

张伟,乔保建,李冰冰,等.蝴蝶兰高效组培快繁及温室移栽技术[J].江苏农业科学,2015,43(9):83-86.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.09.023

蝴蝶兰高效组培快繁及温室移栽技术

张伟,乔保建,李冰冰,李廷龙,王利亚,王贞,刘文克,张亚丽

(河南省平顶山市农业科学院,河南平顶山 467001)

摘要:为优化蝴蝶兰组培快繁及小苗温室移栽技术,研究以蝴蝶兰花梗段侧芽为外植体的高效快繁技术。在 MS+3.0 mg/L 6-BA+1.0 g/L 花宝 1 号培养基中诱导出营养芽,2 个月诱导率达 90%;而用 VW+3.0 mg/L 6-BA+1.0 g/L 花宝 1 号+10% 香蕉泥培养基诱导出花葶,2~3 个月诱导率达 80%。利用诱导的无菌营养芽、花葶节段切片在 MS+5.0 mg/L 6-BA+0.5 mg/L NAA+10% 椰子汁+30 mg/L 柠檬酸培养基中,2 个月诱导出丛生芽,再利用小块丛生芽分化增殖丛生芽,1.5 个月增殖率可达 6 倍。当芽长超过 1.5 cm 时,在 1/2MS+0.1 mg/L 6-BA+0.3 mg/L NAA+0.2% 活性炭培养基中壮苗生根,2 个月小苗长出 3 条以上的根,根长超过 1.5 cm,于智能温室炼苗 3~4 周后移栽。应用该小苗移栽试验方法,经统计 3 个月后成活率可达 95%。

关键词:蝴蝶兰;花梗侧芽;营养芽;花葶;丛生芽

中图分类号: S682.31 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)09-0083-04

蝴蝶兰(*Phalaenopsis amabilis*)别称蝶兰,被誉为“洋兰皇后”,是热带兰中的珍品^[1]。蝴蝶兰花朵硕大、朵数多、开花期长、花色艳丽、色泽丰富,可盆栽放置于书房、客厅、卧室等处,典雅大方并给人以美的享受,花朵可作新娘的捧花、襟花、胸花,同时是切花的好材料^[2]。蝴蝶兰是兰科植物中栽培最广泛、普及程度最高的品种之一,深受各国人民喜爱。蝴蝶兰是单茎性气生兰,植株极少发育侧枝,且种子极难萌发,实生苗变异严重,不适于大规模商业种植。应用植物组培快繁技术可在短期内生产大量整齐一致的种苗,因此大规模商业种植一般采用组织培养快繁的方法^[3]。关于蝴蝶兰组织培养的报道较多^[4-7],多以蝴蝶兰的叶片^[8]、茎尖^[8-9]、花梗腋芽^[8-11]、种子^[12]、根尖^[8]、花梗节间^[13]为外植体进行组织培养研究,而对以花梗为外植体的研究常采用未开花、即将开花的花梗,这对母株伤害较大,将影响其观赏价值、经济价值^[14]。本试验于蝴蝶兰开花 3 个月后(农历正月之后)采摘花梗,尽量减少对其观赏价值、经济价值的影响。以蝴蝶兰丛生芽途径开展组培快繁,具有诱导率高、诱导时间短、丛生芽增殖率高(可达 6 倍)、技术难度低、遗传性能稳定等优点,可避免生产中发生大量变异,对大规模生产具有重要意义^[15]。在前人研究的基础上,开发出一套成熟、先进的蝴蝶兰组培快繁及温室移栽技术,以期对相关生产及研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 供试蝴蝶兰

供试蝴蝶兰采自河南省平顶山市农业科学院农业生物技术实验室智能温室,于 2013 年 3 月至 5 月初采取,品种为宝龙皇后。

1.2 外植体

供试外植体为蝴蝶兰花梗节间侧芽,以及花梗段侧芽诱

导出的无菌营养芽和花葶,以营养芽和花葶作为组培快繁试验材料。

1.3 消毒过程

剪取蝴蝶兰母株近基部花梗,将花梗切割为 2~3 cm 长的切段,每个花梗切段带 1 个节间侧芽,每节距侧芽上部 1 cm、下部 2 cm。消毒时先用洗洁精与自来水清洗 30 min,于超净工作台用 75% 乙醇浸泡 30 s,再用 0.1% HgCl₂ 溶液浸泡 13 min,倒掉 HgCl₂ 并用无菌水冲洗 4~6 遍。消毒后切去花梗段两端少许部分,按照正常生长方向将花梗节段插入供试培养基。

1.4 供试培养基

基础培养基为 MS、VW、1/2 MS。采用不同质量浓度植物生长调节剂的培养基进行诱导与增殖,并进行壮苗生根培养,培养环境为:温度(25±2)℃、光照度 2 000~3 000 lx、光照时间 12 h/d。筛选出 5 种主要培养基(20.0 g 蔗糖、6.0 g 琼脂粉、pH 值 5.6~5.8)。诱导培养基(A):MS+3.0 mg/L 6-BA+1.0 g/L 花宝 1 号+30 mg/L 柠檬酸;诱导培养基(B):VW+3.0 mg/L 6-BA+1.0 g/L 花宝 1 号+100 g/L 香蕉泥+30 mg/L 柠檬酸+1.0 g/L 活性炭;分化培养基(C):MS+5.0 mg/L 6-BA+0.5 mg/L NAA+10% 椰子汁+30 mg/L 柠檬酸;壮苗生根培养基(D):1/2MS+0.1 mg/L 6-BA+0.3 mg/L NAA+2.0 g/L 活性炭。

1.5 小苗炼苗和移栽

将准备移栽的试管苗不揭盖连瓶置于温室 3~4 周炼苗。移栽时用水苔作栽培基质,所有操作工具和水苔均消毒灭菌。移栽前先将水苔用清水浸泡 12 h,甩干后方可使用。移栽时打开封口膜,小心夹出小苗,洗净根部培养基,于 0.2% 高锰酸钾溶液中浸泡几分钟后捞出,用甩干的水苔包住小苗根部,放入穴盘中;将移栽好的小苗穴盘放置于白天温度 22~30℃、夜晚温度 18~25℃、相对湿度 65%~85%、光照度低于 10 000 lx、洁净通风的环境中。移栽结束后用 2 000 倍多菌灵杀菌剂对小苗统一喷洒,2 周 1 次,连续喷洒 3 次;第 1

收稿日期:2014-10-12

基金项目:河南省平顶山市农业科学院自选项目。

作者简介:张伟(1977—),男,陕西汉中,助理研究员,主要从事现代农业生物技术组培的研究。E-mail:zhw9380@163.com。

周保持每天上午、下午 2 次喷雾增湿,第 2 周后浇水并且每 1~2 周施用 1 次均衡肥料,于 3 个月时统计。

2.1 技术路线
试验流程见图 1、图 2。

2 结果与分析

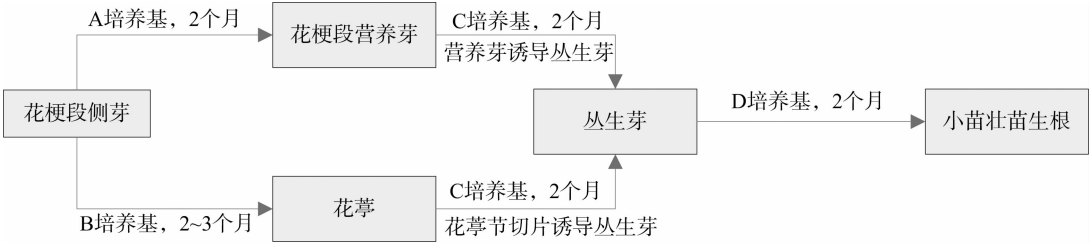


图1 试验流程示意

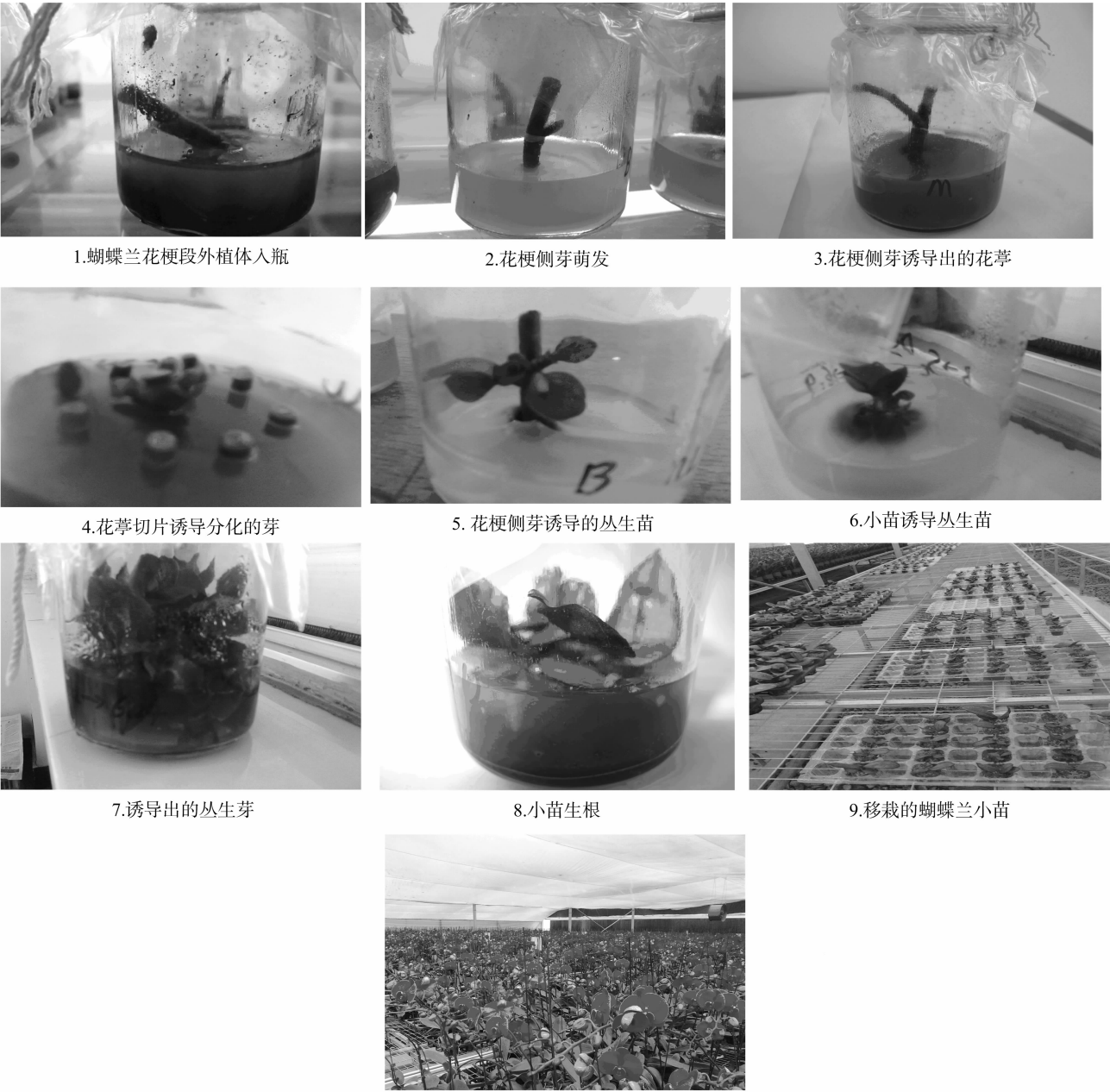


图2 蝴蝶兰组培快繁及温室移栽流程

2.2 花梗芽的诱导

利用花梗段侧芽在诱导培养基中诱导营养芽和花葶,培养 2~3 个月即可获得;培养过程中若培养基消耗过多或褐化严重则转接 1 次,培养基不变,连续 3 个月进行统计(表 1)。由表 1 可见,MS、VW 2 种基础培养基均可作为诱导培养基,但添加不同质量浓度的激素、添加物使 2 种基础培养基诱导出不同的植物组织;因此,不能表明某一培养基更适合作为诱导基础培养基。使用相同基础培养基,同时使用 6-BA、NAA 时诱导率比单独使用 6-BA 时低,且萌动出芽时间长。

表 1 不同培养基对花梗侧芽诱导的结果

序号	基础培养基	激素浓度(mg/L)		外植体数 (个)	萌动出芽 时间(d)	诱导率 (%)	备注
		6-BA	NAA				
1	MS	1.0	0.1	20	18	35	大部分为营养芽,出芽缓慢
2	MS	3.0	0.0	20	12	90	绝大部分为营养芽,生长健壮
3	MS	5.0	0.5	20	14	75	大部分为营养芽,生长偏弱
4	VW	1.0	0.3	20	20	30	部分为花芽,生长较弱
5	VW	3.0	0.0	20	15	80	部分为花芽,出芽较快,生长健壮
6	VW	5.0	0.0	20	17	70	部分为花芽,生长偏弱

注:所有培养基均添加 1.0 g/L 花宝 1 号、30 mg/L 柠檬酸;VW 诱导培养基均添加 100 g/L 香蕉泥。

2.3 丛生芽的分化和增殖

将诱导出的营养芽从花梗节段基部切下,在各培养基中进行丛生芽分化增殖,于 3 个月时统计(表 2)。由表 2 可见,营养芽分化增殖时 MS 培养基优于 VW 培养基。NAA 浓度为 0.5 mg/L、6-BA 浓度为 1.0~7.0 mg/L 时营养芽分化的丛生芽增殖率逐渐提高;6-BA 浓度为 5.0 mg/L 时诱导分化的平均出芽数较多,且生长健壮;6-BA 浓度为 7.0 mg/L 时诱导分化的平均出芽数最多,但有部分畸形。可见,6-BA 浓

度过高并不能达到良好效果,只有 6-BA、NAA 在适宜浓度下配合使用,才能取得最好的营养芽分化增殖效果。C 培养基(表 2 中Ⅱ号培养基)最适于营养芽分化再增殖,其分化出的芽数多、生长快、健壮、无畸形,且芽的生长均能成为小苗,最早 1.5 个月可见芽,但分化出增殖丛生芽需 2 个月左右;分化出丛生芽后采用多芽增殖并仍使用 C 培养基,可极大缩短增殖周期,仅需 1.5 个月。

表 2 不同质量浓度 6-BA 培养基中营养芽的分化增殖结果

序号	基础培养基	6-BA (mg/L)	NAA (mg/L)	外植体数 (个)	总出芽数 (个)	外植体平均 出芽数(个)	生长情况
I	MS	1.0	0.5	30	81	2.7	增殖少,芽生长缓慢,长势不好
Ⅱ	MS	5.0	0.5	30	216	7.2	增殖多,芽生长快,健壮
Ⅲ	MS	7.0	0.5	30	235	7.8	增殖多,芽生长快,有畸形
Ⅳ	VW	1.0	0.5	30	57	1.9	增殖少,芽生长缓慢,长势一般
V	VW	5.0	0.5	30	175	5.8	增殖多,芽生长快,健壮
Ⅵ	VW	7.0	0.5	30	201	6.7	增殖多,芽生长快,有畸形

注:培养基中均添加 10% 椰子汁、30 mg/L 柠檬酸。

将花梗段侧芽诱导出的花葶节部横向切割为 0.5~0.8 cm 的切片,按生长方向接入 C 培养基,约 2 个月可见小芽丛,分化增殖情况与营养芽增殖情况相似。

2.4 小苗壮苗生根

当芽生长至 1.5 cm 时将其切下,转入 D 培养基中壮苗生根,约 30 d 可见生根,50 d 长出 3 条以上根,2 个月根长超过 1.5 cm,则可进行炼苗。

2.5 小苗移栽及栽培管理方法

小苗炼苗时,试管瓶不揭盖炼苗 3~4 周,移栽时挑选炼过苗的蝴蝶兰组培苗,要求其无污染、叶数 3~5 张、叶宽 1.5~2.5 cm、叶子健壮、叶色翠绿、根数 3 条以上、根长 0.8~3.0 cm、根系粗壮有活力、单轴茎较明显。小苗移栽后 1 周内不浇水,尽量以喷雾方式供给水分,以便小苗及早生根,同时可避免幼嫩小苗出现软腐病害,使小苗根部充分生长,但要保

持较高的湿度;第 2 周即可浇水,当小苗水草表面干燥,且观察透明穴盘内下部无水滴水雾,即可浇透水;第 3 周后可施用液肥,施肥间隔期为 1 周 1 次,开始时采用较低肥料浓度,随后逐渐提高,但不可过高,小苗前期常施用 N:P₂O₅:K₂O 为 20%:20%:20% 的肥料,浓度为 3 000~4 000 倍液,施肥时应薄肥勤施。当小苗长出新叶、新根即为成活,3 个月时的成活率可达 95% 以上。

3 结论与讨论

蝴蝶兰一般通过有性繁殖、无性繁殖 2 种方式进行繁殖,有性繁殖多为杂交或自交苗,遗传性状不稳定,不能表现出优良的母本性状,且花色、花期不易控制,因此蝴蝶兰快繁通常采用无性繁殖^[16]。蝴蝶兰植株极少发育侧枝,比其他种类兰花更难以进行常规无性繁殖,无法大量生产^[17],组织培养是

蝴蝶兰快速繁殖的主要手段^[18-20]。在组织培养中,可通过诱导原球茎途径进行植株再生^[21],也可利用丛生芽途径快速繁殖,后者是从芽到芽的增殖,无需通过诱导原球茎分化不定芽来稳定遗传母本的特征特性,从而可降低后代发生变异的概率^[22]。本试验采用从芽到芽的增殖途径,利用花梗芽诱导出的营养芽、花葶组织来诱导分化丛生芽,减少变异且分化时间短,大幅缩短了繁殖周期。

试验过程中第 1 次分化诱导使花梗段侧芽充分利用,不破坏母株并尽可能保存母体,达到商业种植的高效利用;丛生芽分化出来后的每次分化增殖过程均比第 1 次分化诱导过程缩短一半时间,1.5 个月即可增殖 6 倍左右,其他资料中尚未见如此高的增殖倍数^[16]。

由培养基的成分及外植体的培养过程可知,6-BA 是诱导侧芽萌发的主要因子,这与谭文澄等的观点^[19]一致。向 VW 培养基中添加香蕉泥、花宝 1 号可能是花梗侧芽诱导成花葶的主要因素,有待进一步研究证实。柠檬酸可有效抑制酶促褐变,通过降低褐变死亡率以提高诱导效率^[23],整个试验中向培养基添加 30 mg/L 柠檬酸效果显著,能够减少褐化。试验首次将营养芽、花葶节切片于相同培养基、相同环境下诱导分化出丛生芽;营养芽诱导分化丛生芽的关键点为茎基部,将营养芽底部和花梗节段接触的部分切割后培养才易诱导出丛生芽,丛生芽一般从营养芽基部的短缩茎分化出来,应注意保存该部位;将试管花葶节部上下切割为 0.5~0.8 cm 的切片,注意保留节部,按自然生长方向放入培养基中才能诱导分化出大量节间丛生芽,没有节部的花葶组织一般无法分化出丛生芽。分化增殖培养基中的椰子汁同样是增殖的关键因素之一,从生产角度考虑,椰子汁含量为 10% 时增殖倍数、增殖时间、经济效益均为最佳。进行壮苗生根时,一般培养基只使用 NAA 或 IBA 进行生根,而本试验添加少量 6-BA 可使小苗健壮生长并生根,提前进入炼苗阶段。小苗移栽时,用 0.2% 高锰酸钾溶液浸泡小苗几分钟,既能杀菌消毒,又可使小苗伤口快速氧化愈合,从而提高成活率,此结论经实践总结得出。组培苗于春季移栽,若栽培管理得当第 2 年春节即可开花。

参考文献:

- [1] 范燕萍, 邝禹洲, 钟志权. 迎春花卉[M]. 广州: 广东科技出版社, 2003: 45.
- [2] 王明启, 彭立新. 家庭养花全书[M]. 沈阳: 辽宁科学技术出版社, 2004: 235-236.
- [3] 曹义文, 刘国民. 实用植物组织培养技术教程[M]. 兰州: 甘肃科学技术出版社, 2002: 179-181.
- [4] 王平, 吴海红, 赵兴华, 等. 蝴蝶兰组织培养培养基组成的初步

- 研究[J]. 沈阳农业大学学报, 2004, 35(1): 10-12.
- [5] Liu T H, Lin J J, Wu R Y. The effects of using trehalose as a carbon source on the proliferation of *Phalaenopsis* and *Doritaenopsis* protocorm-likebodies[J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 2006, 86: 125-129.
- [6] 李军, 柴向华, 曾宝瑄, 等. 蝴蝶兰组培工厂化生产技术[J]. 园艺学报, 2004, 31(3): 413-414.
- [7] Murdad R, Hwa K S, Seng C K, et al. High frequency multiplication of *Phalaenopsis gigantea* using trimmed bases protocorms technique[J]. Scientia Horticulturae, 2006, 111(1): 73-79.
- [8] 李娜. 蝴蝶兰的组织培养技术研究[J]. 江西农业学报, 2008, 20(9): 51-53.
- [9] 张伟, 曾伏虎, 张苏锋. 蝴蝶兰的组织培养与快速繁殖[J]. 信阳师范学院学报: 自然科学版, 2004, 17(3): 335-337.
- [10] 顾东亚, 蒋素华, 崔波, 等. 蝴蝶兰组培快繁技术研究[J]. 北方园艺, 2009(10): 196-198.
- [11] 刘亮, 易自力, 蒋建雄, 等. 蝴蝶兰丛生芽、原球茎途径的组织培养研究[J]. 亚热带植物科学, 2008, 37(3): 43-45.
- [12] Chen J T, Chang W C. Induction of repetitive embryo-genesis from seed-derived protocorms of *Phalaenopsis amabilis* var. *formosa* Shimadzu[J]. In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant, 2004, 40(3): 290-293.
- [13] 鲁雪华, 郭文杰, 徐立晖, 等. 蝴蝶兰花梗节间段培养繁殖的初步研究[J]. 园艺学报, 2002, 29(5): 491-492.
- [14] 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(4): 590-596.
- [15] 李金雨, 洪丽萍. 蝴蝶兰丛生芽途径的组织培养技术[J]. 热带作物学报, 2010, 31(4): 610-613.
- [16] 谭巍, 尤海波, 刘博文. 蝴蝶兰组织培养中丛生芽增殖的研究[J]. 黑龙江农业科学, 2011(2): 20-22.
- [17] 胡松华. 热带兰花[M]. 北京: 中国林业出版社, 2002: 48-50.
- [18] 王玲, 陈发棣, 陈风, 等. 不同培养基及不同添加物对蝴蝶兰花梗芽增殖生长的影响[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(1): 56-57, 103.
- [19] 谭文澄, 戴策刚. 观赏植物组织培养技术[M]. 北京: 中国林业出版社, 1991: 247-258.
- [20] 李正民, 王安石, 王健, 等. 蝴蝶兰不定芽的组培快繁技术[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(5): 46-49.
- [21] 陈银凤, 林宏. NAA 和 6-BA 对蝴蝶兰原球茎增殖的影响(简报)[J]. 亚热带植物科学, 2007, 36(3): 67-68.
- [22] 潘学峰, 王安石, 李海珠. 利用从芽途径快速繁殖蝴蝶兰的研究[J]. 海南大学学报: 自然科学版, 2005, 23(1): 47-52, 60.
- [23] 苏悦, 姬海泉, 杜凤霞. 蝴蝶兰花梗组织培养快速繁殖[J]. 辽宁林业科技, 2006(2): 20-22.