

蝴蝶兰组织培养及诱变育种的研究进展

刘亮 易自力*, 蒋建雄 彭筱娜 黄丽芳 (湖南农业大学细胞工程实验室, 湖南长沙410128)

摘要 从蝴蝶兰(*Phalaenopsis*)的组织培养及诱变育种两个方面进行了探讨。就当前蝴蝶兰外植体的选择、培养基的选择、原球茎增殖、生根壮苗、炼苗移栽化学诱变几个方面作了详细的讨论。

关键词 蝴蝶兰; 组织培养; 诱变育种

中图分类号 Q943.1 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2007)27-08451-02

Research Progress in the Tissue Culture and Mutation Breeding of *Phalaenopsis* spp.

LIU Liang et al. (Cell Engineer Lab of Hunan Agriculture University, Changsha, Hunan 410128)

Abstract The research progress in the tissue culture and mutation breeding of *Phalaenopsis*, including the effect of explants, medium, multiplication of protocorm-like body, method of rooting and seedling strengthening, transplantation and chemomorphosis and so on, was discussed, in order to provide information for this field.

Key words *Phalaenopsis* spp.; Tissue culture; Mutation breeding

蝴蝶兰(*Phalaenopsis*)为兰科蝴蝶兰属兰花,原产于我国台湾、菲律宾、印度尼西亚、泰国、马来西亚等地^[1]。蝴蝶兰花型奇特,色彩艳丽,花期长久,素有“洋兰皇后”的美誉。笔者就近年来蝴蝶兰组织培养技术及育种的研究现状进行综述,以便为该领域今后的研究提供参考。

1 蝴蝶兰的组织培养

兰花的传统繁殖方式为分株繁殖,但蝴蝶兰为单茎气生兰,很少有侧芽萌发,很难进行无性繁殖;蝴蝶兰也可通过种子繁殖,但发芽率低。因此,一般采用组织培养的方式:一是利用种子无菌发芽;二是从离体器官诱导产生原球茎,通过原球茎增殖,得到大量蝴蝶兰幼苗。为了减少变异,自20世纪80年代以来,陆续有不通过原球茎途径而直接诱导“丛生芽”繁殖蝴蝶兰的研究报道。

1.1 利用原球茎快速繁殖蝴蝶兰的研究概况

1.1.1 外植体的选择。蝴蝶兰组织培养诱导原球茎的外植体有茎尖、茎段、叶片、根尖、根段、花梗腋芽、花梗节间切段、幼胚、种子等。茎尖是较容易诱导培养、成功率较高的部位,它是最早用于兰花快速繁殖的外植体。早在1974年,Intu-wong等^[2]就利用蝴蝶兰茎尖诱导产生了原球茎状体,再由原球茎分化成植株,为实现蝴蝶兰工厂化生产奠定了基础。袁全国等^[3-6]用蝴蝶兰的茎尖诱导出了原球茎。但蝴蝶兰是单茎气生性兰,采用茎尖作为外植体会散失母株,因此在蝴蝶兰组培中用茎尖诱导原球茎不太合适。

叶片作为外植体既可减少对母株的伤害,且取材不受季节限制。叶片诱导原球茎的因素很多,除了培养基、激素、天然复合物等,还与叶龄、叶片接种方式和接种部位等有关。田中道男(1975)和张秀清等^[6]指出幼叶比成熟叶片诱导率高,且以整片直接插入培养基中较好;成熟叶片则叶基部诱导率较高。总之,叶片成功诱导出原球茎的报道较少。

根尖、根段培养成功的报道都很少,古川仁郎、长谷川等曾报道根尖诱导率低,不适宜蝴蝶兰快繁。中国台湾的林瑞松(1981)、曾宋君(2000)等报道了蝴蝶兰根尖培养的实验结果。

1.1.2 培养基的选择。不同品种的蝴蝶兰组培采用的培养

基不同。周俊辉等^[7]以红花品种为试材,添加了不同浓度的6-BA和1 ng/L NAA到3种基本培养基中,发现改良KC的效果最好,1/3MS次之,MS最差。李向英等^[8]以日本国旗红蝴蝶兰为试材,采用改良VW培养基并加入活性炭和土豆汁,取得了较好的效果。邹金环等^[9]以大红袍和红唇美人为材料,结论是MS+花宝(NPK=6.5-6-19)效果最好。张元国等^[10]用试管苗茎尖在附加5.0 ng/L 6-BA和0.5 ng/L NAA的MS培养基上诱导原球茎状体,诱导率可达100%。

不同外植体对最适培养基的选择也不同。曾宋君等^[4]取杂交胚、花梗、幼叶、茎尖、根尖等不同外植体接入到添加了不同浓度的6-BA、NAA和2,4-D的几种培养基中进行培养,发现其4个月的杂交胚选用G₃培养基附加0.2 ng/L 6-BA和0.5 ng/L NAA的最好;花梗、茎尖和根尖则在MS附加5.0~10.0 ng/L的6-BA培养基上效果最好;而叶片以B₅附加3.0~5.0 ng/L 6-BA的效果最佳。

1.1.3 原球茎继代增殖。在蝴蝶兰继代增殖中最常用的激素仍然是BA和NAA,偶尔使用KT和2,4-D。周俊辉等^[7]的试验中随着BA浓度增加,原球茎增殖倍数均有下降趋势,且低浓度的NAA对原球茎增殖和出苗均有促进作用。王静等^[11]研究表明,适宜浓度的6-BA配合较低浓度的NAA,更有利于原球茎的增殖。

1.2 用丛生芽途径快速繁殖蝴蝶兰的进展 为了进一步减少蝴蝶兰组培中产生的变异,王怀宇(1989)、刘荣维等^[12]人提出了利用丛生芽途径来实现蝴蝶兰的快速繁殖。潘学峰等^[13]采用满天红品种为试材,研究了利用丛生芽途径快速繁殖蝴蝶兰取得了好的成果。

1.3 生根壮苗培养 生根阶段以较低无机盐浓度有利于根的发生和生长,激素比例以较低分裂素和生长素为宜,同时添加一些天然提取物,如香蕉汁、椰乳等也可促进生根。另外适宜浓度的活性炭有利于蝴蝶兰生根培养。张启香等^[14]研究表明,低盐培养基1/4MS较适合生根培养,且当6-BA与NAA的比值适宜时,根长势较好,土豆汁作为复合添加物对生根较为有利。陈之林等^[15]将芽接种到附加香蕉汁的Hypoxen1号培养基上壮苗生根,植株可迅速生长。曾宋君等^[4]发现Kyoto和G₃培养基均具有较好的生根效果,激素浓度以0.1 ng/L 6-BA和0.5 ng/L NAA组合效果最佳,且在培养基

作者简介 刘亮(1982-),女,湖南长沙人,硕士研究生,研究方向:花卉组织培养。* 通讯作者, E-mail: yizili889@163.com.

收稿日期 2007-04-29

中加入10%香蕉、2%苹果、2%胡萝卜混合汁能明显促进试管苗根系生成,加入0.2%的活性炭也有利于根系的形成。

1.4 炼苗与移栽 当试管苗具3~4片叶,2~3条根时即可出瓶移栽。通常蝴蝶兰的移栽基质选用水苔、椰糠、碎砖块、碎木炭等。马子骏等^[16]比较了珍珠岩、松树皮和水苔3种基质的栽培效果,结果表明,水苔是蝴蝶兰最佳的栽培基质。潘学峰等^[13]分别以水苔、椰糠、砖块和木炭的混合体为基质,发现水苔是最好的移栽基质。

2 诱变育种

2.1 物理诱变 物理诱变剂主要是各种射线(如X射线、射线、中子、紫外线等)、微波、激光等。章宁等^[17]报导了3个蝴蝶兰品种利用⁶⁰Co射线诱变育种的实验,获得了一系列诱变苗。物理诱变结合化学诱变对兰科植物诱导突变体非常有效。有研究以春兰种子和茎尖为外植体进行组织培养,形成原球茎后,用紫外光和秋水仙素进行人工诱变,得到了变异植株。Maxunde和Bhowmik用射线和EMS对紫花苞舌兰的原球茎进行处理获得了8个叶绿素的突变体。

2.2 化学诱变 化学诱变剂引起的突变频率较高,大多情况下,就突变数量而言,化学诱变剂比辐射诱变更有效。另外,化学诱变剂有特异性,遗传变异定位的程度比辐射高,诱发的突变性状有明显专一性^[18],便于定向培育新品种。Hien等^[19]用125 ng/L秋水仙素处理 *Doritis pulcherrima* 的原球茎,再生植株中46%为四倍体。Kim等^[20]用0.01%和0.05%秋水仙素处理寒兰根状茎,在再生植株中,0.01%浓度处理2周、0.05%和0.1%浓度处理1周的多倍体诱导率分别为4.5%、5.2%、6.7%。陈超等^[21]用不同浓度的甲基磺酸乙酯(EMS)和叠氮化钠(NaN_3)对蝴蝶兰类圆球茎进行化学诱变试验,结果EMS比 NaN_3 的诱变处理效果好,且创造蝴蝶兰PLB突变体的参考浓度为0.5%。

2.3 诱变的结果 花卉诱变育种特别适宜改良花卉的某些单一性状,使其在品质、抗性等方面得到改善。章宁等^[17]研究得到的一系列变异株在株高、生长势、叶形等方面存在差异,强继业等^[22]研究发现经⁶⁰Co射线辐射后的蝴蝶兰有较高的光合作用和抗逆性。

化学诱变育种主要是利用秋水仙素诱导多倍体的产生,染色体数目的增加常会造成蝴蝶兰植株各部分变大,其颜色、品质以及抗病性等性状也会发生变化。陈玉水^[23]介绍了台湾糖业研究所对不容易通过杂交而获得后代的三倍体纯黄色花系Phal. Golden Emperor 'Sweet'经过 10×10^{-5} 的秋水仙碱处理叶片诱导出拟原球体,从中获得2个六倍体植株;中国台湾高雄大学生命科学系教授陈文辉成功将兰花染色体从“二倍体”提高到“四倍体”,让兰花花形大一倍,且味更香,色更艳,抗病性更强。可见染色体加倍育种提供了一条有效改良蝴蝶兰品种的途径。

3 问题与展望

尽管国内外在蝴蝶兰组培方面取得了一定的进展,但仍存在繁殖系数偏低,增殖难,继代所需周期偏长等问题;并且对有些方面的研究还存在不同、甚至相反的结论,如基本培养基的选择、激素的种类与配比以及培养方式;蝴蝶兰品种繁多,现有的研究多就某些品种进行,还有许多品种未涉及,且各品种间存在着较大差异,还需进一步研究;试管苗的移栽技术是快繁的关键,应尽量提高移栽成活率;移栽苗往往生长得很慢,需要提高其生长速度,促其开花,以产生经济价值。仍需加强蝴蝶兰离体培养繁殖技术的研究,探索通过组培加快育种和提高种苗的繁殖速度。诱变技术在改良蝴蝶兰品种方面起到了很重要的作用,值得作进一步的研究。

参考文献

- [1] 曹孜义,刘国民.实用植物组织培养技术教程[M].甘肃:甘肃科学技术出版社,2002.
- [2] INIUCONG O. Clonal propagation of *Phalaenopsis* by shoot-tip culture[J]. *Amer Orchid Soc Bull*, 1975, 93: 893-895.
- [3] 袁全国,庞冉琦.蝴蝶兰的组培快繁技术[J].北方园艺,2002(4):61.
- [4] 曾宋君,彭晓明,张京丽,等.蝴蝶兰的组织培养和快速繁殖[J].武汉植物学研究,2000,18(4):344-346.
- [5] 鲁雪华,郭文杰,徐立晖,等.蝴蝶兰花梗节间段培养繁殖的初步研究[J].园艺学报,2002,29(5):491-492.
- [6] 张秀清,王志武,刘玉敬,等.蝴蝶兰实生苗不同器官的离体培养[J].植物学通报,1996,13(1):50.
- [7] 周俊辉,叶超宏,陈旭高.蝴蝶兰原球茎增殖培养的研究[J].仲恺农业技术学院学报,2002,15(3):13-17.
- [8] 李向英,尹同萍,牛蕴华,等.蝴蝶兰的快速繁殖及栽培管理研究[J].山东农业科学,2000(4):13-14.
- [9] 邹金环,赵大勇,刘艳梅,等.蝴蝶兰组织培养快繁技术研究[J].北方园艺,2005(6):86-87.
- [10] 张元国,刁家连,刘玉娥,等.蝴蝶兰花梗腋芽组培再生技术体系得研究[J].山东农业科学,2004(6):3-5.
- [11] 王静.大量元素、有机添加物、激素对蝴蝶兰原球茎增殖的影响[J].上海农业科技,2004(3):21-23.
- [12] 刘荣维,梅庆超,崔元方.丛生芽——蝴蝶兰无性快速繁殖的新途径[J].热带作物学报,1993,14(2):105-107.
- [13] 潘学峰,王安石,李海珠.利用丛生芽途径快速繁殖蝴蝶兰的研究[J].海南大学学报:自然科学版,2005,23(1):47-52.
- [14] 张启香,方炎明,张晓平.蝴蝶兰的组织培养和快速繁殖[J].植物资源与环境学报,2004,13(3):38-40.
- [15] 陈之林,叶秀,梁承邺.蝴蝶兰花萼的离体培养[J].园艺学报,2003,30(2):242-244.
- [16] 马子骏,王鲁彤,卢宇广,等.蝴蝶兰工厂化生产技术研究[J].浙江林学院学报,1998,15(2):192-196.
- [17] 章宁,苏明华,刘福平,等.蝴蝶兰⁶⁰Co射线诱变育种研究[J].亚热带植物科学,2005,34(2):63.
- [18] 徐冠仁.植物诱变育种学[M].北京:中国农业出版社,1996:63-74.
- [19] HIEN R M, CHEN WH, WUC C, et al. Artificial induction of polyploidy in *Doritis Pulcherrima* [J]. Report of the Taiwan Sugar Research Institute, 1991 (132):13-18.
- [20] KIMMSEON, WONJE YANG, SONG CHANG HOON, et al. Polyploidy induction of *Cymbidium karran* by treatment of colchicine in vitro [J]. *Journal of Horticulture Science*, 1997, 39(1):73-76.
- [21] 陈超,王桂兰,乔永旭,等.蝴蝶兰类圆球茎的化学诱变试验[J].核农学报,2006,20(2):99-102.
- [22] 强继业,陈宗瑜,郭世昌.⁶⁰Co射线处理花卉后M₁代生理特性变化[J].核农学报,2004,18(2):107-109.
- [23] 陈玉水.台湾蝴蝶兰的常规育种与生物技术概述[J].西南园艺,2005,33(5):26-29.