

蝴蝶兰种子无菌培养的研究

杜广平

(黑龙江农业经济职业学院, 黑龙江 牡丹江 157041)

摘要:选取不同生长阶段的果荚播种于不同类型的培养基,在培养温度 $(25\pm 2)^{\circ}\text{C}$,光照强度 $1\,500\,\text{lx}$ 左右,光照 $12\,\text{h}\cdot\text{d}^{-1}$ 的无菌条件下,研究探索蝴蝶兰种子的适宜播种时期,筛选出种子繁殖适宜的培养基类型,为种苗工厂化生产以及培育新品种提供有效途径。

关键词:蝴蝶兰;种子;无菌培养

中图分类号:S682.21

文献标识码:A

文章编号:1002-2767(2010)10-0016-03

蝴蝶兰(*Phalaenopsis amabilis*)为兰科蝴蝶兰属植物,是世界著名的切花种类。原产于欧亚、北非、北美和中美,以我国台湾出产最多。由于蝴蝶兰属于单轴性气生兰,不能用传统的分株进行繁殖,它的种子非常细小,胚乳和胚发育不完全,种皮透性差、含有抑制物,在自然条件下很难萌发^[1]。因此,该研究的目的在于通过种子无菌培养为蝴蝶兰种苗工厂化生产以及培育新品种提供有效途径,以满足珍稀花卉大众化的需要。

1 材料与方法

1.1 材料

试验所选用的材料为黑龙江农业经济职业学院组培室三年生的盆栽蝴蝶兰,花色为粉色花和白花红唇。

1.2 方法

1.2.1 人工授粉 在11月末~12月初蝴蝶兰开花后3~4 d内进行,首先要将镊子用酒精棉球消毒干净,然后将父本的花粉块轻轻放在母本的柱头上,柱头上有粘液,可粘住花粉块,授粉后要标记好日期,做好各项记录。授粉后花冠就逐渐凋萎,子房逐渐膨大形成果荚^[2]。3~4个月后取不同生长阶段的果荚进行试验。

1.2.2 外植体的处理 在取材前,先用酒精棉球把剪刀和未开裂的果荚进行表面消毒,再把果荚从基部剪下,在无菌室超净工作台上,首先用75%的酒精浸泡消毒30~60 s,无菌水冲洗2~3

次后,在0.1%升汞溶液中再消毒8~15 min,无菌水冲洗5~6次,用无菌滤纸吸干材料表面多余的水分。然后用无菌解剖刀将果荚纵向切开,将粉末状的种子以及种子上附着的少量纤维一同拨到无菌瓶中,瓶中含有20~30 mL的无菌水,轻轻晃动无菌瓶,使种子均匀分散,然后用无菌吸管吸取种子接种到事先配制好的培养基上^[3]。

1.2.3 培养基及培养条件 所选用的基本培养基有1/2MS、MS培养基和花宝1号 $3\,\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 培养基,附加不同的有机物质以及激素,所选用的培养基均附加蔗糖 $20\,\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,琼脂粉 $5.0\,\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,pH 5.5,将配制好的培养基分装到培养瓶,每瓶分装50 mL左右。在 121°C 下高压灭菌20 min后备用。接种30 d后统计萌发率以及生长情况。培养温度 $(25\pm 2)^{\circ}\text{C}$,光照强度 $1\,500\,\text{lx}$ 左右,光照 $12\,\text{h}\cdot\text{d}^{-1}$ 。

2 结果与分析

2.1 不同生长阶段种子萌发情况

将不同生长阶段蝴蝶兰果荚内的种子接种到花宝1号 $3\,\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 为基本培养基,附加10%的椰汁培养基中,再添加蔗糖 $20\,\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,琼脂粉 $5.0\,\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$,pH 5.5,由于种子细小,不能精确统计每瓶接种数,只把不同生长阶段的蝴蝶兰果荚各接种20瓶,30 d后根据生长情况进行判断(见表1),通过表1可以看出,生长90 d的果荚其种子基本上不萌发(见图1);120 d的果荚种子萌发率高(见图2),生长势强;超过140 d的开裂果荚,把不开裂的部分进行接种,种子萌发的效果低于120 d。

收稿日期:2010-05-10

作者简介:杜广平(1954-),男,河北省广宗县人,硕士,教授,从事植物与植物生理研究。E-mail:dgp541220@163.com。

表 1 不同生长阶段的果荚种子萌发情况

生长时间/d	接种瓶数	萌发情况
90	20	不萌发,不生长
120	20	大部分萌发,长势状、生长情况良好
140	20	部分萌发,长势弱,有褐变现象出现

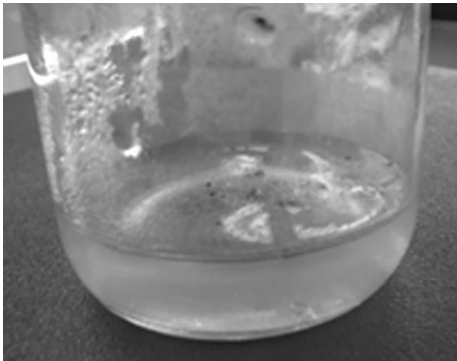


图 1 未萌发的蝴蝶兰种子

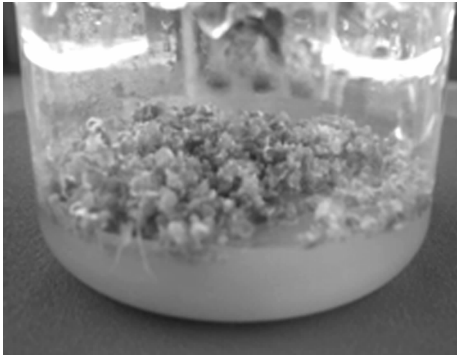


图 2 萌发的蝴蝶兰种子

2.2 基本培养基对蝴蝶兰种子萌发的影响

把生长120 d果荚内的种子分别接种到 1/2 MS、MS 培养基和花宝 1 号 $3\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 培养基,每种培养基接种 30 瓶,30 d后统计生长情况(见表 2),可看出,蝴蝶兰种子的萌发率在 3 种基本培养基均不能达到 50%以上,但花宝 1 号 $3\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的基本培养基相对 1/2 MS、MS 培养基种子萌发率较高。

表 2 基本培养基对蝴蝶兰种子萌发影响

培养基	接种瓶数	萌发率/%
1/2MS	30	5~8
MS	30	1~3
花宝 1 号 $3\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$	30	20~30

2.3 不同激素水平对蝴蝶兰生长情况的影响

把生长120 d果荚内的种子,接种到以花宝 1 号 $3\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 为基本培养基,附加不同浓度激素(见表 3),种子在30 d左右开始萌发,萌发后逐渐长成成苗(见图 3,图 4),由萌发到成苗需要经过45 d左右。由表 3 可知,种子萌发效果最好的是 A1处理,但是总体萌发率也不高,与没有添加激素的培养基相比,萌发率并没有显著提高,试管苗的长势较弱。试管苗长势最好的是 A4 处理。

表 3 不同激素对蝴蝶兰生长情况影响

处理	激素组合/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	种子萌发率/%	试管苗生长情况
A1	BA1+NAA0.1	15~20	长势弱
A2	BA1+NAA0.5	10~15	长势弱,根数 1~2 条
A3	BA2+NAA0.1	10~12	长势良好,根数 2~3 条
A4	BA2+NAA0.5	5~10	长势最好,叶色浓绿,有3~4条根
A5	BA3+NAA0.1	1~5	长势好,根数 1~2 条,并有增殖现象
A6	BA3+NAA0.5	3~5	长势良好,苗出现分化现象
A7	空白试验	20~25	试管苗长势弱,生长缓慢

2.4 不同附加物对蝴蝶兰生长情况的影响

把蝴蝶兰的种子,接种到以花宝 1 号 $3\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 为基本培养基,同时添加 BA $2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ + NAA $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的培养基中,再附加不同有机附加物(见表 4),30 d后统计蝴蝶兰种子的萌发情况,75 d后统计苗生长情况、生根情况,结果表

明 B1 处理,在培养基里添加椰汁,试管苗长势最好,根数多且生长健壮,而且种子萌发率也最高。其次是 B2 处理添加香蕉汁的培养基,长势也非常地健壮,说明香蕉汁也比较适合添加到培养基中。

表 4 不同有机附加物对蝴蝶兰生长情况的影响

处理	有机附加物	加入量	种子萌发率/%	根数/条	试管苗长势
B1	椰汁	15%	60~70	3~5	试管苗长势最好,健壮
B2	香蕉汁	15%	40~50	3~4	试管苗长势健壮,叶色浓绿
B3	水解乳蛋白	1 g·L ⁻¹	20~30	2~3	长势良好,叶片后期皱缩
B4	胰蛋白胨	1 g·L ⁻¹	20~25	2~3	长势弱,后期有叶变黄现象



图 3 正在生长分化的蝴蝶兰

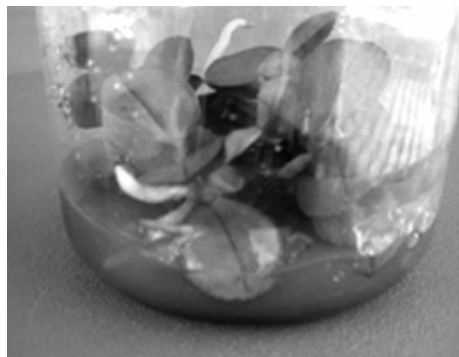


图 4 成苗的蝴蝶兰

3 结论与讨论

蝴蝶兰种子萌发和果荚生长时间有较大的关系,为了保证高萌发率,应选择生长120 d的果荚作为接种材料,选择种子萌发的培养基以花

宝1号3 g·L⁻¹作为基本培养基,添加15%的椰汁为最好,适合试管苗生长的培养基以花宝1号3 g·L⁻¹作为基本培养基,再加入BA 2 mg·L⁻¹+NAA 0.5 mg·L⁻¹+15%椰汁,如果本地使用椰汁的成本比较高,也可以选择使用香蕉汁,效果也较理想。

在对蝴蝶兰种子萌发培养基的选择过程中,发现添加有机附属物质比不添加有机物质,种子萌发率明显的提高,而且试管苗的长势也比较好,但对于其它有机物质,以及多种有机物质共同使用对促进种子的萌发和试管苗的生长是否有显著的作用,还需要进一步的研究。试验表明添加植物激素,对促进种子萌发并没有显著的作用,这是否与选择激素的种类和比例不适当有关,还需进一步研究,但添加激素对试管苗的生长确有显著的促进作用。

参考文献:

- [1] 段金玉,谢亚红.在无菌条件下,激素和种子处理对兰属十种植物种子萌发的影响[J].云南植物研究,1982,4(2):197-201.
- [2] 王慧瑜,张晓申,杨录军,等.蝴蝶兰的胚培养技术及其快速繁殖研究[J].北方园艺,2003(5):57.
- [3] 范成五,黄燕芬,苟久兰,等.蝴蝶兰无菌播种繁殖试验[J].贵州农业科学,2006,34(4):28-29.

Study on Aseptic Culture of Seed *Phalaenopsis*

DU Guang-ping

(Heilongjiang Agricultural Economy Professional College, Mudanjiang, Heilongjiang 157041)

Abstract: Choosing the different stages of growth pod to sow in the different types of culture medium. In the stage of culture medium, the temperature was (25±2) °C and the intensity of illumination was 1 500 lx with the light 12 h·d⁻¹. The study was to probe the suitable period to sow the seeds of *Phalaenopsis* and filter out the type of medium suitable for propagation. It offers the effective way to improve the performance of industrialization production of seedling and breed new varieties.

Key words: *Phalaenopsis*; albuminous seed; sterile culture