 培养基活化后,转接至不含琼脂的液体 PDA 培养基中,每瓶 150 mL 分装,26~28℃摇床(120 r/min)暗培养 4~6 d,过滤菌丝体,将菌丝体充分研磨与滤液混合,经 121℃灭菌 20 min 备用。

1.2.2 培养基的制备 以 1/2MS 为基本培养基,分别加入 FC2 至 FC17 菌液各 100 mL/L,以不加菌液处理作对照,共计 13 个处理。此外,为确定真菌诱导子的最佳添加量,在基本培养基中分别加入 50、200、300 mL/L 的 FC2 诱导子,与 0、100 mL/L FC2 诱导子的处理进行比较分析。

以上各处理培养基均加入蔗糖 20 g/L 和琼脂 7.2 g/L, pH 值调至 5.8,以每瓶 40 mL 分装。每个处理接种 6 瓶,每瓶接种 8~10 个试验材料。接种后将材料置于(25±1)℃、相对湿度为 70%~80%、光照强度 1 000~1 500 lx 的培养室中,光照时间为 14 h/d。40 d 后,统计增殖倍数(增殖倍数=根状茎分枝数/接种根状茎数)、最长分枝长、鲜重、干重及诱导芽个数等指标。

## 2 结果与分析

### 2.1 真菌诱导子对春兰根状茎增殖的影响

从表 2 看出,12 种真菌诱导子均能不同程度地促进根状茎的生长,其中以添加 FC2 和 FC3 诱导子的处理增值效果较好,与对照增殖倍数和鲜重差异均达到极显著水平。结合菌根真菌的来源与种类,可以发现真菌诱导子对春兰根状茎的增殖作用有一定的倾向性。采用分离自春兰的菌株作为诱导

收稿日期:2013-04-28

基金项目:浙江省新苗人才计划(编号:2008R40G2100075);浙江省温州科技局国际合作项目(编号:H20080049);浙江省农业科学院国际合作专项(编号:2045200517)。

作者简介:刘幸佳(1988—),女,浙江杭州人,硕士研究生,从事兰科植物的组织培养及其菌根真菌研究。E-mail:liuxingjia880228@126.com。

通信作者:崔永一,教授,从事兰科植物品种改良、生理生化及分子生物学研究。E-mail:orchidcui@163.com。

表 2 不同真菌诱导子对春兰根状茎增殖的影响

诱导子	增殖倍数	侧枝长 (cm)	鲜重 (g)	干重 (g)
CK	4.12 ± 0.19hH	0.36 ± 0.03eD	0.56 ± 0.03eD	0.11 ± 0.03eD
FC2	6.17 ± 0.12aA	0.50 ± 0.03cB	0.92 ± 0.09bAB	0.17 ± 0.04bAB
FC3	6.17 ± 0.16aA	0.57 ± 0.03aA	0.92 ± 0.09bAB	0.17 ± 0.02bAB
FC4	5.90 ± 0.13bB	0.57 ± 0.01aA	0.89 ± 0.01bBC	0.17 ± 0.02bBC
FC5	4.86 ± 0.07eE	0.42 ± 0.02dC	0.67 ± 0.02deD	0.13 ± 0.02deD
FC7	4.38 ± 0.13gG	0.37 ± 0.04eD	0.57 ± 0.07eD	0.11 ± 0.02eD
FC9	4.87 ± 0.18eE	0.44 ± 0.02dC	0.72 ± 0.06cdCD	0.14 ± 0.02cdCD
FC10	5.80 ± 0.13bB	0.56 ± 0.02aA	0.86 ± 0.07bBC	0.16 ± 0.05bBC
FC11	5.63 ± 0.11cC	0.53 ± 0.05bA	1.07 ± 0.04aA	0.21 ± 0.03aA
FC12	5.63 ± 0.10cC	0.50 ± 0.02cB	0.72 ± 0.08cdCD	0.14 ± 0.01cdCD
FC13	4.68 ± 0.08fF	0.42 ± 0.02dC	0.61 ± 0.08deD	0.11 ± 0.02eD
FC14	5.62 ± 0.18cC	0.43 ± 0.05dC	0.93 ± 0.08bAB	0.17 ± 0.03bAB
FC17	5.09 ± 0.15dD	0.50 ± 0.03cB	0.85 ± 0.02bcBC	0.16 ± 0.03bcBC

注:同列数据后不同小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ ),不同大写字母表示差异极显著 ( $P < 0.01$ )。

子均能高效地促进根状茎生长,并且促进作用达到极显著水平;而分离自蕙兰的毛霉属菌株诱导子处理的根状茎增殖效果较差。

从表 3 看出,不同剂量的真菌诱导子对根状茎增殖作用

不同。低浓度的 FC2 真菌诱导子能够较好地促进根状茎生长,当诱导子浓度为 100 mL/L 时,增殖倍数及侧枝长极显著高于其他浓度处理,其鲜重及干重的平均值也高于其他处理,而高浓度的诱导子不利于根状茎的生长。

表 3 不同剂量 FC2 真菌诱导子对春兰根状茎增殖的影响

FC2 诱导子剂量 (mL/L)	增殖倍数	侧枝长 (cm)	鲜重 (g)	干重 (g)
0	4.19 ± 0.18eD	0.39 ± 0.04dD	0.60 ± 0.03cB	0.11 ± 0.03cB
50	5.35 ± 0.04bB	0.45 ± 0.01bB	0.79 ± 0.03bAB	0.15 ± 0.01bAB
100	5.91 ± 0.16aA	0.53 ± 0.03aA	0.85 ± 0.09aA	0.16 ± 0.02aA
200	4.87 ± 0.03cC	0.41 ± 0.04cC	0.81 ± 0.01abAB	0.15 ± 0.01abAB
300	4.51 ± 0.05dC	0.37 ± 0.01dD	0.73 ± 0.09bcB	0.14 ± 0.02bcAB

注同表 2。

2.2 真菌诱导子对春兰根状茎芽分化的影响

如图 1 所示,不同真菌诱导子对春兰根状茎芽分化的影响不同。FC2 至 FC4、FC10 至 FC12 等 6 个诱导子能够促进春兰根状茎芽分化,与对照差异达到显著水平,FC5、FC6、FC14 诱导子诱导芽分化的效果与对照无明显差异,其余处理均显著抑制芽分化。结合菌根真菌的来源与种类,可以发现真菌诱导子对春兰根状茎芽分化的作用同样存在倾向性。采用分离自春兰的菌株作为诱导子均能促进根状茎芽分化;而采用分离自其他国兰的菌株作为诱导子均不利于根状茎芽分化。

状茎不定芽的产生,当诱导子浓度达到 100 mL/L 时,芽诱导个数最多,且与其他处理组差异达到显著水平,而高浓度的诱导子明显抑制芽的分化。

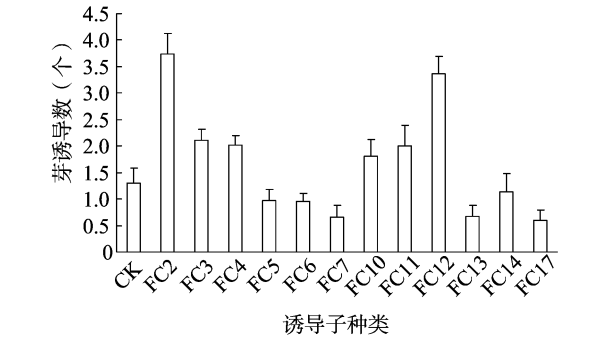


图 1 不同真菌诱导子对春兰根状茎芽分化的影响

如图 2 所示,不同剂量的真菌诱导子对根状茎芽分化的影响也不同。低浓度的 FC2 真菌诱导子能够较好地促进根

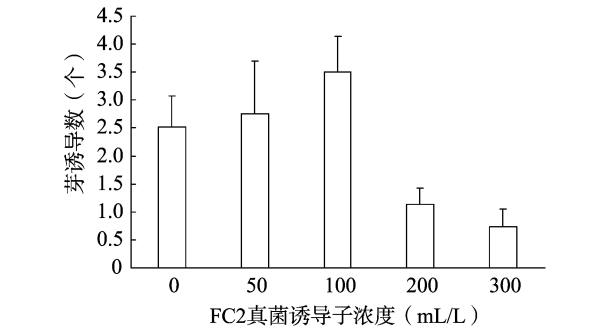


图 2 不同剂量 FC2 真菌诱导子对春兰根状茎芽分化的影响

3 结论与讨论

不同菌根真菌诱导子具有不同的诱导信息类型和强度,对试材的诱导反应发生类型和强度也相应地有所不同。董芳等发现由野生春兰根部分离到的内生真菌所制成的干菌丝诱导子,能够不同程度地促进春兰组培物生长量的增加及不定芽的分化<sup>[6]</sup>。本研究以菌根真菌发酵液作为诱导子,发现真菌诱导子对春兰根状茎增殖均有较明显的促进作用,而对芽

姬玉梅,王 岭. 活性炭对小麦试管苗继代培养的影响[J]. 江苏农业科学,2013,41(12):47-48.

# 活性炭对小麦试管苗继代培养的影响

姬玉梅,王 岭

(鹤壁职业技术学院,河南鹤壁 458030)

**摘要:**为研究活性炭对小麦试管苗继代培养的影响,以矮抗 58、郑农 16 和豫麦 49 幼胚再生无根苗为材料,接种于含有不同浓度活性炭的继代培养基上,观察试管苗的生长情况。试验结果表明,在培养基中加入浓度为 1~5 g/L 的活性炭,能促进小麦试管苗的增殖,植株生长健壮,根系发达,其中,活性炭浓度为 3 g/L 时效果最佳。

**关键词:**小麦;活性炭;试管苗;培养特性

**中图分类号:** S512.104.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)12-0047-02

小麦是世界上分布范围和栽培面积最广的农作物,在中国种植面积仅次于玉米、水稻,是三大粮食作物之一<sup>[1-2]</sup>。随着社会经济的发展和生活水平的提高,对增强小麦抗性、改良品质及提高产量的研究显得尤为重要<sup>[3]</sup>。中国小麦组织培养工作始于 20 世纪 70 年代<sup>[4]</sup>,目前已成为改良小麦品质的重要途径之一。实践表明,在组织培养时,植物代谢产生部分有害物质对试管苗生长不利。活性炭因其良好的吸附性已被广泛应用于植物组织培养中,在蝴蝶兰、芍药、杜鹃、芦荟、樱桃、葡萄等组织培养中都有相关报道<sup>[5]</sup>,但其在小麦组织培养中的作用效应研究还很少。本研究通过在培养基中加入不同浓度的活性炭,以了解活性炭在小麦试管苗继代培养中的效应,并探索适合的添加量,为指导生产提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

以普通高产试验田种植的矮抗 58、郑农 16 和豫麦 49 幼胚为外植体,经诱导和初代培养后,选取 2 cm 左右生长一致

收稿日期:2013-05-04

作者简介:姬玉梅(1975—),女,河南辉县人,副教授,主要从事作物遗传育种研究。E-mail:hbzym6@163.com。

的分化效果存在较大差异,仅有分离自野生春兰根部的菌株诱导子能够促进根状茎芽的分化。

此外,菌根真菌发酵液在兰科植物移栽驯化方面也起到显著作用。在杏黄兜兰<sup>[7]</sup>、春兰和大花蕙兰杂交兰<sup>[8]</sup>和石斛<sup>[9]</sup>等兰科植物的研究中,发现部分菌剂对兰苗有促生效果,有利于植株株高增长及新芽、新根的萌发。

比较春兰根状茎增殖分化、幼苗生长及组培苗移栽驯化过程中受不同真菌诱导子水提取液、醇提取液及其混合提取液作用的影响,对诱导子进行全面的评价,从中筛选出适宜的真菌菌株与添加剂量,这无疑为快速国兰繁殖与试管苗移栽成活提供了新途径。

## 参考文献:

[1] 吴静萍,钱 吉,郑师章. 兰花菌根分泌物成分的初步分析[J]. 应用生态学报,2002,13(7):845-848.

的无根苗为试材。活性炭使用南京佳力炭业有限公司生产的药用活性炭。

### 1.2 试验方法

1.2.1 培养基和培养条件 培养基为加入 2.0 mg/L 2,4-D 和 0.1 mg/L ABA 的 MS 培养基(MS + Gln 250 mg/L + 蔗糖 60 g/L + 琼脂 8 g/L, pH 值 5.8)。培养室温度(25±1)℃、湿度 80%~90%、光照强度 1 800~2 000 lx、光照周期 11 h/d。

1.2.2 接种方法 将分别添加 0(CK)、1、3、5、7 g/L 共 5 种质量浓度活性炭的适量固体培养基装到三角瓶中,把试材转入培养基上,每瓶接种相同基因型植株 2 株。每 1 品种、每 1 处理选取供试材料各 20 株,共需 300 株幼胚再生植株。培养 30 d 后,统计芽增殖数量,每 1 品种、每 1 处理各取 3 瓶 6 株共 18 株测量株高、根数、根长,并观察叶色和叶形。

## 2 结果与分析

### 2.1 活性炭对小麦试管苗增殖的影响

从表 1 可以看出,培养基中加入适量浓度的活性炭可以有效提高试管苗的芽数;活性炭浓度在 1~5 g/L 时,小麦试管苗芽增殖与对照(活性炭浓度为 0 g/L)在 0.05 水平上有差异,其中,在 3 g/L 时芽增殖数显著高于对照和其他浓度;当活性炭浓度提高到 7 g/L 时,增殖的芽数降低。

[2] 张集慧,王春兰,郭顺星,等. 兰科药用植物的 5 种内生真菌产生的植物激素[J]. 中国医学科学院学报,1999,21(6):460-465.

[3] 高微微,郭顺星. 内生真菌菌丝及代谢物对铁皮石斛及金线莲生长的影响[J]. 中国医学科学院学报,2001,23(6):556-559.

[4] 郭顺星,曹文琴,高微微. 铁皮石斛及金钗石斛菌根真菌的分离及其生物活性测定[J]. 中国中药杂志,2000,25(6):338.

[5] 郭顺星,徐锦堂. 真菌及其培养物提取液在细叶石斛种子萌发中的作用[J]. 中国中药杂志,1990,15(7):13-15.

[6] 董 芳,赵建娜,刘红霞. 真菌诱导子对春兰组培物生长的影响[J]. 北方园艺,2008(5):194-196.

[7] 李 明,张 灼. 杏黄兜兰菌根研究与应用[J]. 生物学杂志,2001,18(6):17-18.

[8] 陈瑞蕊,施亚琴,林先贵,等. 兰科菌根真菌对石斛组培苗的接种效应[J]. 土壤,2004,36(6):658-661.

[9] 黄 磊,贺筱蓉,郑立明,等. 促进兰花组培苗生长的墨兰菌根真菌研究初报[J]. 热带作物学报,2004,25(1):36-38.