

文章编号: 1001-411X(2000)03-0053-03

墨兰根状茎绿芽分化的研究

傅雪琳¹, 张志胜¹, 何平², 欧秀娟¹, 何琼英¹

(1 华南农业大学农学系, 广东 广州 510642; 2 华南农业大学生物技术学院, 广东 广州 510642)

摘要: 对影响墨兰根状茎绿芽分化的几个因素进行研究表明: 在基本培养基中添加 $5.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA + $0.50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA 的激素配比, 绿芽产率高达 180%, 且绿芽生长势旺盛。低剂量(1 和 2 Gy) $^{60}\text{Co}\gamma$ -射线辐射可促进根状茎绿芽分化, 提高绿芽产率和生长势; 高剂量(5~10 Gy)辐射则显著降低绿芽产率, 使其生长势减弱。活性炭完全抑制绿芽分化, 促进了脱分化状态下的根状茎增殖生长。

关键词: 墨兰; 根状茎; 绿芽分化

中图分类号: Q254

文献标识码: A

墨兰是具有重要观赏价值和经济价值的名贵兰花种类之一, 主要分布在我国南方地区, 在广东省有着悠久的栽培历史。在其杂交育种中, 兰花种子萌发首先形成根状茎, 继而进行绿苗分化。其中根状茎的绿苗分化是至今尚未突破的一个难题, 如何使大量增殖生长的根状茎高效分化、再生绿苗成为生产上快速繁殖墨兰的限制因素和关键环节, 探索影响根状茎绿苗分化的外源环境条件显得非常重要。迄今为止, 虽有关于墨兰快速繁殖的报道^[1,2], 但有关墨兰芽分化的系统研究却少见报道, 本文报道了有关这方面的研究结果。

1 材料与方法

1.1 材料

用作绿芽分化的根状茎是从墨兰(*Cymbidium sinense*)成熟种子诱导出, 经继代繁殖 3~4 代、稳定正常生长且较均匀一致的材料。

1.2 方法

绿芽分化的基本培养基是 MS 及在 MS 基础上自行设计的 ZW^[3]。根据实验处理的需要添加不同的激素、活性炭等。所有培养基均添加蔗糖 $50 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 琼脂 $8 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, pH 5.8~6.0。

$^{60}\text{Co}\gamma$ -射线辐照处理以 MS + 6-BA $5.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA $0.50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + 蔗糖 $50 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ + 琼脂 $8 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 为分化培养基, 在根状茎转入分化培养基 7 d 后进行不同剂量的辐照处理, 分别为 0(CK)、1、2、3、5、7、10 Gy 等, 剂量率 $0.45 \text{ Gy} \cdot \text{min}^{-1}$ 。

培养 40 d 后统计绿芽分化数量。绿芽产率(%) = (产生绿芽数/接种根状茎数) × 100。

2 结果与分析

2.1 激素对比对绿芽分化的影响

以 MS 和 ZW 为基本培养基, 设置了不同的激素浓度配比(表 1)。观察结果表明, 接种第 6 d 根状茎表面已有白色小颗粒长出; 接种约 10 d 后, 根状茎表面的白色小颗粒转为绿色芽点形态, 以后逐渐长大为绿芽, 并长高长粗成绿苗。在绿芽点萌生启动时间顺序上, 处理 B、C 和 D 较早, A、E 则较晚。不同激素对比对绿芽产率和绿芽生长势的影响结果(表 1)表明, $5.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA + $0.50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA 的 D 处理的绿芽产率最高, 绿芽长势也最旺盛, 其次是处理 C 和 B, 处理 E 最差, 但在处理 E 上根状茎有增殖生长, 个别绿芽亦有白色根长出。以上结果可能是由于墨兰根状茎在繁殖生长阶段应用的外源激素 NAA 量较高($1.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), 6-BA 的量相对较低($0.20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), 导致根状茎内源激素积累的不平衡, 使绿芽分化阶段要求较高的 6-BA 浓度和较低的 NAA 浓度, 且要有适当的配比, 才能使分化过程朝着所需要的“先芽后根”的方向进行。

2.2 $^{60}\text{Co}\gamma$ -射线辐照对墨兰根状茎绿芽分化的影响

$^{60}\text{Co}\gamma$ -射线辐照对墨兰根状茎绿芽分化效果明显(表 2)。低剂量(1、2 Gy)辐照促进了绿芽分化, 分化出的绿芽生长势旺盛, 较高剂量(5~10 Gy)辐照

收稿日期: 1999-09-01

作者简介: 傅雪琳(1967-), 女, 讲师, 硕士。

基金项目: 广东省“九五”攻关资助项目(9622033-10); 华南农业大学校长基金资助项目(4240)

1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>

表 1 激素对绿芽分化的影响

Tab. 1 Effect of auxin on green shoot differentiation

处理 代号 treatment	$\rho_{\text{激素 auxin}}$ concentration/ (mg $\cdot$ L $^{-1}$)		接种根状茎数	产 生	绿芽产率	绿芽长势
			No. of inoculated	绿芽数	green shoot	green shoot
	6- BA	NAA	rhizome	No. of green shoot	percent/ %	growth vigor
A	2. 50	0. 25	70	73	104	一般
B	2. 50	0. 50	65	85	131	一般
C	5. 00	0. 25	65	92	142	较好
D	5. 00	0. 50	65	117	180	旺盛
E	5. 00	1. 00	55	46	84	较差

则产生负效应,对绿芽分化产生了抑制作用,使绿芽产率显著降低,已分化出的绿芽生长势明显下降,随培养时间的延长,未分化的根状茎逐渐死亡,在 10 Gy 剂量下,也有一些绿芽死亡. 这一结果与作者在另一研究中的结果^[4]相一致,说明墨兰根状茎对⁶⁰Co γ -射线辐照较为敏感. 至于⁶⁰Co γ -射线辐照是否会引引起绿芽一些性状如开花等的变异和改良,需在绿苗移栽后做进一步观察研究.

2.3 活性炭对绿芽分化的影响

在分化培养基中添加了活性炭,分别为 0. 25、0. 50、0. 75、1. 00 g $\cdot$ L $^{-1}$. 结果不同浓度的活性炭对根状茎绿芽分化的影响相一致(表 3):所有根状茎均未分化绿芽,全部进行增殖生长,或增粗、伸长,或产生新的细小分枝. 似可推测,活性炭除吸附根状茎生长所产生的有害物质外,亦强烈地吸附了培养基中的生长调节物质,使培养基中的外源激素含量低至不足以启动和引发根芽分化的水平,对绿芽分化起到显著的抑制作用.

表 3 活性炭对绿芽分化的影响

Tab. 3 Effect of activated charcoal on green shoot differentiation

活性炭 activated charcoal	$\rho_{\text{激素 auxin concentration}}$ / (mg $\cdot$ L $^{-1}$)		接种根状茎数	绿芽分化数	根状茎生长势
/ (g $\cdot$ L $^{-1}$)	6- BA	NAA	No. of inoculated rhizome	No. of green shoot differentiation	vigor of rhizome
0. 25	2. 50	0. 25	95	0	较好
0. 50	5. 00	0. 50	88	0	较好
0. 75	7. 50	0. 75	95	0	旺盛
1. 00	10. 00	1. 00	75	0	旺盛

3 讨论

墨兰的组织培养是杂交育种和快速繁殖其优良品种的基础,一般包括以下步骤:(1)以种子、茎尖等作为外植体诱导出根状茎;(2)根状茎大量繁殖;(3)

表 2 ⁶⁰Co γ -射线辐照对绿芽分化的影响

Tab. 2 Effect of irradiation on green shoot differentiation

辐照剂量 irradiation dose/ Gy	接种根状 茎数 No. of inoculated rhizome	产 生 绿芽数 No. of green shoot	绿芽产率 green shoot percent / %	绿芽长势 green shoot growth vigor
0	150	260	173	较好
1	162	297	183	旺盛
2	179	347	194	旺盛
3	195	290	149	较好
5	179	142	79	一般
7	173	124	72	一般
10	143	59	41	较差

此外,新长出的根状茎的伸长生长速度远大于增粗生长,且产生多个细小分枝,表现出与在长期继代培养基上不同的特点,这似有利于延缓高代繁殖根状茎的老化. 在长期的继代繁殖过程中,若采用这种加有活性炭的分化培养基与一般继代培养基的适当交替培养,可能会起到既快速繁殖根状茎,又保持其旺盛生长和再生性的作用.

诱导根状茎芽分化;(4)诱导生根;(5)壮苗^[3]. 在墨兰组织培养过程中易产生褐变和酚污染,从而影响根状茎的生长和分化. 研究表明,在培养基中加入活性炭能够有效抑制褐变和酚污染,促进培养物的生长^[5,6]. 而本研究表明,在培养基中加入活性炭对

芽的分化完全抑制, 是不利的. 因此, 要克服酚污染对芽分化的影响需要采取其他措施.

根据本实验结果, 墨兰根状茎绿芽分化阶段需要较高的细胞分裂素浓度和较低的生长素浓度, 且二者比例合适, 才能由脱分化阶段转入分化阶段, 进行绿芽再生, 以 $6-BA 5.00\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} + \text{NAA } 0.50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 较为适当. 低剂量 (1、2 Gy) $^{60}\text{Co}\gamma$ -射线辐照能促进根状茎大量分化绿芽, 并增强绿芽的生长势, 高剂量 (5 Gy 及以上) 辐照则抑制其分化再生. 由于一定剂量的 $^{60}\text{Co}\gamma$ -射线辐照能使植物发生一定程度的变异, 在墨兰根状茎再生植株的性状诱变和改良上能否起到正向的诱导作用, 需作进一步的研究. 活性炭在墨兰根状茎绿芽分化培养基中强烈吸附外源激素, 使芽根分化不能进行, 故在分化培养基中不宜添加活性炭.

参考文献:

[1] 陈汝民, 叶庆生, 王小箐, 等. 墨兰种子胚的发育和培养初步研究 [J]. 热带亚热带植物学报, 1995, 3(4): 72—75.
[2] CHUNG J D, LEE J H, JEE S O, et al. Effect of medium composition on multiple shooting and subsequent growth of mericlone from rhizome of shoot tip cultures of temperate *Cymbidium* species [J]. Journal of the Korean Society for Horticultural Science, 1998, 39(3): 343—349.
[3] 张志胜, 欧秀娟. 墨兰的快速繁殖 [J]. 园艺学报, 1995, 22(1): 83—87.
[4] 傅雪琳, 张志胜, 何平, 等. $^{60}\text{Co}\gamma$ -射线辐照对墨兰根状茎生长和分化的效应研究 [J]. 核农学报, 2000, 14(5).
[5] 刘用生. 植物组织培养中活性炭的作用 [J]. 植物生理学通讯, 1994, (3): 214.
[6] 卜学贤, 陈维伦. 活性炭对培养基中生长调节物质的吸附作用 [J]. 植物生理学报, 1988, 14(4): 401.

Studies On Green Shoot Differentiation Of
Cymbidium sinense' s Rhizome

FU Xue-lin¹, ZHANG Zhi-sheng¹, HE Ping², OU Xiu-juan¹, HE Qiong-ying¹
(1 Dept. of Agronomy, South China Agric. Univ., Guangzhou 510642, China;
2 College of Biotechnology, South China Agric. Univ., Guangzhou 510642, China)

Abstracts: Factors affecting green shoot differentiation of *Cymbidium sinense* rhizome were studied systematically. It showed that when adding $5.00\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 6-BA and $0.50\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA to the basic medium, the green shoot production rate was as high as 180%, and the green shoot grew vigorously; that low dose (1 and 2 Gy) of $^{60}\text{Co}\gamma$ -ray irradiation promoted differentiation of rhizome, raised green shoot rate and its growth vigor, while irradiation under the higher dose (5 to 10 Gy) reduced the green shoot rate significantly, weakened its growth vigor; and that added activated charcoal inhibited green shoot differentiation, but promoted rhizome's growth during dedifferentiation state.

Key words: *Cymbidium sinense*; rhizome; green shoot differentiation

【责任编辑 周志红】