

影响蝴蝶兰花梗芽增殖率因素的研究

刘航空¹, 禹婷², 丁勤¹, 张静¹ (1. 西北农林科技大学, 陕西杨凌 712100; 2. 成都农业科技职业学院, 四川成都 611130)

摘要 [目的] 研究影响蝴蝶兰花梗芽增殖率的因素。[方法] 在蝴蝶兰花芽产生期分别采集 2、3、4、5 和 6 cm 的花梗芽为试材, 并把材料分成 1/4、1/2、3/4 的节段, 研究花梗芽采摘时间、培养基配方和暗培养对蝴蝶兰花梗芽增殖率的影响。[结果] 5~6 cm 的花梗芽和 3~4 cm 的花梗芽在分化腋芽数量上有所差异, 但在总增殖率上没有明显差异。暗培养能更好诱导不定芽的产生, 但对 1/4 和 1/2 节段的花梗芽影响较大。从节位来看, 3/4 的花梗芽诱导效果最好。筛选培养基的正交试验发现, KCl 及 KT 能有效提高增殖率, NAA 对花梗芽增殖有抑制作用。[结论] 试验筛选的培养基 1/2 MS + KCl 1.0 g/L + BA 5.0 mg/L + NAA 0.6 mg/L + KT 1.0 mg/L 可使蝴蝶兰花梗芽的增殖率达到 8.5 个, 是试验初始增殖率的 3~4 倍。

关键词 蝴蝶兰; 花梗芽; 增殖率

中图分类号 S603.6 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2009)02-00529-02

Study on the Factors Influencing the Proliferation of Butterfly Orchids Pedicel Buds

LIU Hang-kong et al (Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100)

Abstract [Objective] The research aimed to study the factors influencing the proliferation rate of butterfly orchids (*Phalaenopsis* spp.) pedicel buds. [Method] In flower bud period, the pedicel buds with 2, 3, 4, 5 and 6 cm were selected as the tested materials and they were divided into 1/4, 1/2 and 3/4 segments to study the effect of the pedicel bud selecting time, medium formula and dark culture on the proliferation rate of butterfly orchids flower buds. [Result] It was found that 5-6 cm and 3-4 cm of pedicel buds were different on the number of differentiated auxiliary bud, but they had no obvious difference on total proliferation rates. Dark culture could induce the production of adventitious bud better, but it had greater effect on the pedicel buds with 1/4 and 1/2 segments. In the view of the segments of the pedicel buds, 3/4 pedicel bud got the best inducing effect. In orthogonal test for screening medium, it was found that KCl and KT could improve the proliferation rate, and NAA had some inhibition on the proliferation of pedicel buds. [Conclusion] The medium screened in the test (1/2 MS + KCl 1.0 g/L + BA 5.0 mg/L + NAA 0.6 mg/L + KT 1.0 mg/L) could make the proliferation rate of butterfly orchids up to 8.5, being 3-4 times of initial proliferation rate in test.

Key words Butterfly orchids (*Phalaenopsis* spp.); Flower buds; Proliferation rate

蝴蝶兰花色艳丽, 造型奇特, 受到广大消费者的喜爱。但因蝴蝶兰种子内不含胚乳, 发芽率相对较低, 且种子培育变异性较大, 致使蝴蝶兰生产成本偏高^[1]。目前理想的蝴蝶兰培育方法为花梗芽诱导法^[2-3]、花茎芽诱导法^[4]和叶片再生类圆球茎法^[5-7]。由于蝴蝶兰叶片诱导产生类圆球茎获得再生植株培育时间太长, 程序相对复杂, 而花茎芽材料一般不太容易获得(那时花已售出), 现在多采用花梗芽(类圆球茎)培养方式。蝴蝶兰一般可生长 2~4 个花梗芽, 商业生产中只需要 1 个花梗芽, 多余的花梗芽将被摘除, 采用花梗芽诱导将大大降低生产成本。因此如何使花梗芽有效诱导出不定芽, 获得高频再生植株仍具有重要意义。

在蝴蝶兰花梗芽诱导产生不定芽时, 品种、培养条件与培养基配方^[8-10]等都是影响增殖率的重要因素。目前对这些影响因素的研究报道很多, 并且已经取得了很大进展。从诱导效果上来看, 大多蝴蝶兰易产生丛生不定芽, 但对于繁育新品种, 增殖数量仍不能满足生产需要。笔者通过对花梗芽采摘时间、培养基配方和培养方式进行研究, 拟诱导出较长的、带有更多腋芽段的不定芽, 从而提高再生率。

1 材料与方法

1.1 试验材料 蝴蝶兰花品种成功兄弟, 由杨凌晶彩花卉公司提供。

1.2 试验方法 在蝴蝶兰花芽产生期, 选取多余的花梗芽作为试材, 分别采取 2、3、4、5 和 6 cm 的花梗芽, 统计花梗芽腋芽数量。然后将试材置于 70% 酒精中摇晃 30 s, 转入 0.1% 的升汞中摇晃 5 min, 再转入 3% 次氯酸钠中摇晃 5

min, 用无菌水冲洗 3 遍。去除花梗芽底端 1 cm, 把剩余部分按照腋芽节的位置分成不同等份。

由于节位对再生率有影响, 根据腋芽位于节断的位置, 把材料分成 1/4、1/2、3/4 三个处理。然后将带有腋芽的花梗芽段置于 1/2 MS + BA 5.0 mg/L + NAA 0.6 mg/L 的培养基上进行暗培养, 暗培养时间分别为 0、3、6、9 d, 之后进行 3 000 lx 的光培养。

为了使不定芽伸长并长出更多腋芽, 必须防止营养生长过快, 可通过添加细胞分裂素和降低生长素浓度进行调控。笔者采用 BA、KT、NAA 3 种激素, 其中 BA 浓度保持不变为 5.0 mg/L, KT 浓度设 3 个水平, 分别为 0、0.5 和 1.0 mg/L, NAA 浓度设 3 个水平, 即 0.2、0.4 和 0.6 mg/L。目前普遍认为 1/2 MS 对蝴蝶兰诱导效果良好, 大量元素 N、P、K 对植株营养生长也有重要影响, 因此可在此基础上进行改良。笔者采用 1/2 MS + KCl、1/2 MS + NH₄NO₃、1/2 MS + NaH₂PO₄ 3 种改良培养基。通过 3⁴ 正交设计获得 9 种不同培养基, 把 1/2 节段的花梗芽接在此培养基中, 3 000 lx 下光培养, 进行激素和基本培养基的筛选。

以上培养基蔗糖均为 25 g/L、琼脂 7.0 g/L、活性炭为 3.0 g/L、pH 6.0, 培养温度 25 ℃。培养 40 d 时, 每个样本随机抽取 5 瓶组培苗, 观察记录不定芽及腋芽数目, 采用 DPS3.01 分析软件进行数据分析。

2 结果与分析

2.1 花梗芽采摘时期对增殖率的影响 由于温度等环境条件对花梗芽的影响较大, 一般采取观察花梗芽长度来确定最佳采摘时期。由表 1 可见, 5~6 cm 的花梗芽分化腋芽最多, 其中总增殖率也最高可达 5.4 个; 3~4 cm 的花梗芽平均再生率最高, 再生率为 3.2 个, 其总增殖率为 5.0 个, 仅次于 5

作者简介 刘航空(1980-), 男, 陕西咸阳市人, 硕士, 实验师, 从事园艺种质资源与遗传育种研究。

收稿日期 2008-10-20

~6 cm 的花梗芽,与 3 cm 以下的花梗芽相比有显著性差异。

表1 光培养下不同时期花梗芽的增殖率

Table 1 Proliferation rate of pedicel bud nodes at different stages under light cultivation

花梗芽长度//cm Pedicel bud node	平均腋芽数量//个 Average axillary bud number	单支腋芽平均增殖率//100% (个) Average proliferation rate of axillary buds per branch	总增殖率100% (个) Total proliferation rate
0~2	1.2 ± 0.45 b	2.0 ± 0.71 a	3.0 ± 0.71 c
2~3	1.4 ± 0.54 ab	2.0 ± 0.71 a	2.4 ± 0.55 c
3~4	1.8 ± 0.45 ab	3.2 ± 0.45 a	5.0 ± 0.71 ab
4~5	2.2 ± 0.45 ab	2.0 ± 0.71 a	4.2 ± 0.84 b
5~6	2.4 ± 0.54 a	2.0 ± 0.71 a	5.4 ± 0.55 a

注:同列不同大、小写字母分别表示在 0.01 和 0.05 水平差异显著。下表同。

Note: Different capital letters and lowercases in a row mean significant differences at 0.01 and 0.05 levels. The same as follows.

2.2 暗培养及节位对增殖率的影响 通过对 5~6 cm 花梗茎段诱导不定芽的统计(表 2),可看出暗培养对 1/4 和 1/2 节位增殖率影响较大,其增殖率均高于未经暗处理的,暗培养 6 d 时增殖率最高。但暗培养对 3/4 节段的影响效果并不明显。从节位上来看,3/4 节段的诱导效果最好,其增殖率均高于其他处理,在除暗培养 9 d 的其他处理中,与 1/4 节段相比有显著性差异。

表2 暗培养下不同花梗芽节位的增殖率

Table 2 Proliferation rate of pedicel bud nodes under dark cultivation

节位 Node order	平均增殖率 Average proliferation rate//100% (个)			
	0 d	3 d	6 d	9 d
1/4	1.2 ± 0.45 b	1.4 ± 0.55 b	1.6 ± 0.55 b	1.4 ± 0.55 a
1/2	1.6 ± 0.55 ab	2.0 a	2.4 ± 0.55 ab	2.0 ± 0.71 a
3/4	2.4 ± 0.55 a	2.4 ± 0.55 a	2.8 ± 0.45 a	2.4 ± 0.55 a

2.3 基本培养基及生长调节剂对增殖率的影响 由表 3 可见,处理②、③较其他处理有极显著差异,说明 K 对不定芽的诱导有促进作用。其中在处理③(1/2 MS + KCl 1.0 g/L + BA 5.0 mg/L + NAA 0.6 mg/L + KT 1.0 mg/L)的培养基中,花梗芽增殖率最高,增殖率为 8.5 个,是试验初始增殖率的 3~4 倍。处理⑥增殖率最低,增殖率仅为 1.0 个,较其他处理有极显著差异,说明 N 对花梗芽增殖有抑制作用。处理③、④、⑦的增殖率均比较高,说明 KT 对不定芽的增殖有重要影响。

3 结论与讨论

5~6 cm 花梗芽与 3~4 cm 花梗芽虽然在分化腋芽数量

表3 不同培养基下花梗芽的增殖率

Table 3 Proliferation rate of pedicel bud nodes in different culture media

处理号 Treatment code	基本培养基 Basic medium	添加元素//g/L Addition element			生长调节剂//mg/L Growth regulator			增殖率 100% (个) Proliferation rate
		NH ₄ NO ₃	NaH ₂ PO ₄	KCl	BA	NAA	KT	
①	1/2MS			1.0	5.0	0.2		3.5 BC
②	1/2 MS			1.0	5.0	0.4	0.5	8.0 A
③	1/2 MS			1.0	5.0	0.6	1.0	8.5 A
④	1/2 MS	0.8			5.0	0.2	1.0	4.5 BC
⑤	1/2 MS	0.8			5.0	0.4	0.5	3.0 BC
⑥	1/2 MS	0.8			5.0	0.6		1.0 D
⑦	1/2 MS		0.1		5.0	0.2	1.0	5.0 B
⑧	1/2 MS		0.1		5.0	0.2		2.5 CD
⑨	1/2 MS		0.1		5.0	0.2	0.5	3.5 BC

上有所差异,但从总增殖率上来看几乎没有差异。因此可把采摘花梗芽的时间提前到多余花梗长至 3~4 cm 时,为成品苗优质生产提供良好保障。暗培养对 1/4 和 1/2 的花梗芽影响较大,但对 3/4 的花梗芽效果不明显,说明 1/4 和 1/2 的花梗芽生长力较弱,暗培养环境可增强其生长活力,更好诱导不定芽的产生。从节位的诱导效果来看,3/4 的花梗芽增殖率均比较高,因此在材料充足时应尽量使用此节段诱导不定芽。正交试验发现,K 及 KT 可有效地提高增殖率,而 N 对花梗芽增殖有抑制作用,筛选的培养基 1/2 MS + KCl 1.0 g/L + BA 5.0 mg/L + NAA 0.6 mg/L + KT 1.0 mg/L,可使“成功兄弟”品种诱导率达 8.5 个,大大降低了生产成本。不同的品种对培养基的要求不一,探明了这些因素对增殖率有重要影响,可为新品种扩繁培养基筛选提供指导依据。

参考文献

- [1] 魏琪,李凤兰,胡国富,等. 蝴蝶兰快速繁殖研究进展[J]. 园艺学报, 2006, 33 (4): 915 - 920.
- [2] 顾德峰,赵春莉,宋彦君,等. 蝴蝶兰无性快繁生产工艺[J]. 北方园艺, 2007 (10): 190 - 191.
- [3] 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.
- [4] 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 (5): 50 - 51.
- [5] 林滢,刘法彬. 蝴蝶兰叶片组织快速繁殖工艺和方法[J]. 化学与生物工程, 2007, 24 (2): 58 - 59.
- [6] 杨海芸,吴震,王广东,等. 不同培养条件对蝴蝶兰离体叶片不定芽的影响[J]. 南京农业大学学报, 2007, 30 (1): 44 - 49.
- [7] 满若君,李杨瑞,卜朝阳. 蝴蝶兰的组织培养和遗传转化体系的研究进展[J]. 广西农业科学, 2007, 38 (1): 6 - 10.
- [8] 赵伶俐,葛红,范崇辉,等. 蝴蝶兰组培中 pH 和温度对外植体褐化的影响[J]. 园艺学报, 2006, 33 (6): 1373 - 1376.
- [9] 王冬云,汪建亚,蔡桁,等. 蝴蝶兰组培不定芽增值条件的优化[J]. 华中农业大学学报, 2007, 26 (6): 856 - 858.
- [10] 潘学峰,王安石,李海珠. 蝴蝶兰组织培养快繁技术的研究进展[J]. 热带林业, 2005, 33 (1): 45 - 47.