

文章编号: 1674-7054(2011)04-0338-04

莫氏兰的组织培养

刘亚文 柯海丽 邓小果 黎维诗

(海南博大兰花科技有限公司, 海南 海口 570311)

摘要: 以花芽为外植体进行莫氏兰的组织培养研究。结果表明: 莫氏兰花芽接种在 MS+6-BA 5.0 mg·L⁻¹+NAA 0.5 mg·L⁻¹ 的培养基中, 40 d 后可分化成原球茎或丛生芽; 原球茎在 MS+6-BA 3.0 mg·L⁻¹+NAA 0.3 mg·L⁻¹+φ=10% 的椰子水的培养基上 增殖效果最好; 小芽在 1/3MS+花宝 1 号 1 g·L⁻¹+φ=10% 的椰子水的培养基上 壮苗效果最好; 小苗在花宝 1 号 3 g·L⁻¹+φ=10% 的椰子水+香蕉 40 g·L⁻¹+土豆 20 g·L⁻¹ 的培养基上 生根效果最好。

关键词: 莫氏兰; 组织培养; 原球茎

中图分类号: S 682.31 **文献标志码:** A

莫氏兰(*Mokara*) 是热带兰科植物的一种, 由于花色品种繁多, 既可做切花, 也可做盆花, 已成为商业名贵花卉之一。切花既可高插, 也可短截后用作餐桌花, 盆花因其颜色亮丽, 即使放在角落也会使人眼前一亮。所以, 莫氏兰在国内有很大的市场潜力^[1]。

目前, 国内对莫氏兰的研究几乎是一片空白, 其近缘属(如万代兰、千代兰)的相关报道也较少^[2-4]。莫氏兰多采用截顶和组织培养进行繁殖。笔者以莫氏兰的幼嫩花芽为外植体, 对莫氏兰的组织培养技术进行了初步的研究, 旨在为莫氏兰的快速繁殖和工厂化育苗提供技术参考。

1 材料与方法

1.1 材料 试验材料来自海南博大兰花科技有限公司城西基地荫棚中的莫氏兰优良株系的花芽。

1.2 方法

1.2.1 无菌材料的处理 选取植株健壮、无病虫害、无变异、2~3 cm 长的幼嫩花芽 60 个。切下来的花芽用洗洁精溶液轻轻刷洗 5 min, 自来水冲洗干净。洗净的花芽置于超净工作台上, 用沾有 φ=75% 酒精的脱脂棉球对表面进行擦拭后放入 φ=75% 的酒精溶液中振动 10 s, 取出用无菌水冲洗 1 次。用镊子小心将花芽苞片去掉, 再用 w=0.1% 的升汞溶液浸泡 6~8 min, 无菌水冲洗 5 次。将花梗切成长度约为 0.5 cm 的茎段, 接种到诱导培养基中。无菌水冲洗 5 次。将花梗切成长度约为 0.5 cm 的茎段, 接种到诱导培养基中。

1.2.2 原球茎的诱导和增殖 将消毒好的花芽接种到诱导培养基中, 诱导培养基为 MS+6-BA 5.0 mg·L⁻¹+NAA 1.0 mg·L⁻¹, 40 d 后, 将诱导形成的原球茎转接到增殖培养基中。设置 4 个处理: ①MS+6-BA 1.0 mg·L⁻¹+NAA 0.1 mg·L⁻¹+φ=10% 的椰子水; ②MS+6-BA 2.0 mg·L⁻¹+NAA 0.2 mg·L⁻¹+φ=10% 的椰子水; ③MS+6-BA 3.0 mg·L⁻¹+NAA 0.3 mg·L⁻¹+φ=10% 的椰子水; ④MS+6-BA 5.0 mg·L⁻¹+NAA 0.5 mg·L⁻¹+φ=10% 的椰子水; 以 MS 作对照(CK)。每个处理接种 25 个外植体, 重复 4 次。培养基均添加蔗糖 25 g·L⁻¹, 卡拉胶 8.5 g·L⁻¹, pH5.6。培养温度为(25±2) °C, 光照强度为 1 500~

收稿日期: 2011-09-22

基金项目: 2009 年度海南省重点科技项目计划(090127)

作者简介: 刘亚文(1982-), 男, 海南万宁人, 海南博大兰花科技有限公司助理农艺师。

2 000 lx 每天光照 10 h。

1.2.3 壮苗、生根培养 将原球茎或分化的小芽接入壮苗、生根培养基中。壮苗培养基为:(1) MS + 香蕉 30 g · L⁻¹ + 土豆 10 g · L⁻¹; (2) 1/3MS + 香蕉 30 g · L⁻¹ + 土豆 10 g · L⁻¹; (3) 花宝 1 号 1 g · L⁻¹ + 香蕉 30 g · L⁻¹ + 土豆 10 g · L⁻¹; (4) 1/3MS + 花宝 1 号 1 g · L⁻¹ + 香蕉 30 g · L⁻¹ + 土豆 10 g · L⁻¹; (5) 1/3 MS + 花宝 1 号 1 g · L⁻¹ + φ = 10% 的椰子水。培养基均添加蔗糖 25 g · L⁻¹, 卡拉胶 8.5 g · L⁻¹, pH5.6。

生根培养基为: A. 花宝 1 号 1 g · L⁻¹ + φ = 10% 的椰子水 + 香蕉 40 g · L⁻¹ + 土豆 20 g · L⁻¹; B. 花宝 1 号 2 g · L⁻¹ + φ = 10% 的椰子水 + 香蕉 40 g · L⁻¹ + 土豆 20 g · L⁻¹; C. 花宝 1 号 3 g · L⁻¹ + φ = 10% 的椰子水 + 香蕉 40 g · L⁻¹ + 土豆 20 g · L⁻¹。所有生根培养基均添加蔗糖 25 g · L⁻¹, 活性炭 2 g · L⁻¹, 卡拉胶 9 g · L⁻¹, pH5.6。

培养条件: 培养温度为(26 ± 2) °C, 光照强度为 2 500 lx, 每天光照 12 h。

2 结果与分析

2.1 原球茎的增殖培养 莫氏兰幼嫩的花芽在诱导培养基上培养 20 d, 外植体开始萌动, 顶部组织开始膨大。继续培养 30 d 后, 切面及顶部膨大组织的表面形成凹凸不平的颗粒物。随着培养时间的延长, 颗粒物越长越大, 形成小原球茎颗粒或丛生芽。将形成的原球茎转入增殖培养基中, 30 d 后统计其增殖效果(见表 1)。

表 1 不同激素质量浓度对原球茎增殖的影响

培养基编号	接种数/块	增殖数/块	增殖率/%	原球茎和丛生芽形成情况
①	100	200	200.0	基本都是丛生芽
②	100	300	300.0	少数原球茎形成 大多数丛生芽
③	100	450	450.0	部分原球茎形成 较多丛生芽
④	100	560	560.0	形成大量原球茎及少量丛生芽
CK	100	150	150.0	全部形成原球茎 基本无丛生芽形成

注: 增殖率 = (增殖后原球茎数量 + 丛生芽数量) / 原始原球茎数量 × 100%

从表 1 中可以看出, 莫氏兰原球茎的增殖速度随着 6-BA 和 NAA 质量浓度的升高而增加, 在不同培养基中的增殖效果不同。在④培养基中, 增殖倍数可达 5.6 倍, 但由于激素质量浓度过高, 出现了原球茎硬化和变异现象。在 CK 培养基中, 丛生芽的长势弱, 接入的原球茎部分原球茎死亡。在①~④培养基中, 添加椰子水后, 原球茎长势健壮。因此, 莫氏兰原球茎增殖最佳的培养基为③培养基: MS + 6-BA 3.0 mg · L⁻¹ + NAA 0.3 mg · L⁻¹ + φ = 10% 的椰子水 + 蔗糖 25 g · L⁻¹ + 卡拉胶 8.5 g · L⁻¹。

2.2 壮苗培养 将株高 0.5 cm 且带有 2 片叶的小芽切下转入不同培养基上进行壮苗培养。每种培养基接种 100 株(原始株高、叶片数基本一致) 40 d 后测量其株高变化及新增叶片数, 结果见表 2。

表 2 不同培养基对莫氏兰壮苗的影响

培养基编号	平均株高/cm	新叶平均数/片	组培苗健壮程度
(1)	0.8	0.9	弱
(2)	0.7	0.9	弱
(3)	1.5	2.0	较健壮
(4)	2.1	2.0	较健壮
(5)	2.5	2.2	健壮

从表 2 可以看出, 培养基添加不同的有机物对组培苗生长的影响不同。(1) 和(2) 培养基培养的组培苗, 出现黄化现象, 甚至死亡, 存活植株长势很弱, 株高增加不明显, 大部分只长了 1 片新叶; (3) 培养基培养的组培苗植株较健壮, 株高平均增加了 1.0 cm; (4) 培养基中植株的长势好, 株高平均增加了 1.8 cm; 加入椰子水的(5) 培养基对莫氏兰植株的生长具有很好的促进作用, 株高平均增加了 2.0 cm, 且大部分新抽了 2 片叶。实验结果表明, (5) 是最佳的壮苗培养基: 1/3MS + 花宝 1 号 1 g · L⁻¹ + φ = 10% 的椰子水 +

蔗糖 $25 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ + 卡拉胶 $8.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

2.3 生根培养 将具叶3~4片、苗高2~3 cm的植株转接到生根培养基中,40 d后统计其生根率及根的长势,结果见表3。从表3可以看出,3种培养基均能很好地促进莫氏兰的生根,根数都有2~4条。在A和B培养基中,根系较弱,培养时间较长后,根系变黄;在C培养基中,根系健壮,可以培养较长时间,且植株健康,株高可达5~6 cm,移栽成活率较高。

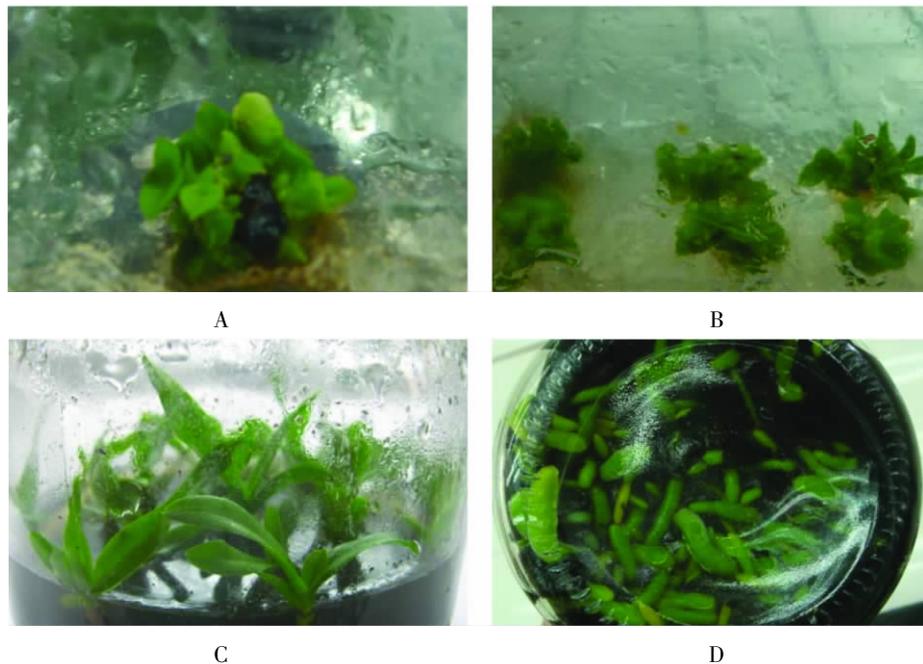
表3 不同培养基对莫氏兰生根的影响

培养基编号	生根率/%	生根数/条	根系长势
A	100	2~3	细小、淡黄
B	100	2~3	细小、淡黄
C	100	2~4	粗、壮、长

注:生根率 = 生根株数/总株数 $\times 100\%$

所以,莫氏兰较好的生根培养基为:花宝1号 $3 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ + $\varphi = 10\%$ 的椰子水 + 香蕉 $40 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ + 土豆 $20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ + 蔗糖 $25 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ + 活性炭 $2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ + 卡拉胶 $9 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

莫氏兰组织培养的各个阶段见图版1。



图版1 莫氏兰组织培养的各个阶段

A: 花梗茎段诱导形成的丛生芽或原球茎; B: 原球茎和少量丛生芽;
C: 壮苗培养; D: 生根阶段产生的大量根系(瓶苗底部观察)。

3 讨论

莫氏兰增殖过程中,椰子水对原球茎长势有一定的促进作用,可能与椰子水中存在一些天然有机物有关。6-BA和NAA的含量对原球茎的增殖影响最大,随着细胞分裂素6-BA和生长素NAA质量浓度的升高,原球茎的增殖倍数也在增加,当6-BA和NAA分别达到 $5.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,原球茎的增殖率最高,但原球茎出现了硬化现象。适当提高细胞分裂素和生长素的质量浓度有利于提高原球茎的增殖率,但质量浓度不能太高,否则会发生变异。实验结果表明,MS + 6-BA $3.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA $0.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + $\varphi = 10\%$ 的椰子水 + 蔗糖 $25 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ + 卡拉胶 $8.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 是莫氏兰原球茎增殖的最佳培养基。

在莫氏兰壮苗过程中,基本培养基、椰子水对莫氏兰的壮苗有重要作用。二者合理组配,能达到壮苗的最佳效果。在添加香蕉和土豆的基本培养基中,MS和1/3MS的效果最差,苗基本不生长,苗弱且出现

死亡现象;在花宝1号 $1\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 培养基中,组培苗长势良好,植株高增加 1 cm ;在 $1/3\text{MS} + \text{花宝1号 } 1\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的培养基中,组培苗的培养效果比上一种培养基好,植株高增加 1.6 cm ;在 $1/3\text{MS} + \text{花宝1号 } 1\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的培养基中,以椰子水替代香蕉和土豆,能达到最佳的效果,植株健壮,株高增加可达 2 cm 。实验结果表明, $1/3\text{MS}$ 和 $1\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 花宝1号混合基本培养基加上椰子水,对莫氏兰的壮苗培养效果最佳。因此,莫氏兰最佳壮苗培养基为: $1/3\text{MS} + \text{花宝1号 } 1\text{ g} \cdot \text{L}^{-1} + \varphi = 10\%$ 的椰子水 + 蔗糖 $25\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ + 卡拉胶 $8.5\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

在莫氏兰生根过程中,对花宝1号的用量进行了试验。花宝1号在 $1 \sim 3\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的范围内对莫氏兰生根率没有影响,生根率都达到 100% ,根数都有 $2 \sim 4$ 条。但由于用量不同,营养成分的含量不一样,对根系的长势影响较大,在 $1 \sim 2\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 花宝1号培养基中,花宝1号的含量少,根系长势比较弱,培养时间长,养分不足,导致根系弱且培养时间不宜太长。在花宝1号 $3\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 培养基中,根系健壮,培养时间可达到2个月以上。因此,莫氏兰最佳的生根培养基为:花宝1号 $3\text{ g} \cdot \text{L}^{-1} + \varphi = 10\%$ 的椰子水 + 香蕉 $40\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ + 土豆 $20\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ + 蔗糖 $25\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ + 活性炭 $2\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ + 卡拉胶 $9\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

参考文献:

- [1] 谯德惠. 莫氏兰有望成为热带兰花新宠[J]. 中国花卉园艺, 2009(21): 34-35.
- [2] 叶一枝, 陈春满. 千代兰的组织培养和快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 2004, 40(5): 581.
- [3] 杨静坤, 黄丽萍, 唐敏. 不同激素浓度对万代兰及其辐射苗增殖的影响[J]. 现代农业科技, 2008(12): 7-10.
- [4] 鲁血华, 林汉章. 亚美万代兰与多花兰种子发芽过程的扫描电镜观察[J]. 亚热带植物通讯, 1991, 20(1): 29-34.

Tissue Culture of *Mokara*

LIU Ya-wen, KE Hai-li, DENG Xiao-guo, LI Wei-shi
(Hainan Boda Orchid Technology Co. LTD, HaiKou 570311, China)

Abstract: In our study, the flower buds were used as explants and the tissue culture of *Mokara* was performed. The results indicated that it was on culture medium ($\text{MS} + 6\text{-BA } 3.0\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{NAA } 0.3\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) that the flower buds of *Mokara* differentiated into the original bulbs or multiple shoot clumps after 40 days; it was on culture medium ($\text{MS} + 6\text{-BA } 3.0\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{NAA } 0.3\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{Coconut water } 100\text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$) that the proliferation effect of protocorm was best; it was on culture medium ($1/3\text{MS} + \text{HY-NO.1 } 1\text{ g} \cdot \text{L}^{-1} + \text{Coconut water } 100\text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$) that the seedling effect of budlet was best; it was on culture medium ($\text{HY-NO.1 } 3\text{ g} \cdot \text{L}^{-1} + \text{Coconut water } 100\text{ mL} \cdot \text{L}^{-1} + \text{banana } 40\text{ g} \cdot \text{L}^{-1} + \text{potato } 20\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) that the root effect of plantlet was best.

Key words: *Mokara*; tissue culture; protocorm