

建兰“四季达摩”根状茎增殖分化及壮苗生根研究

周辉明¹, 林辉锋^{1*}, 陈昌铭¹, 莫智龙¹, 林发壮¹, 张政斌¹, 曹奕鸯¹, 宋彩凤²

(1. 三明市农业科学研究院, 福建三明 365051; 2. 三明市森彩生态农业发展有限公司, 福建三明 365051)

摘要 以建兰“四季达摩”根状茎为材料, 研究不同基本培养基、添加物对组培增殖分化以及不同糖浓度、生长调节剂种类和浓度对壮苗生根的影响。结果表明, 在增殖阶段, 花宝1号宜作为基本培养基, 香蕉泥可使根状茎增粗; 在分化阶段, 适宜的根状茎分化培养基为花宝2号3 g/L+多维片1/4片+香蕉60 g/L+NAA 1.0 mg/L+6-BA 1.0 mg/L, 多维片有利于芽的分化; 在壮苗生根阶段, 有利于组培壮苗生根的培养基为花宝1号3 g/L+60 g/L糖+1.0 mg/L NAA+10 mg/L 多效唑, 其假鳞茎健壮, 根较粗。该研究以期提高种苗繁育速度和质量, 为其优质高效快繁提供技术支持。

关键词 建兰“四季达摩”; 增殖; 分化; 壮苗生根

中图分类号 S682.31 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2022)23-0027-04

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2022.23.009



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

The Proliferation and Differentiation of Rhizome and Rooting of Strong Seedling of *Cymbidium ensifolium* 'sijidamo'

ZHOU Hui-ming, LIN Hui-feng, CHEN Chang-ming et al (Sanming Academy of Agricultural Sciences, Sanming, Fujian 365051)

Abstract Taking the rhizome as material, the effects of different basic media and additives on tissue culture proliferation and differentiation, as well as the effects of different sugar concentrations, types and concentrations of growth regulators on the rooting of strong seedlings were studied. The results showed that in the proliferation stage, Huabao No.1 should be used as the basic medium, and banana mud could thicken the rhizome. In the differentiation stage, the suitable medium for rhizome differentiation was Huabao No.2 3 g/L+Duowei tablet 1/4 piece+Banana 60 g/L+NAA 1.0 mg/L+6-BA 1.0 mg/L, Duowei tablet were conducive to axillary bud differentiation. In the strong seedling rooting stage, the suitable medium for the rooting of strong seedlings was Huabao No.1 3 g/L+60 g/L sugar+1.0 mg/L NAA+10 mg/L Paclobutrazol. The pseudobulbs were strong and its roots were thick. The study were focus on improving the speed and quality of seedling breeding and providing technical support for its high-quality, efficient and rapid propagation.

Key words *Cymbidium ensifolium* 'sijidamo'; Proliferation; Differentiation; Rooting of strong seedling

建兰(*Cymbidium ensifolium*)隶属兰科兰属地生兰, 别称四季兰、骏河兰、秋兰, 源自福建, 在我国的东南、华南、西南诸省均有分布, 广泛分布于东南亚和南亚各国, 北至日本^[1]。因其一年多次开花、花期长、植株雄健、花姿多变、叶株艺丰富等特点, 深受消费者的青睐^[2]。

建兰栽培历史悠久, 品种繁多, 生产上主要以种子杂交育苗和分株繁殖为主, 但传统分株繁殖存在繁殖率低、周期长、品种退化; 种子杂交育苗周期长、种苗易分离、品质不稳定等问题, 远满足不了市场需求。应用组织培养技术于建兰的种苗繁育已获得较大进展, 关于建兰种子、茎尖、花芽和侧芽为外植体的组培快繁技术研究已有报道^[3-6]。在组培过程中建兰先诱导形成根状茎, 进而进行根状茎增殖分化及壮苗生根。因此, 根状茎的增殖分化及壮苗生根是提高种苗繁殖系数和质量的关键阶段^[7]。研究表明, 不同建兰品种其组织培养各阶段适宜的培养基配方也不同, 植物生长调节剂种类及浓度配比均不一致^[6,8-9]。“四季达摩”别称“禅月达摩”, 是原产于漳州与龙岩交接的东家山脉, 经下山细选出的金边建兰矮种, 株型美观, 夏秋两季开花, 壮苗一年可以开4次花, 少则也有2~3次花, 观叶观花, 小巧文雅芳香四溢, 叶芽红色, 易花易芽, 观赏价值奇高。目前未见有建兰“四季达摩”的组培研究。笔者以建兰“四季达摩”的根状茎为材料,

研究不同基本培养基、添加物对组培增殖分化以及不同糖浓度、生长调节剂种类和浓度对壮苗生根阶段的影响, 以期提高种苗繁育速度和质量, 旨在为其优质种苗繁育提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 材料 供试材料为由三明市森彩生态农业发展有限公司提供、保存于三明市农业科学研究院种苗繁育中心组培室的“四季达摩”根状茎。

1.2 方法

1.2.1 不同基本培养基和不同添加物对根状茎增殖的影响。 将根状茎接种于①花宝1号3 g/L+香蕉60 g/L+NAA 2.0 mg/L, ②花宝1号3 g/L+多维片1/4片+NAA 2.0 mg/L, ③花宝2号3 g/L+香蕉60 g/L+NAA 2.0 mg/L, ④花宝2号3 g/L+多维片1/4片+NAA 2.0 mg/L 4种不同增殖培养基中, 每个处理15瓶, 根状茎长度为1.0~1.2 cm, 每瓶接种10条, 3次重复。培养条件: 暗培养, 培养温度(25±1)℃。45 d后根据实际测量统计根状茎的长度、直径和分枝数。

1.2.2 不同基本培养基和不同添加物对根状茎分化的影响。 将根状茎接种于①花宝1号3 g/L+香蕉60 g/L+NAA 1.0 mg/L+6-BA 1.0 mg/L, ②花宝2号3 g/L+香蕉60 g/L+NAA 1.0 mg/L+6-BA 1.0 mg/L, ③1/2MS+香蕉60 g/L+NAA 1.0 mg/L+6-BA 1.0 mg/L, ④花宝1号3 g/L+多维片1/4片+香蕉60 g/L+NAA 1.0 mg/L+6-BA 1.0 mg/L, ⑤花宝2号3 g/L+多维片1/4片+香蕉60 g/L+NAA 1.0 mg/L+6-BA 1.0 mg/L, ⑥1/2MS+多维片1/4片+香蕉60 g/L+NAA 1.0 mg/L+6-BA 1.0 mg/L 6种不同分化培养基中, 每个处理

基金项目 三明市科技计划项目(2020-N-2)。

作者简介 周辉明(1980—), 男, 江西抚州人, 副研究员, 硕士, 从事植物组织培养研究。*通信作者, 副研究员, 硕士, 从事花卉生物技术研究。

收稿日期 2021-12-16

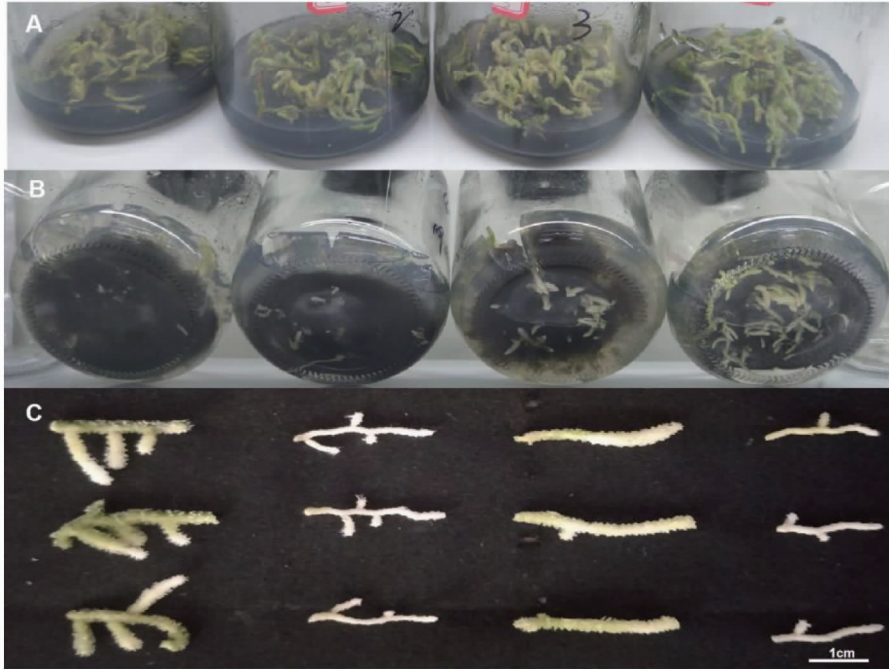
15 瓶,接种密度为 10 条增殖的根状茎,3 次重复。培养条件:光照 16 h/d,光照强度 1 000~1 500 lx,培养温度(25±1)℃。90 d 后根据实际统计分化率。

1.2.3 不同糖浓度、NAA 浓度、多效唑浓度对组培壮苗生根的影响。以花宝 1 号为基本培养基,采用糖(30、45、60 g/L)、NAA(0.5、1.0、2.0 mg/L)、多效唑(0、10、20 mg/L)3 因子 3 水平正交试验设计,每处理接苗高 2.5 cm 左右的小苗 30 株,60 d 后测量统计试管苗根体积、假鳞茎大小。

1.3 数据处理 使用 Excel 2010 软件计算平均值和标准差,DPS 统计分析软件对数据进行新复极差(SSR)多重比较,分析各因素对增殖分化和壮苗生根的影响。

2 结果与分析

2.1 不同基本培养基和不同添加物对根状茎增殖的影响 将建兰“四季达摩”诱导出的根状茎接种于 4 种不同的增殖培养基,经暗处理 45 d 后,增殖后的根状茎增长、变粗,在根状茎生长的节点处诱导出新的根状茎分枝(图 1C),且根状茎的增殖启动时间因不同增殖培养基而不同。表明经暗处理 30 d 增殖培养基培养后,③、④号增殖培养基底部清晰可见增殖生长的根状茎,而①、②号增殖培养基的根状茎生长数较少(图 1A、B),在增殖 45 d 后,根状茎的分枝数为①号>②号>④号>③号,根状茎长度为③号>①号>②号>④号,根状茎直径为③号>①号>④号>②号(表 1)。与花宝 2



注:A.增殖 30 d 时根状茎在培养基表面状态;B.增殖 30 d 时根状茎在培养基中状态;C.增殖 45 d 后根状茎的形态。左 1 为①号培养基;左 2 为②号培养基;右 2 为③号培养基;右 1 为④号培养基

Note:A.The state of rhizome on the surface of culture medium after 30 days of proliferation;B.The state of rhizome in culture medium after 30 days of proliferation;C.Morphology of rhizomes after 45 days of proliferation.Left 1 is medium No.1;Left 2 is medium No.2;Right 2 is medium No.3;Right 1. Medium No.4

图 1 4 种培养基配方对根状茎增殖的影响

Fig.1 Effect of four media formulations on rhizome proliferation

表 1 不同增殖培养基对根状茎增殖的影响

Table 1 Effect of different proliferation media on rhizome proliferation

增殖培养基编号 Proliferation medium No.	根状茎长度 Rhizome length cm	根状茎直径 Rhizome diameter mm	根状茎分枝数 Number of rhizome branches//支
①	2.63±0.04 bB	2.32±0.07 bB	3.2±0.4 aA
②	2.54±0.06 cC	1.93±0.04 cC	2.8±0.4 aA
③	2.72±0.08 aA	2.72±0.05 aA	1.3±0.5 cC
④	1.96±0.06 dD	1.96±0.04 cC	1.9±0.5 bB

注:同列不同小写字母表示不同培养基间差异显著($P < 0.05$);不同大写字母表示差异极显著($P < 0.01$)

Note:Different small letters in the same column indicated significant difference between different culture media ($P < 0.05$); different capital letters indicated significant difference ($P < 0.01$)

号比较,花宝①号更适合作为根状茎增殖基本培养基,添加物香蕉可使根状茎增粗和增长,而多维片有利于根状茎分枝数增加。

2.2 不同基本培养基和不同添加物对根状茎分化的影响 将建兰“四季达摩”增殖的根状茎接种于分化培养基中,经光照培养 90 d 后,芽体由根状茎的顶端分化生长,不同分化培养基根状茎的分化率不同,⑤号分化培养基分化率最高达 64.0%,花宝 2 号基本培养基分化率最高,多维片促进芽分化(表 2)。此外,在根状茎分化的同时,根状茎也会生长(图 2),多维生素也可使根状茎的分枝增多。

2.3 不同糖浓度、NAA 浓度、多效唑浓度对组培壮苗生根的影响 由表 3 可知,当壮苗培养基组合为 60 g/L 糖+2.0 mg/L NAA+10 mg/L 多效唑(处理⑨)和 30 g/L 糖+

1.0 mg/L NAA+10 mg/L 多效唑(处理②)时,其假鳞茎大小高于其他组合;当壮苗培养基组合为 45 g/L 糖+1.0 mg/L NAA+20 mg/L 多效唑(处理⑤)时,其根体积高于其他组合。极差分析结果表明,在假鳞茎生长指标中,3 种影响因素的主次关系均表现为多效唑>NAA>糖,多效唑浓度之间的关系为 10 mg/L 多效唑>20 mg/L 多效唑>0 mg/L 多效唑。在根体积的指标中,3 种影响因素的主次关系为多效唑>NAA>糖,多效唑浓度之间的关系为 20 mg/L 多效唑>10 mg/L 多效唑>0 mg/L 多效唑,说明高浓度的多效唑虽有利于根体积的增大,但抑制假鳞茎的生长,综合考虑假鳞茎和根体积的生长情况,有利于组培的壮苗生根培养基为 60 g/L 糖+1.0 mg/L NAA+10 mg/L 多效唑,其假鳞茎健壮,根较粗(图 3)。

表 2 不同分化培养基对根状茎分化的影响

Table 2 Effect of different differentiation media on rhizome differentiation

分化培养基编号 Differentiation medium No.	接种根状茎数 Number of inoculated rhizomes//个	分化的芽总数 Number of nocolated rhizomes 个	分化率 Differentiation rate//%
①	150	53	35.3
②	150	65	43.3
③	150	42	28.0
④	150	74	49.3
⑤	150	96	64.0
⑥	150	63	42.0

表 3 糖、NAA 和多效唑对壮苗生根的影响

Table 3 Effects of sugar, NAA and paclobutrazol on rooting of strong seedlings

编号 No.	糖 Sugar(A)//g/L	NAA(B) mg/L	多效唑 Paclobutrazol(C)//mg/L	假鳞茎大小 Pseudobulb size//mm	根体积 Root volume//cm ³
1	30	0.5	0	5.04±0.20 cdBC	4.38±1.51 aAB
2	30	1.0	10	5.75±0.26 aA	2.87±0.56 bcC
3	30	2.0	20	4.86±0.24 cdC	3.40±0.62 bBC
4	45	0.5	10	4.94±0.24 cdC	3.44±0.61 bBC
5	45	1.0	20	5.42±0.27 bAB	5.26±1.47 aA
6	45	2.0	0	4.93±0.30 cdC	2.32±0.43 cC
7	60	0.5	20	5.25±0.23 bcBC	4.75±0.59 aA
8	60	1.0	0	5.16±0.30 bcBC	2.42±0.50 cC
9	60	2.0	10	5.78±0.48 aA	4.87±1.08 aA
Ka1	5.22	5.08	5.04		
Ka2	5.10	5.44	5.49		
Ka3	5.40	5.19	5.18		
Ra	0.30	0.36	0.45		
Kb1	3.55	4.19	3.04		
Kb2	3.67	3.52	3.73		
Kb3	4.01	3.53	4.47		
Rb	0.34	0.67	1.43		

注:不同大小写字母表示差异显著($P < 0.05$)和差异极显著($P < 0.01$)。Ka 表示假鳞茎大小,Ra 表示假鳞茎的极差,Kb 表示根体积,Rb 表示根体积的极差

Note: Different capital and lowercase letters indicate significant difference ($P < 0.05$) and extremely significant difference ($P < 0.01$). Ka represents the size of pseudobulb, Ra represents the extreme difference of pseudobulb, Kb represents the root volume, and Rb represents the extreme difference of root volume

仙等^[3]认为根状茎增殖起主要作用的是基本培养基,其次是 TDZ, NAA 对增殖的影响较小。该研究结果表明,花宝 1 号更适合作为“四季达摩”根状茎增殖的基本培养基,说明根状茎在黑暗条件下增殖时需要培养基的氮素比例较低。而在



图 2 部分培养基组合对根状茎分化的影响

Fig.2 Effect of some medium combinations on rhizome differentiation

3 讨论

植物组织培养是大量繁殖种苗的重要手段,兰花组培包括诱导、增殖、分化和壮苗生根阶段。不同建兰品种根状茎的增殖和分化条件不同。在增殖阶段,增殖系数的高低直接决定该品种能不能通过组培快繁技术规模化繁育种苗,而增殖系数与植物生长调节剂、有机添加物和其遗传背景相关^[10-12]。同时,由于根状茎是后续种苗分化储存营养的重要载体,影响种苗分化的速度和质量。因此,在提高增殖系数的同时,还要考虑根状茎的质量,高丽等^[9]研究表明 MS 培养基对素心建兰根状茎的增殖和生长最有利。刘翠华等^[8]认为 6-BA 对建兰“小桃红”根状茎增殖培养影响显著,叶秀

比较有机添加物香蕉泥和多维素对增殖的影响表明有机添加物香蕉可使根状茎增粗和增长,而多维片有利于根状茎分枝数的增加。

在根状茎分化阶段,光照是根状茎分化的必要条件^[13]。

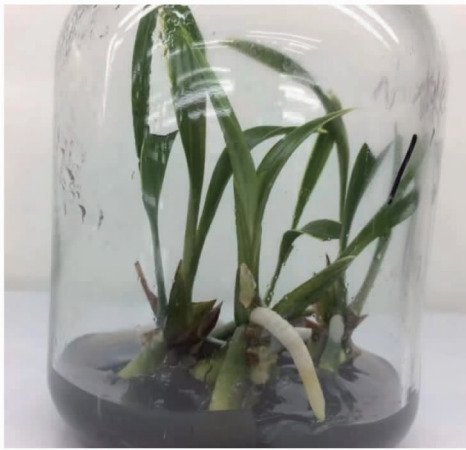


图3 60 d后“四季达摩”组培壮苗生根状态

Fig.3 Rooting state of “four seasons Dharma” strong seedlings in tissue culture after 60 days

增殖后的根状茎经光照,分化的芽体由根状茎的顶端生长。在国兰根状茎分化上,存在分化率低的问题,这与品种遗传特性和培养基组成有关。在建兰根状茎分化上,李承秀等^[14]研究认为建兰变种根状茎分化的适宜培养基为MS+NAA 2.0 mg/L+6-BA 1.0 mg/L+10%椰子汁,说明建兰变种分化既要一定量的生长素、适宜的细胞分裂素,同时也需要一定量的附加物。叶秀仙等^[3]通过不同培养基对根状茎分化培养的影响,筛选出适宜根状茎分化培养基配方为改良1号+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.1mg/L+白糖 30 g/L,芽分化率达86.3%。该研究通过不同基本培养基和多维素添加对根状茎分化的影响研究表明,适宜的分化基本培养基为花宝2号,其能保证芽体分化的氮元素供应。而添加的多维片有利于芽的分化,多维片是由多种维生素和微量元素混合而成的固体颗粒,富含全面多种的维生素和矿物质成分,可补充植物所需的微量元素和维生素,促进根状茎的分化。

组培分化阶段的试管苗生根少和苗较细弱,在组培苗移栽前须壮苗生根培养。组培苗质量直接影响后续炼苗移栽的成功率和种苗童期^[15],在组培壮苗生根阶段,陈春^[16]研究表明,有机添加物香蕉和马铃薯对“岭南奇蝶”的壮苗生根有明显的促进作用。王济红等^[6]研究表明适宜生根诱导的培养基为1/2MS+6-BA 0.3 mg/L+NAA 1.2 mg/L,李丽等^[17]认为线艺建兰的壮苗生根培养基为MS+IBA 1.0 mg/L+GA 0.5 mg/L+香蕉泥 100 g/L。邓樱等^[18]用1/2 MS和花宝1号诱导原球茎生根分化发现,花宝1号+0.2 mg/L NAA+0.6 mg/L IBA有利于建兰“小金童”生根,但未有生根分化率的统计。之前研究集中在根数量和苗高度上,较少关注假鳞茎大小。假鳞茎是兰科植物特有的变态茎,可储存水分和养分,其大小直接影响兰花生长状况^[19],假鳞茎的大小受培养

基组成、植物生长调节剂种类和浓度等因素的影响^[15],该研究以假鳞茎大小、根体积为指标,考察不同浓度的糖、NAA、多效唑对组培壮苗生根的影响,结果表明3种影响因素的主次关系均为多效唑>NAA>糖,高浓度的多效唑虽有利于根体积的增大,但抑制假鳞茎的生长,综合考虑假鳞茎和根体积的生长情况,有利于组培的壮苗生根的培养基为60 g/L糖+1.0 mg/L NAA+10 mg/L 多效唑,其假鳞茎健壮,根较粗(图3)。

4 结论

建兰“四季达摩”在增殖阶段,适宜的根状茎增殖培养基为花宝1号3 g/L+香蕉 60 g/L+NAA 2.0 mg/L,花宝1号宜作为基本培养基,香蕉泥可使根状茎增粗;在分化阶段,适宜的根状茎分化培养基为花宝2号3 g/L+多维片1/4片+香蕉 60 g/L+NAA 1.0 mg/L+6-BA 1.0 mg/L,多维片有利于芽的分化;在壮苗生根阶段,有利于组培壮苗生根的培养基为花宝1号3 g/L+60 g/L糖+1.0 mg/L NAA+10 mg/L 多效唑,其假鳞茎健壮,根较粗。

参考文献

- [1] 刘振龙.中国兰花名品新品鉴赏与栽培(原色图谱最新版)[M].南宁:广西科学技术出版社,2007.
- [2] 艾叶,陈璐,兰思仁,等.基于层次分析法的建兰品种观赏价值综合评价[J].福建农林大学学报(自然科学版),2019,48(6):736-741.
- [3] 叶秀仙,黄敏玲,林榕燕,等.素心建兰无菌播种快繁技术研究[J].福建农业学报,2015,30(10):939-943.
- [4] 贾勇炯,曹有龙,王水,等.彩心建兰花枝茎节离体培养的研究[J].四川大学学报(自然科学版),2000,37(1):94-97.
- [5] 王熊,张菊野,连宏坤,等.素心建兰无性繁殖系的建立及其开花[J].园艺学报,1988,15(3):205-208,218.
- [6] 王济红,刘燕,祁翔,等.建兰新品种黄金小神童组培育苗集成技术的优化[J].西南农业学报,2014,27(5):2135-2140.
- [7] 孙安慈,任玲,王伏雄.建兰根状茎增殖条件的研究[J].植物学通报,1989,24(3):147-150.
- [8] 刘翠华,蒙阳,王朝雯,等.建兰组织培养及根状茎增殖的动力学[J].南昌大学学报(理科版),2012,36(3):264-267,272.
- [9] 高丽,李洪林,杨波.基本培养基与生长调节剂组合对素心建兰根状茎增殖和芽分化的影响[J].亚热带植物科学,2007,36(4):13-15.
- [10] 谢娟,李龙,邢玥,等.墨兰‘吴字翠’×墨兰‘红花’杂交后代根状茎增殖及芽分化研究[J].热带作物学报,2020,41(5):985-993.
- [11] 李慧敏.兰花组培快繁研究进展[J].农业研究与应用,2014(1):53-56.
- [12] 王松太,曾丽婷,方中明,等.兰属植物组织培养研究进展[J].黑龙江农业科学,2019(10):144-151.
- [13] 石兰蓉,彭靖茹,黎萍.春兰根状茎离体培养的研究[J].江苏农业科学,2013,41(1):51-53.
- [14] 李承秀,黄艳艳,赵进红,等.建兰变种组培快繁试验研究[J].农业科技与信息(现代园林),2007(9):44-48.
- [15] 林辉锋,莫智龙,陈昌铭,等.墨兰假鳞茎瓶内诱导及其生长的影响因素研究[J].福建农业科技,2019(8):23-27.
- [16] 陈春.建兰“岭南奇蝶”种子无菌萌发与离体繁殖技术[J].亚热带农业研究,2016,12(2):125-129.
- [17] 李丽,罗君琴,聂振鹏,等.线艺建兰的组织培养和快速繁殖(简报)[J].亚热带植物科学,2008,37(2):69-70.
- [18] 邓樱,凌绪柏.兰属“小金童”组织培养研究[J].亚热带植物科学,2007,36(3):40-42.
- [19] 王春华.怎样甄别兰草的壮弱[J].花卉,2007(9):14.