

左利娟,李志强,郑志勇,等. 杂交兰根状茎的增殖与分化成苗技术[J]. 江苏农业科学,2015,43(6):54-56.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.06.015

# 杂交兰根状茎的增殖与分化成苗技术

左利娟,李志强,郑志勇,范继红,马 喆

(北京农业职业学院园艺系,北京 102442)

**摘要:**以杂交兰种子萌发后形成的根状茎为材料,研究不同基本培养基、不同植物生长调节剂对其根状茎增殖、分化成苗以及幼苗生根移栽的影响。结果表明:1/2MS 培养基较适合根状茎的增殖分化;较适宜的杂交兰增殖和分化培养基为 1/2MS+6-BA 2.0 mg/L+KT 0.5 mg/L+NAA 0.05 mg/L;杂交兰较适宜的生根培养基为 1/2MS+IBA 0.5 mg/L;闭瓶 3 d 后,再开盖炼苗 3 d 后可移栽,移栽基质为苔藓,25 d 后成活率达 95.6%。

**关键词:**杂交兰;根状茎;增殖;分化成苗;培养基;植物生长调节剂

**中图分类号:**S682.310.4 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2015)06-0054-02

兰花是兰科 (Orchidaceae) 兰属 (*Cymbidium*) 植物,是我国传统名花,因其芬芳馥郁、姿态优美而深受人们喜爱。因为墨兰多为春节前后开花,又被称为报岁兰。传统的墨兰繁殖方法为分株法,但是由于其分蘖少、芽生长速度慢,极大地限制了其商品化进程<sup>[1]</sup>。春兰是国兰中细叶兰花的 1 种。墨兰与其他兰科植物一样,种胚发育不全,无胚乳,种子在自然条件下不易萌发,须借助共生菌才能有极少数种子萌发成苗,墨兰根状茎增殖与分化成苗一直是研究热点<sup>[2-12]</sup>。笔者以墨兰为父本,以春兰名品为母本进行杂交,获得提前开花、花叶兼优的国兰品种,旨在为兰花产业化发展提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

2012—2014 年以墨兰 (*Cymbidium sinense* ‘金华山’) × 春兰 (*Cymbidium goeringii* ‘宋梅’) 杂交获得的种子萌发出的根状茎为试材,根状茎经继代 3~4 次,正常生长,均匀一致。

### 1.2 方法

**1.2.1 基本培养基的筛选** 将根状茎分别接种于 MS、1/2MS、Hyponex-1 (N:P:K=7:6:19) 培养基中。培养基其他成分为 6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 7 mg/L,每瓶接种 5 条根状茎,长度为 1.5 cm,均匀放置,培养 60 d 左右观察记录增殖系数、成苗率。

**1.2.2 不同植物生长调节剂对杂交兰根状茎增殖与分化的影响** 利用筛选出的最佳培养基,添加不同浓度 6-BA、KT、NAA 组合,培养 40 d。采用 3 因素 3 水平正交试验,其中 6-BA 浓度分别为 1.0、2.0、3.0 mg/L,KT 浓度分别为 0.1、0.5、1.0 mg/L,NAA 浓度分别为 0.05、0.10、0.15 mg/L(表 1)。

**1.2.3 不同浓度 IBA 对幼苗生根的影响与炼苗移栽** 将根状茎诱导出大于 1 cm 的不定芽小心分开,接到生根培养基

表 1 杂交兰根状茎增殖与分化培养因素与水平

水平代码	A:6-BA (mg/L)	B:KT (mg/L)	C:NAA (mg/L)
1	1	0.1	0.05
2	2	0.5	0.10
3	3	1.0	0.15

中。以筛选出的基本培养基 (1/2MS) 附带不同浓度的 IBA (0、0.1、0.2、0.3 mg/L) 进行壮苗生根培养,每处理 20 条根,重复 3 次。每周观察 1 次,35 d 后统计结果。以上培养基均附加活性炭 0.3 g/L,pH 值为 5.0。试验培养条件为 (25±1)℃,光照时间 16 h/d,光照度 40~50 μmol/(m<sup>2</sup>·s);试验重复 3 次。成苗率、增殖系数计算公式如下:成苗率=出芽总数/接种根状茎数;增殖系数=新长出根状茎数量/接种根状茎数量。

**1.2.4 数据处理** 采用 Excel 2007、SPSS 11.0 软件分析数据,采用邓肯新复极差检验法 (Duncan's multiple ranger test, DMRT)<sup>[13]</sup> 进行多重比较。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同培养基对杂交兰根状茎增殖分化的影响

在不同基本培养基上接种长 1.5 cm 左右的根状茎,根状茎在 3 种培养基上最迟接种 15 d 后开始萌动,接种 20 d 后切口处出现较多白色颗粒状愈伤组织,之后继续生长发育,30 d 后出现小芽,培养 60 d 后不同培养基上根状茎增殖系数存在显著差异(表 2)。MS 培养基根状茎的增殖系数最高,其次是 1/2MS 培养基,再次是 Hyponex-1 培养基,说明 MS 培养基较适合杂交兰根状茎的增殖。1/2MS 培养基在适度保持根状茎增殖的基础上也较适合根状茎分化成苗,而且幼苗质量健壮。综合看来,1/2MS 培养基较适合此种杂交兰根状茎的增殖分化。

### 2.2 不同植物生长调节剂对杂交兰根状茎增殖与分化的影响

由表 3 可知,3 种植物生长调节剂对根状茎增殖影响由强到弱分别为:6-BA>KT>NAA。由表 4 可知,3 种植物生长调节剂对根状茎分化成苗的影响由强到弱分别为:6-BA>

收稿日期:20154-07-17

基金项目:北京农业职业学院技术研发与示范推广基金(编号:XY-YF-13-05)。

作者简介:左利娟(1979—),女,河北邢台人,硕士,讲师,主要从事园林植物与观赏园艺的种苗繁育工作。lucygreen2013@163.com。

表 2 不同培养基对杂交兰根状茎增殖分化的影响

基本培养基	培养时间 (d)	增殖系数	成苗率 (%)	苗生长情况
MS	60	5.71c	65.7b	苗高,叶鲜绿
1/2MS	60	4.82b	87.4c	苗壮,叶鲜绿
Hyponex-1	60	4.59a	46.8a	苗短,叶鲜绿

注:同列数据后不同小写字母表示差异显著( $P < 0.05$ )。

表 3 不同植物生长调节剂对杂交兰根状茎增殖的影响

处理	6-BA 浓度 (mg/L)	KT 浓度 (mg/L)	NAA 浓度 (mg/L)	增殖系数
1	1.0	0.1	0.05	2.10
2	1.0	0.5	0.10	3.10
3	1.0	1.0	0.15	2.89
4	2.0	0.1	0.15	2.89
5	2.0	0.5	0.05	3.96
6	2.0	1.0	0.10	3.09
7	3.0	0.1	0.10	2.59
8	3.0	0.5	0.15	2.68
9	3.0	1.0	0.05	2.20
$k_1$	2.697	2.693	2.610	
$k_2$	3.300	3.247	2.730	
$k_3$	2.657	2.713	3.313	
$R$	0.823	0.720	0.107	

表 4 不同植物生长调节剂对杂交兰根状茎分化成苗的影响

处理	6-BA 浓度 (mg/L)	KT 浓度 (mg/L)	NAA 浓度 (mg/L)	成苗率 (%)
1	1.0	0.1	0.05	15.90
2	1.0	0.5	0.10	28.10
3	1.0	1.0	0.15	33.00
4	2.0	0.1	0.15	35.80
5	2.0	0.5	0.05	42.10
6	2.0	1.0	0.10	43.50
7	3.0	0.1	0.10	33.50
8	3.0	0.5	0.15	31.00
9	3.0	1.0	0.05	23.00
$k_1$	25.67	28.40	27.00	
$k_2$	40.47	33.73	35.03	
$k_3$	29.17	33.17	33.27	
$R$	14.80	5.33	8.03	

NAA > KT。综合来看,较适宜的墨兰增殖、分化培养基为 1/2MS + 6-BA 2.0 mg/L + KT 0.5 mg/L + NAA 0.05 mg/L。

2.3 不同浓度 IBA 对幼苗生根的影响

将根状茎分化形成的 1 cm 以上的幼苗小心从根状茎切下,转入生根培养基中培养,15 d 时无菌苗开始生根,可见切口处出现绿色根原基。培养 15 d 后植株增高,30 d 时统计生根率、生根数量。从表 5 可看出,当 IBA 为 0.5 mg/L 时,虽然生根率、生根数量低于 1.0 mg/L 处理,但是根较粗、较健壮。因此,杂交兰较适宜的生根培养基为 1/2MS + IBA 0.5 mg/L。

待生根小苗长至 3 cm 左右,根系达到 2 cm 以上时,开始炼苗移栽。在遮光率 50% 的温室内,温度保持在 25 ℃,湿度保持 60% 以上,炼苗 3 d 后打开瓶盖,再炼苗 3 d,取出小苗,小心洗净根部的培养基,用 50% 多菌灵可湿性粉剂 1 000 倍

表 5 不同浓度 IBA 对幼苗生根的影响

处理	IBA 浓度 (mg/L)	生根率 (%)	生根数量 (条)	生根质量
1	0	65.7	0.82	++
2	0.1	82.9	1.2	+++
3	0.5	93.1	2.73	++++
4	1.0	100	2.83	++

注:“++”代表生长一般;“+++”代表生长较好;“++++”代表生长好。

液浸泡根部 3 min,移入盛有苔藓(用 0.3% 高锰酸钾消毒)的花盆中,每 10 d 喷 1 次 50% 多菌灵可湿性粉剂 1 000 倍液,25 d 后成活率达 95.6%。

3 结论与讨论

3.1 杂交兰根状茎增殖和分化成苗的最适基本培养基的筛选

自然条件下,兰属植物的根状茎具有明显的节和节间,叶退化成非绿色的鳞片叶,叶腋中的腋芽或根状茎的顶芽可形成地上枝,同时节上产生不定根。根状茎含有丰富的营养物质,可存活 1 年以上,若因耕犁等外力切断时,茎段上的腋芽仍可再生为新株。所以,根状茎生活力比地上茎更强,以根状茎为材料诱导的试管苗可能比以地上茎为材料诱导的试管苗具有更强适应力<sup>[10]</sup>。本研究以根状茎为材料,分别接种于 MS、1/2MS、Hyponex-1(N:P:K=7:6:19)培养基中进行培养,结果发现,增殖和分化成苗的基本培养基以 1/2MS 效果最好。这与前人研究结果<sup>[4,9,11-13]</sup>有所不同,这可能是由于本试验材料是以春兰为母本、以墨兰为父本的杂交兰,继承了相关春兰较多的繁育特性。

3.2 不同种类植物生长调节剂对根状茎增殖、成苗分化影响不同

本研究结果表明,6-BA 浓度过高反而不利于根状茎的增殖和分化,高比值的 6-BA/NAA 对于墨兰的根状茎增殖和分化均有利,这与前人研究结论<sup>[3-4,14-16]</sup>相同。

3.3 杂交兰生根培养和移栽

本研究结果表明,较适宜的生根培养基为 1/2MS + IBA 0.5 mg/L;待生根小苗高度长至 3 cm 左右、根系达到 2 cm 以上时,开始炼苗移栽。在遮光率 50% 下的温室内,温度保持在 25 ℃,湿度保持 60% 以上,炼苗 3 d 后打开瓶盖,再炼苗 3 d,取出小苗,小心洗净根部的培养基,用 50% 多菌灵可湿性粉剂 1 000 倍液浸泡根部 3 min,移入盛有苔藓(用 0.3% 高锰酸钾消毒)的营养钵中,每 10 d 喷 1 次 50% 多菌灵可湿性粉剂 1 000 倍液,25 d 后成活率达 95.6%。

参考文献:

[1] 林宗铿,杨俊杰. 墨兰的组织培养与快速繁殖[J]. 农业生物技术学报,2007,15(增刊 1):69-73.  
[2] 陈汝民,叶庆生,王小菁,等. 墨兰种子胚的发育和培养初步研究[J]. 热带亚热带植物学报,1995,3(4):72-75.  
[3] 鲁雪华,郭文杰,林 勇. 墨兰的无菌播种和植株再生[J]. 亚热带植物科学,1999,28(1):34-37.

苏江, 韦剑锋, 岑忠用, 等. 水晶布兰卡百合花器官的组织培养[J]. 江苏农业科学, 2015, 43(6): 56–58.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.06.016

# 水晶布兰卡百合花器官的组织培养

苏江<sup>1</sup>, 韦剑锋<sup>2</sup>, 岑忠用<sup>1</sup>, 陆昭岑<sup>3</sup>

(1. 河池学院化学与生物工程学院, 广西宜州 546300; 2. 广西科技大学鹿山学院, 广西柳州 546163;

3. 广西师范大学生命科学院, 广西桂林 541004)

**摘要:**以水晶布兰卡百合的花器官子房、花瓣、花丝为外植体, 研究不同培养基配方对水晶布兰卡百合不同花器官对小鳞茎诱导、愈伤组织分化及小鳞茎增殖的影响。试验结果表明, 培养基 MS + 6 – BA 1.0 mg/L + NAA 0.5 mg/L 较适合于初代培养, 此时子房小鳞茎的诱导率达 58.3%; MS + 6 – BA 2.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L 适合于不同花器官愈伤组织的分化; MS + 6 – BA 1.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L 有利于小鳞茎的增殖。

**关键词:**水晶布兰卡百合; 花器官; 组织培养; 子房; 花瓣; 花丝; 培养基

**中图分类号:**S682.2<sup>+</sup>65.04 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2015)06-0056-03

水晶布兰卡百合(*Lilium casa Blanca*)是一种从荷兰引进的新品种, 隶属于东方百合(*Lilium acapulco*)系列, 花色洁白、植株挺直, 深受偏爱白色花系人们的青睐, 是切花百合中优良的新品种。传统的百合繁殖主要采用常规分球、鳞片包埋、分株芽鳞片扦插等, 这些方法百合的繁殖系数相对较低, 且经多代繁殖后, 常容易出现病毒积累, 造成种性退化, 影响到百合的产量<sup>[1]</sup>。利用组织培养技术进行百合快速繁殖, 不仅为市场提供了大量的无菌苗, 而且还能解决传统育苗中种球病毒感染的问题<sup>[2-4]</sup>。百合组织培养多以鳞片作为外植体, 以百合花器官为外植体进行组织培养的研究也有一些报道<sup>[5-11]</sup>, 但以水晶布兰卡百合的花器官为外植体进行组织培养获得再生植株的研究至今未见报道。本研究以水晶布兰卡百合的花

器官为材料, 在不同培养基配方下分别进行外植体诱导、愈伤组织再分化和小鳞茎增殖培养, 以期对水晶布兰卡百合离体快速繁殖及优质试管种苗的生产提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

水晶布兰卡的花器官采自河池学院塑料大棚内。

### 1.2 试验方法

1.2.1 不同培养基配方对水晶布兰卡百合花器官诱导的影响 将消毒后的百合花器官子房、花瓣、花丝剪好或切好, 接种到培养基 MS + 6 – BA 1.0 mg/L + NAA 0.5 mg/L 和 MS + 6 – BA 2.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L 上, 培养 35 d, 统计不同花器官对小鳞茎的诱导率, 观察愈伤组织的长势。

1.2.2 不同培养基配方对水晶布兰卡百合花器官分化的影响 把诱导培养得到的花器官愈伤组织转接到培养基 MS + 6 – BA 2.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L、MS + 6 – BA 2.0 mg/L + NAA 0.3 mg/L 和 MS + 6 – BA 2.0 mg/L + NAA 0.5 mg/L 上, 培养 45 d, 观察愈伤组织的分化情况, 统计不同花器官小鳞茎和根的分化率。

1.2.3 不同培养基配方对水晶布兰卡百合花器官小鳞茎增

收稿日期: 2014 – 07 – 10

基金项目: 广西高校大学生创新创业计划(编号: 2012 – 11); 广西高校重点实验室桂西北特色资源研究与开发实验室(编号: 桂教科研[2010]6号)。

作者简介: 苏江(1980—), 女, 硕士, 讲师, 从事植物组织培养及生物技术研究。E-mail: supersuijiang@sina.com。

通信作者: 岑忠用, 硕士, 副教授, 从事作物高产栽培与植物生理及植物组织培养研究。E-mail: zhongyong20@163.com。

[4] 傅雪琳, 张志胜, 何平, 等. 墨兰根状茎绿芽分化的研究[J]. 华南农业大学学报, 2000, 21(3): 53–55.

[5] Chang C, Chang W C. Effect of thidiazuron on bud development of *Cymbidium sinense* Willd in vitro[J]. Plant Growth Regulation, 2000, 30(2): 171–175.

[6] 朱根发, 陈明莉, 罗智伟, 等. 墨兰与大花蕙兰间杂种原球茎的诱导及增殖研究[J]. 园艺学报, 2004, 31(5): 688–690.

[7] Chen Y Q, Liu X, Liu Y Q. In vitro plant regeneration from the immature seeds of *Cymbidium faberi*[J]. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 2005, 81(2): 247–251.

[8] 朱国兵, 杨柏云, 蔡奇英, 等. 寒兰的快速繁殖技术[J]. 热带亚热带植物学报, 2006, 14(2): 151–156.

[9] 石乐娟, 张放, 张士良, 等. 植物生长调节剂对线艺春兰根状茎的增殖与分化的影响[J]. 园艺学报, 2006, 33(4): 887–890.

[10] 叶创兴, 朱念德, 廖文波, 等. 植物学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2007: 29.

[11] 李丽, 罗君琴, 王海琴. 春兰种子非共生萌发的研究[J]. 福建热作科技, 2007, 32(3): 13–14.

[12] 陈兰芬, 王晶, 田亦平, 等. 墨兰组织培养根状茎分化技术研究[J]. 河北林果研究, 2011, 26(1): 22–24.

[13] 褚云霞, 张永春, 靖相密, 等. 春兰根状茎增殖与分化培养[J]. 上海农业学报, 2007, 23(3): 82–85.

[14] 陈云喜, 何丹丹, 廖浩如, 等. 影响墨兰 × 兔耳兰根状茎芽分化的因素[J]. 中国农学通报, 2010, 26(9): 65–69.

[15] 施福军, 莫昭展, 韦江萍, 等. 墨兰的无菌播种及根状茎的增殖研究[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(32): 13968–13969, 13992.

[16] 丁雪珍, 韩磊, 张文静. 墨兰增殖培养基的筛选研究[J]. 北方园艺, 2009(8): 208–209.