

文章编号: 1001-1498(2006)05-0606-06

文心兰规模化组培育苗关键技术研究

欧阳彤, 陈 胜, 汪凤珍

(中国林业科学研究院亚热带林业研究所, 浙江 富阳 311400)

摘要:通过基本培养基(改良 MS、改良 KC、V&W 及自制 ZW 系列)、植物激素(6-BA、KT、NAA、BA)、培养条件(香蕉泥、蛋白胨、酵母提取物、糖、活性炭)等关键因子对文心兰组培各阶段影响的试验,探索了文心兰规模化组培育苗的关键技术。结果表明:(1)当 6-BA $0.1 \sim 2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, NAA $0.1 \sim 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,可诱导拟原球茎形成与增殖;6-BA $0.05 \sim 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 或附加 NAA $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 就可满足拟原球茎的分化;6-BA $0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 协同 NAA 或 BA $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 处理,诱导生根快而粗壮;(2)添加活性炭 $1000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和维生素 C $30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 对减轻外植体褐化是必要的;添加 $500 \sim 1000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 蛋白胨或酵母提取物可促进诱导拟原球茎;香蕉泥 $100 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 有助于拟原球茎分化和瓶苗健壮;(3)MS 高盐类培养基在每个培养阶段都有较高的致畸率,自制中盐 ZW 培养基, N P K 为 3 1 2.9,文心兰在其中生长健壮;(4)文心兰在无糖培养基中自养生长基本正常。

关键词:文心兰;组织培养;规模化育苗;关键技术

中图分类号: S722.3

文献标识码: A

Key Technology Study on Oncidium Industrial Propagation by Tissue Culture

OUYANG Tong, CHEN Sheng, WANG Feng-zhen

(Research Institute of Subtropical Forestry, CAF, Fuyang 311400, Zhejiang, China)

Abstract: The key technology of Oncidium's industrial propagation were studied by *in situ* investigating the effects of the key factors such as minimal medium (improved MS, improved KC, V&W and self-prepared ZW series, etc), phytohormone (6-BA, NAA, BA, KT), additive (vitamin C, peptone, mashed banana, active carbon, sugar, etc), on the mass breeding in every stage during Oncidium's industrial propagation. The results revealed that: (1) The protocorm like body (PLB) could be induce and increase as long as the concentration of 6-BA between $0.1 \sim 2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ and NAA $0.1 \sim 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. At the revulsive initial stage a concentration of 6-BA $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ and with NAA $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ was helpful to increase the propagation basic number of protocorm like body. The multiply and differentiation of PLB could take place as long as 6-BA $0.05 \sim 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ or addition of NAA $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. The root emerging could be accelerated and the roots become stronger cooperation of addition of low concentration 6-BA ($0.01 \sim 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) together with NAA or BA ($0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$). (2) The low concentration of auxin ($0.01 \sim 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) and the sort of low concentration of mineral medium (such as V&W, KC, etc) seemed to benefit the decrease of the malfomation during PLB differentiation and seedling growth. (3) In order to reduce the explant browning addition of active carbon $1000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ and vitamin C $30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ was necessary. Adding peptone $500 \sim 1000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ or drawn substance of yeast seemed to promote the induction of PLB. Mashed banana $100 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ might benefit the PLB differentiation and improve the quality of test-tube plantlet. (4) Minimal mediums had notable effects on every stage of Oncidium tissue culture. The self-prepared ZW mediums with middle

收稿日期: 2005-09-26

基金项目: 中国林科院亚热带林业研究所创新基金(2004-C-02)

作者简介: 欧阳彤(1965—),女,重庆人,副研究员;主要从事林木、花卉、珍稀植物组织培养育苗、育种与快繁。

concentration of salt were more suitable to *Oncidium* propagation by tissue culture. (5) *Oncidium* was autotrophic without sugar in the medium.

Key words: *Oncidium*; tissue culture; industrial propagation; key technology

文心兰 (*Oncidium flexuosum* Lodd), 又名舞女兰、瘤瓣兰, 为兰科 (*Orchidaceae*) 瘤瓣兰属 (*Oncidium* Sw.) 植物。原生于中南美洲的墨西哥、巴西、玻利维亚一带。因其潇洒脱俗的花姿、温文尔雅的气质、妙趣横生的形态和容易莳养的习性, 深受广大消费者的喜爱, 是世界重要的盆花和切花种类之一。品质良好的文心兰无论是鲜切花还是盆花品种近年来在花卉市场上都一直处于供不应求状态, 用组织培养工厂化育苗提供文心兰种苗是满足市场需求的最佳手段。关于文心兰的组织培养研究已有不少文献报道^[1-3], 然而大多局限于实验室的研究阶段, 将其结果用于规模化生产时, 出现了较多问题, 比如生长不均衡、瓶苗畸形率高、分化苗参差不齐, 小苗生根太多太长, 不利于后续生产操作等, 因而无法适应规模化生产要求。本文结合作者对文心兰组培工厂化育苗的研究与生产实践, 对文心兰组织培养规模化育苗关键技术作一总结, 为今后大规模生产文心兰提供借鉴。

1 材料与方法

1.1 材料

文心兰(百万金币)成品苗假鳞茎基部新芽及无菌试管苗。

1.2 方法

1.2.1 建立无菌体系 用肥皂水刷洗成熟假鳞茎基部的芽, 剥除叶片, 露出基部芽体, 用 5% (体积分数) 安替福民 (添加 2 滴土温—80) 消毒 10 min, 无菌水洗 3 次; 再用 $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 升汞灭菌 5 min, 无菌水洗 3 次, 切取生长点约 $1 \sim 2 \text{ mm}^3$ 块状, 接种在诱导培养基上; 或分割无菌试管苗假鳞茎、或剥离无菌苗茎尖, 放置于诱导培养基上。

1.2.2 诱导、增殖、壮苗、生根培养 约 1~2 个月, 芽体或拟原球茎长出, 再转至增殖培养基中培养。在初期增殖培养时, 用含 $100 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 香蕉泥的液体培养基震荡培养。约 20~45 d 可看到显著的拟原球茎增殖情形, 再次转入固体培养基中, 进行健壮化培养, 此后每 4~6 周继代培养, 当达到一定基数的拟原球茎后, 根据生长状况及生产需求, 分别在

同的培养基中进行增殖、壮苗和生根培养。

1.2.3 瓶苗移植

1.2.3.1 练苗 在移植前 1 周, 将生根瓶苗放置在覆有塑料薄膜和遮荫网的大棚中, 于散射的自然光下 3 d 左右, 然后拔去瓶塞依然保留塑料防尘套或半打开瓶盖 2 d 左右, 之后彻底敞开口 2 d, 使瓶苗逐渐适应干燥、强光照、大温差的自然环境。

1.2.3.2 介质 介质以水苔或水苔加椰丝为好。使用前, 先用清水浸泡, 然后用 $0.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 高锰酸钾消毒, 甩干水分, 待用。

1.2.3.3 移植 取出生根瓶苗, 洗去培养基, 用 800~1 000 倍多菌灵浸泡根部 5 min 左右, 取出晾干水分。用介质包裹住瓶苗根部置于 1.5 寸育苗钵中, 于散射光下培养。移植后前 3 d 不浇水, 之后视情况少量喷清水或 $0.1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 乙酰水杨酸溶液。半月后新根开始长出, 逐渐施薄液肥。

1.3 培养条件

基本培养基分别为 RM、MS、改良 MS、V&W、狩野 (SY)、改良 KC^[4,5] 及自制培养基 ZW 系列 (中盐类, 总盐为 $2\ 300 \sim 2\ 600 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, N P K = 3 1 2.9)。附加不同浓度和种类的植物激素 (6-BA $0.01 \sim 2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、KT $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、NAA $0.05 \sim 0.50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、BA $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)、蔗糖 ($20 \sim 30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$)、有机添加物 (香蕉泥 $50 \sim 100 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、蛋白胨 $0.5 \sim 1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、酵母提取物 $0.5 \sim 1.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 等)、活性炭 (AC, $0.5 \sim 1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$)、维生素 C (Vc, $30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)、琼脂 $7 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、pH 值为 5.8~6.0, 培养温度为 25 ± 2 左右, 光强为 $1\ 500 \sim 2\ 000 \text{ lx}$, 光照时间为 $14 \text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$ 。

2 结果与分析

2.1 诱导拟原球茎 (PLB)

2004 年 3 月 19 日至 4 月 6 日将假鳞茎基部隐芽、无菌苗茎尖接种在以下培养基上, 附加糖 $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、琼脂 $7 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 观察外植体形成拟原球茎情况。

2.1.1 基本培养基对诱导拟原球茎的影响 将假鳞茎基部隐芽、无菌苗茎尖接种在诱导培养基上培养, 结果见表 1。

表 1 不同基本培养基对诱导外植体产生拟原球茎的影响

序号	培养基 / (mg · L ⁻¹)	接外植体数 / 个	外植体的反应	5周后状况
W23	RM + 6-BA0.05 + NAA0.5 + AC 1 000	30	假鳞茎逐渐变黄绿	假鳞茎基部萌出 0~1 枚拟原球茎
W24	MS + 6-BA0.05 + NAA0.5	30	外植体切口变褐	假鳞茎基部萌出 2~3 枚拟原球茎
W25	改良 MS + 6-BA0.05 + NAA0.5 + AC 1 000	30	从茎尖基部形成 PLB	PLB大而厚实,分化苗色黄绿
W26	改良 KC + 6-BA0.05 + NAA0.5 + Vc30	30	茎尖和假鳞茎基部均出现 PLB	PLB小而圆,数量较多,5枚以上,新苗生长健壮,色绿

通过表 1 可知,上述处理激素水平一致,而基本培养基不同。W23 处理假鳞茎变黄绿色,诱导新芽少;W24 处理外植体切口变褐色;W25 处理诱导的拟原球茎大而厚实,有畸变倾向;在 W26 处理中,茎尖和假鳞茎切块均可诱导出拟原球茎,数量较多,形态正常,且萌发新苗生长状况较好,初步推断改良 KC 可能比较适宜作文心兰外植体诱导的基本培养

基。比较 4 个处理,除 W24 处理外植体褐变外,其余都未褐变。可见,添加活性炭或维生素 C 是避免外植体褐变的必要条件。

2.1.2 植物激素和添加物对诱导拟原球茎的影响
将无菌假鳞茎切块、茎尖、无根小苗接种在下列附加不同激素和添加物的培养基上诱导拟原球茎,结果见表 2。

表 2 外植体在附有不同浓度的激素和添加物的培养基上被诱导拟原球茎的情况

序号	培养基 / (mg · L ⁻¹)	PLB 诱导率 / %	PLB 始出时间 / d	PLB 数量状况	PLB 发育状况
W27	改良 MS + KT0.05 + NAA0.5 + 蛋白胨 1 000 + AC500	88.0	12	+++	假鳞茎基部和茎尖萌出拟原球茎,且大于 W28 处理中的,数量多,40 d 开始分化,2 个半月后有些畸形,分化苗叶片厚,不展开
W28	改良 MS + 6-BA0.05 + NAA0.5 + 蛋白胨 1 000 + AC500	120.0	18	++	无根苗基部形成许多拟原球茎,略小于 W27 处理中的,40 d 尚未分化,2 个半月后分化苗厚壮,少量畸形
W29	改良 KC + 6-BA2 + NAA0.2 + 香蕉泥 1 × 10 ⁵ + Vc30	77.8	22	+++	无根苗基部形成许多 PLB,较小,分化苗细弱
W30	改良 KC + 6-BA0.1 + NAA1 + 香蕉泥 1 × 10 ⁵ + Vc30	80.0	10	++	小苗基部形成很多 PLB,大而厚实,分化苗根多、苗尖发黄
W33	改良 KC + 6-BA2 + NAA0.2 + Vc30 + 香蕉泥 5 × 10 ⁴ + 酵母提取物 1 000	89.0	20	++++	平放小苗近根端形成许多 PLB,假鳞茎基部侧芽萌出,分化苗健壮、生根
W34	改良 KC + 6-BA0.2 + NAA0.2 + Vc30 + 香蕉泥 5 × 10 ⁴ + 酵母提取物 1 000	42.0	17	++	小苗基部形成 PLB,PLB 分化
W35	改良 KC + KT0.05 + NAA0.5 + 香蕉泥 5 × 10 ⁴ + Vc30 + 蛋白胨 1 000	35.8	13	++++	平放小苗近根端形成许多 PLB,假鳞茎上端部形成 PLB,PLB 大而多,PLB 分化
W36	改良 KC + 6-BA0.05 + NAA0.5 + 香蕉泥 5 × 10 ⁴ + Vc30 + 蛋白胨 1 000	59.3	16	++	未切割假鳞茎基部萌侧芽,新 PLB 小而圆,散开

注: + 表示可以诱导出拟原球茎 3 个, ++ 诱导拟原球茎 5~6 个, +++ 诱导拟原球茎 8 个以上, ++++ 诱导 13 个以上。

分析表 2,比较 W27、W28 与 W35、W36 两对处理,可知 KT0.05 mg · L⁻¹ 诱导形成拟原球茎速度较快,数量也较多,而 6-BA0.05 mg · L⁻¹ 诱导速度较慢,数量也略少,当 W28 处理中开始诱导出拟原球茎时,W27 处理中拟原球茎已出现了分化。从 W27、W35 处理可知 KT 不仅诱导无根苗形成拟原球茎,还诱导假鳞茎端部形成拟原球茎,大得多。

随着培养时间的延续(2 个半月),W27、W28 处理中拟原球茎和分化苗有畸形趋势,与 W35、W36 比较,改良 MS 可能有致畸作用,形成的拟原球茎大而厚实,分化苗叶片厚实,不展开。由此推断:改良 KC 作为诱导拟原球茎的基本培养基比改良 MS 更合适。

比较 W29、W30 与 W33、W34 两对处理,当细

胞分裂素与生长素比值为 10:1 时,诱导拟原球茎数量多于它们的比值为 1:10 和 1:1 时的处理,表明诱导拟原球茎初期,6-BA $2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 协同 NAA $0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 可以加速拟原球茎增殖;比较所有激素处理表明:6-BA 浓度从 $0.01\sim 2.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,NAA 浓度在 $0.5\sim 1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 都可以诱导形成拟原球茎;从 W33、W35 处理可知,无根苗平放易形成更多拟原球茎;比较 W29 和 W33 处理,添加酵母提取物有助于 PLB 增殖和分化苗健化。

从总体上看,各处理均可诱导出拟原球茎,但诱导时间和数量有不同,时间最短的是 W30 处理,只

需 10 d,无根小苗基部就开始形成拟原球茎。诱导率最高的是 W28 处理,可达 120%,即 30 个外植体从 36 处(假鳞茎基部隐芽和端部)诱导出 PLB。诱导率与拟原球茎数量不呈正相关,这与外植体取材不同有关,剪去小根的完全分化苗没有诱导出拟原球茎;而综合考量诱导率、诱导数量及拟原球茎质量,W33 是比较好的诱导处理。

2.2 拟原球茎增殖与分化培养

将诱导出的拟原球茎转移到增殖培养基上培养,附加糖 $30\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$,琼脂 $7\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$,活性炭 $1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$,结果见表 3。

表 3 文心兰拟原球茎增殖与分化培养情况

序号	培养基 / ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	增殖倍数	增殖与分化状况
W37	改良 MS + KT 0.05 + NAA 0.25	15 ~ 50	20 d 后,增殖的 PLB 较大,1 ~ 2 mm,界限分明,35 d 以后 PLB 开始分化,7 周后有畸形趋势
W38	改良 MS + 6-BA 0.1 + NAA 0.5	10 ~ 30	20 d 后,新增 PLB 较小,1 mm,小苗叶片较宽,,35 d 后 PLB 始分化
W39	改良 MS + KT 0.05 + NAA 0.5	25 ~ 40	PLB 较大,多而旺盛,35 d 后分化,根较多
W40	改良 MS + 6-BA 0.05 + NAA 0.5 + 香蕉泥 1×10^5	35 ~ 55	PLB 多而旺,30 d 后开始分化
W51	ZW1 + KT 0.05 + NAA 0.25	50 以上	PLB 大,分化苗根数略少
W73	ZW1 + 6-BA 0.05 + NAA 0.1	80 以上	PLB 增殖、分化快,多而密实,分化苗直立,根略少
SY	花宝 1 号 + 苹果汁 1×10^5	30 以上	PLB 小而密实,分化苗浓绿、密实,不易分开
ZW106-	ZW + 香蕉泥 1×10^5	80 ~ 100 以上	PLB 培养 15 d 以后,边增殖,边分化,分化苗根少,6 周可继代 1 次

分析表 3:(1)将 W37、W39、W51 处理与 W38 处理比较可推断,由 KT 诱导的增殖拟原球茎较大,而 6-BA 诱导的增殖拟原球茎较小;W37 处理表明,随着时间的延续(7 周以后),KT 诱导拟原球茎出现畸形趋势。比较 W37、W39、W51 和 W73、ZW106 处理,随着 NAA 浓度降低(从 $0.50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 到 $0.25\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 到 $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 到 0),分化苗根数减少;所有使用 6-BA 的处理,低浓度 6-BA ($0.05\sim 0.10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 就可以满足拟原球茎的增殖与分化。(2)比较 W39 与 W40,添加香蕉泥,拟原球茎提早分化 5 d,可推断香蕉泥有助于提早启动拟原球茎分化。

(3)在 W73、ZW106- 处理中拟原球茎增殖与分化速度快,增殖倍数高达数十上百,生长周期短,表明中盐浓度的矿质营养更适合文心兰拟原球茎增殖与分化;SY 处理为狗野培养基,其上增殖的拟原球茎密实,分化苗也密实难分开。

2.3 壮苗培养

2.3.1 基本培养基对壮苗培养的影响 将分化苗转入壮苗培养基中培养(附加糖 $30\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$,琼脂 $7\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$,香蕉 $100\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$,活性炭 $1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$),结果见表 4。

表 4 文心兰在不同基本培养基中壮苗培养情况

序号	培养基 / ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	生长状况
W31	改良 KC + NAA 0.1	生长 2 个月,新叶细长,植株开张,苗高 8 cm 以上,叶色浓绿
W32	V&W + NAA 0.1	生长 2 个月,新叶较宽,苗高 8 cm 以上,叶色较浅,
W44	改良 MS + 6-BA 0.01 + NAA 0.1	生长 2 月,叶 5 ~ 7 片,多呈一侧对称排列,丛生苗很多,株形异常
W69-	ZW1 + 香蕉泥 1×10^5	苗色浓绿发亮,苗高 8 cm,壮实,株形流畅,新根粗壮
W72	ZW2 + 香蕉泥 1×10^5	生长势头很小,叶片扭曲,有畸形苗出现,苗高一般在 5 cm 左右
W69-	ZW1 + 香蕉泥 1×10^5 - 钙盐	苗僵化,不生长,不增殖
W106	ZW + 6-BA 0.01 + NAA 0.1	生长 2 月,叶宽而直立,苗高 8 cm 以上,叶色浓绿,株形流畅

由表 4 可知:在 W69⁻、W72 处理中,不添加任何植物激素,壮苗培养的结果完全不一样,其区别就在:基本培养基 ZW1、ZW2 调整为中盐矿质营养,ZW1 比 ZW2 总盐浓度稍高,且含有较多的微量元素 Mn 和 Zn。与 W69⁻ 比较,W69⁻ 处理只是缺少一定量的钙盐,苗长成了僵化苗。由此可见钙对文心兰生长是必不可少的。在改良 KC(W31 处理)中培养,苗色浓绿,但叶细长,植株开张;在改良 MS 中

(W44 处理),易引起株型异常;在 V&W(W32 处理)中,苗色淡绿;W106 处理为调整后的基本培养基,中盐类,其 N P K=3 1 2 9,苗色浓绿,生长健壮,株形流畅,是比较合适的基本培养基。结果表明基本培养基对文心兰瓶苗质量影响很大。

2.3.2 植物激素及添加物对壮苗培养的影响 将分化苗转入以下培养基中培养(附加活性炭 $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$),结果见表 5。

表 5 文心兰在不同激素和附加物的培养基上壮苗培养

序号	培养基 / ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	表现
W76	ZW1 + 6-BA0.3 + NAA0.1 + 蛋白胨 1000 + 糖 3×10^4	苗生长健壮,大苗基部形成许多 PLB
W78	ZW1 + 6-BA0.1 + NAA0.05 + 香蕉泥 1×10^5 + 糖 3×10^4	苗、根都粗壮,大苗基部有少量 PLB
W89 ⁻	ZW3 + 6-BA0.1 + 酵母提取物 500 + 香蕉泥 1×10^5 + 糖 2×10^4	叶色较浅,生根较多
W89 ⁻	ZW3 + 6-BA0.1 + 酵母提取物 500 + 香蕉泥 1×10^5 + 糖 3×10^4	小苗长势旺盛,叶色较浓绿
W90	ZW + 6-BA0.1 + 酵母提取物 500 + 香蕉泥 1×10^5 + 糖 2.5×10^4	小苗长势旺盛,叶色较绿
W92	ZW + 酵母提取物 500 + 香蕉泥 1×10^5 + 糖 0(无糖)	拟原球茎正常增殖与分化,苗色较浅,叶片较薄,但苗高同上,松口培养 60 d 无污染
W98	ZW1 + 酵母提取物 500 + 香蕉泥 1×10^5 + 糖 0(无糖)	色较浅,叶片较薄,苗高同 W99,松口培养 20 d 无污染
W99	ZW1 + 酵母提取物 500 + 香蕉泥 1×10^5 + 糖 2.5×10^4	色较深,叶片略厚
ZW106 ⁻	ZW + 酵母提取物 500 + 香蕉泥 1×10^5 + 糖 2.5×10^4	叶色浓绿,生长健壮,2 月苗高 8 cm 以上

比较 W76 与 W78,6-BA 较高 ($0.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 的 W76 处理增殖力更强些,W78 处理的根与苗粗壮,适合壮苗培养,低浓度植物激素 (6-BA0.1 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA0.05 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 不影响壮苗培养。蛋白胨对拟原球茎增殖有利,酵母提取物和香蕉泥促进分化与壮苗。比较 W89⁻、W89⁻、W90,糖浓度 $20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时叶片生长欠佳, $25 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时可以满足正常生长需求, $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 更有利于培养壮苗。比较 W92、W98、W99 可知:在合适的培养条件下,没有糖,文心兰基本可以正常生长,只是叶片较薄,证明离体培养

条件下,文心兰可以自养生长。无糖培养为降低生产成本,减少污染提供了一个可以探索的途径。ZW106⁻ 处理的培养基,调整总盐为 $2300 \sim 2600 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,N P K=3 1 2 9,在此培养基中,苗色浓绿,生长健壮,可适用于规模化生产。

2.4 生根培养

将经过壮苗培养,苗高 4 cm 以上的苗转至生根培养基(附加糖 $25 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,活性炭 $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,香蕉泥 $100 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$),结果见表 6。

表 6 文心兰生根培养情况

序号	培养基 / ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	表现
W31	改良 KC + NAA0.1	45 d 后,萌侧芽,长新根,叶色深绿,株形较开张
W32	V&W + NAA0.1	同上,叶色略浅,株形流畅,2 月苗高 8 cm 以上,形成假鳞茎
W43	改良 MS + NAA0.3	叶片开张较甚,苗高明显不及 W46,70 d 后根多丛生苗多,叶片单侧对生,畸形率高达 28%
W44	改良 MS + NAA0.1 + 6-BA0.01	叶片开张较甚,70 d 后根多,丛生苗多,挤作一团,生长点不明显,苗高 6 cm 左右,畸形率高达 33%
W45	V&W + NAA0.3	45 d 苗高 8 cm,株形流畅,根很多,缠绕
W46	V&W + NAA0.1 + 6-BA0.01	株形流畅,70 d 苗高 12 cm,叶色略浅,根多较粗壮,假鳞茎较饱满
W79	V&W + NAA0.1	根较细长,植株长势不及 W46,70 d 苗高 6~8 cm
W113	ZW + BA0.1	20 d 出新根点,根粗壮,苗长势较好,株型较流畅,7 周后形成假鳞茎

比较 W43 与 W45,W44 与 W46,激素种类、水平都一致,不同的只是基本培养基。结果 4 个处理生

根培养表现差异极大,尤其是 W43、W44 处理畸形苗所占比例分别达到 28% 和 33%。再次证明,基本

培养基对文心兰组培育苗影响显著,改良 MS 致畸率较高,改良 KC 叶片比较开张,不方便操作,V&W 培养叶色较浅,叶型较细;比较 W46 与 W79,可以推断,6-BA 与 NAA 很可能有协同促进生根作用。上述培养均可诱导生根,2 个月生根率为 100%。在 W113 中作生根培养,2 周后即有根点长出,新根粗壮,生根苗浓绿,畸形率低,较适宜文心兰生根培养。

2.5 瓶苗移植

经过自然光照 3 d、半敞口 2 d、全敞口 2 d 的一周练苗模式,改善了瓶苗叶片的表皮结构,激活了表皮气孔功能,极大地提高了瓶苗适应环境的能力,辅之以透气、保湿的水苔和椰丝混和移植介质,1 月内移植成活率可达 85% 以上。

3 结论与讨论

综上所述,对文心兰组培规模化育苗技术的研究,有以下结论:(1)当 6-BA $0.1 \sim 2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, NAA $0.1 \sim 1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,可诱导拟原球茎形成与增殖;诱导初期 6-BA $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 协同 NAA $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 有助于增加繁殖基数;6-BA $0.05 \sim 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 或附加 NAA $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,就可以满足拟原球茎的增殖与分化;添加 NAA、BA $0.1 \sim 1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,均可诱导生根;(2)低浓度 6-BA ($0.01 \sim 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 和中盐浓度矿质营养 ZW 培养基有助于降低壮苗培养畸形率;(3)添加活性炭 $1000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和维生素 C $30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 对减轻外植体褐化是必要的; $500 \sim 1000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 蛋白胨或酵母提取物可促进诱导拟原球茎;添加香蕉泥 $100 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 有助于拟原球茎分化和瓶苗健化;(4)基本培养基 (MS、改良 MS、V&W、改良 KC) 对文心兰组培各阶段均有影响,改良 MS 高盐类培养基致畸比例较高;自制 ZW 培养基为中盐矿质营养 (总盐 $2300 \sim 2600 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), N P K = 3 1 2 9,文心兰在其中生长健壮;(5)文心兰可以在无糖培养基中自养生长。

当外植体为无菌苗时,多处于幼态,故而较容易

诱导出拟原球茎,诱导率与拟原球茎形成数不完全一致,与所接的外植体状况不同有关。实验中用固—液交替培养加快了增殖速度。

KT 在诱导拟原球茎初期有促进作用,而后期有致畸作用,使用要慎重,诱导出拟原球茎后及时转移至无 KT、低 6-BA 的培养基中增殖培养可有效避免畸形发生。

自制培养基 ZW 是在 V&W 培养基的基础上提高 N、P、K 含量,调整总盐浓度到 $2300 \sim 2600 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,使 N P K 之比为 3 1 2 9,添加微量元素 $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ $0.25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,从而更适合文心兰增殖与健化。狩野培养基用于文心兰组培是一方便的选择,但还需进一步调整。

瓶苗分级转移、壮苗培养阶段的生根控制以及苗型调控,都对规模化生产的操作有较大的影响^[6]。无糖培养既可降低成本,又可减少污染,是一个值得继续探讨的方向。

此外,还试验了通过加装透气膜、透气筛来调整培养容器的透气性和微环境湿度,改变封口方式和光照方向,提高光照效率,都对瓶苗质量产生了有利的影响。

参考文献:

- [1] 彭晓明,曾宋君,张京丽,等.文心兰的茎尖及花梗组织培养和快速繁殖[J].园艺学报,2000,27(2):127~129
- [2] 陈发菊,陈菽,万小明.活性炭和椰乳对文心兰离体芽尖培养的影响[J].实用医学进修杂志,2000,28(4):219~221
- [3] 何松林,孔德政,杨秋生,等.组织培养容器环境因子调控技术研究进展[J].河南农业大学学报,2003,37(1):25~32
- [4] 曹汝义.实用植物组织培养技术教程[M].兰州:甘肃科学技术出版社,1996:35~41
- [5] 加古舜治.园艺植物器官与组织培养[M].王玉璞,关贵武,方允贵,等译.郑州:河南科学技术出版社,1987:293~301
- [6] 熊丽,吴丽芳.观赏花卉的植物组织培养与大规模生产[M].北京:化学工业出版社,2003:71~79