

国兰无菌播种技术研究

陈银龙 (浙江省台州市农业科学研究院, 浙江台州 317000)

摘要 试验结果表明: 采用液体培养基的国兰无菌播种技术, 具有萌发率高、操作简便和生产成本低等优点。

关键词 国兰; 无菌播种; 液体培养基

中图分类号 S352 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2006)17-4291-01

国兰种子在自然条件下发芽率很低, 影响其萌发的因素有种皮的机械阻力、种胚的发育不全、储存的营养物质过少以及可能存在的抑制物质等, 人工条件下多采用无菌培养的方法促使其萌发。通过无菌播种人工培养, 能够在短期内获得大量幼小植株, 是现阶段经济有效的快速繁殖方法, 也是工厂化育苗的重要途径。国内外对国兰的无菌播种研究很多, 但笔者在研究中发现, 采用液体萌发培养基, 不仅萌发率高, 而且操作简便、生产成本明显降低, 具有很高的实用价值。

1 材料与方 法

1.1 材料 人工授粉(自交)的野生春惠兰蒴果。

1.2 处理 取人工授粉4个月后春惠兰蒴果, 在4℃的低温条件下处理1周后, 去除花梗和花柱, 用自来水洗净蒴果表面。在超净工作台上, 先将蒴果用75%酒精浸泡10s, 再用0.1% HgCl₂ 溶液浸泡灭菌20min, 浸泡过程中经常摇动, 倒掉HgCl₂ 后, 用无菌滤纸吸干或放在超净工作台上晾干, 剖开蒴果, 均匀撒播于萌发培养基中。每瓶的播种量尽可能接近, 并且用液体和固体的萌发培养基交替播种。以每瓶平均萌发得到原球茎数代替萌发率, 进行统计比较研究。

1.3 培养基与培养条件 固体萌发培养基: 1/2MS + NAA 0.5 ng/L + 琼脂4.0 g/L + 蔗糖30 g/L, pH值5.4; 液体萌发培养基: 1/2MS + NAA 0.5 ng/L + 蔗糖30 g/L, pH值5.4。2种培养基均经高温高压灭菌。培养条件: 温度23~25℃, 光照时间12 h/d, 光照强度1500 lx左右。

2 结果与分析

2.1 灭菌效果 播种后15d观察发现, 所有的萌发培养基都没有出现因兰花种子灭菌不彻底而产生的污染现象, 说明灭菌效果非常理想。

2.2 萌发时间和整齐度 据观察发现, 在液体萌发培养基中, 培养后60d, 就有个别瓶的培养基中长出白色、绿色的原球茎, 至80d时, 所有瓶中都长出原球茎; 而在固体萌发培养基中, 培养后90d才有个别瓶的培养基中长出原球茎, 至120d时, 绝大部分瓶中长出原球茎, 还有一部分仍没有长出原球茎。由此可见, 液体萌发培养基开始萌发时间比固体萌发培养基早, 且萌发整齐度要优于固体萌发培养基。

2.3 原球茎数 培养后120d, 统计不同萌发培养基中的原球茎数, 结果发现: 液体萌发培养基中每瓶的平均原球茎数

为28.6个, 而固体萌发培养基中每瓶的平均原球茎数仅为7.3个, 相差很大。从每瓶的平均原球茎数也可以看出, 采用液体萌发培养基的萌发整齐度比较理想。

3 讨论

(1) 由于兰花种子被严密包裹于蒴果中, 因此在灭菌过程中, 不必担心HgCl₂ 对其的毒害。在该技术流程中, 灭菌时间可以长些(20min, 甚至更长), 灭菌尽可能彻底, 灭菌后也不用无菌水洗涤, 这样既可提高灭菌效果, 大幅降低污染率, 也简化了操作过程, 提高了工作效率。

(2) 从该试验结果看, 采用液体萌发培养基的萌发效果比较理想, 明显优于固体萌发培养基。这可能是兰花种子不管是浮在液体培养基的表面, 还是悬浮其中, 其与液体培养基的接触面积都大于固体培养基, 有利于兰花种子吸收培养基中的营养物质, 促进萌发。另外, 兰花种子在萌发的过程中, 有可能产生抑制其生长的代谢物, 在液体培养基中, 可以很快稀释, 降低浓度, 减少其对萌发的影响; 而在固体培养基中, 代谢物相对容易积累, 易产生毒害现象。在液体萌发培养基中, 原球茎直径达到1~2mm或每瓶原球茎数达到一定数量时, 要及时转接, 让余下未萌发的种子继续萌发; 否则, 培养基容易褐化, 出现原球茎白化死亡现象。在培养过程中还发现, 悬浮于液体培养基中的种子并没有出现缺氧现象, 可能是液体培养基中含有的氧气已能满足种子萌发的需要。

(3) 由于液体培养基不用琼脂, 故液体培养基的试剂成本比较低。另外, 在配制时省去了烧煮过程, 简化了流程, 降低了能耗。

(4) 该技术具有萌发率高、操作简便和生产成本低等优点, 笔者将其应用到其他品种国兰种子的播种中, 结果都比较理想, 且每个蒴果得到的原球茎数基本能满足国兰新品种杂交选育的群体规模要求。该技术的成功应用, 为国兰新品种的选育打下了坚实的技术基础, 具有重要的意义。

参考文献

- [1] 张志胜, 何琼英, 傅雪琳, 等. 中国兰花远缘杂交及杂交种子萌发的研究[J]. 华南农业大学学报, 2001, 22(2): 62-65.
- [2] 曾宋君, 程式君, 张京丽, 等. 墨兰及其杂种的组织培养与快速繁殖[J]. 广西植物, 1998, 18(2): 153-156.
- [3] 黄磊, 贺筱蓉, 郑立明, 等. 春兰种子非共生萌发的研究[J]. 种子, 2003(6): 40-41.
- [4] 黄家林, 胡虹. 黄花杓兰种子无菌萌发的培养条件研究[J]. 云南植物研究, 2001, 23(1): 105-108.
- [5] 陈进勇. 几种中国兰种子试管培养根状茎发生的研究[J]. 北京林业大学学报, 1998, 20(1): 32-35.
- [6] 吴应祥. 中国兰花[M]. 2版. 北京: 中国林业出版社, 1990.

作者简介 陈银龙(1973-), 男, 浙江临海人, 农艺师, 从事植物组织培养研究。

收稿日期 2006-05-22