

武爱龙, 吴建阳, 卓海容. 蝴蝶兰“大辣椒”组织培养与快速繁殖 [J]. 福建农业学报, 2015, 30 (11): 1075-1081.

WU A-L, WU J-Y, ZHUO H-R. Tissue Culture and Rapid Propagation of Big Chili *Phalaenopsis* [J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2015, 30 (11): 1075-1081.

## 蝴蝶兰“大辣椒”组织培养与快速繁殖

武爱龙<sup>1</sup>, 吴建阳<sup>1</sup>, 卓海容<sup>2</sup>

(1. 广东省湛江师范学院基础教育学院生化系, 广东 湛江 524037; 2 广东省茂名市化州中学, 广东 茂名 525100)

**摘要:** 采用蝴蝶兰品种“大辣椒”幼嫩花梗作为试验材料,通过正交试验设计研究基本培养基、植物生长调节剂成分及含量对花梗不定芽的诱导、增殖、分化、生根的影响。结果表明,不定芽诱导的最佳培养基为:花宝一号+NAA 0.3 mg·L<sup>-1</sup>+6-BA 5 mg·L<sup>-1</sup>;不定芽增殖和分化的最佳培养基为:花宝一号+NAA 0.2 mg·L<sup>-1</sup>+6-BA 6 mg·L<sup>-1</sup>,增殖系数最高达到 5.53 倍;最佳的壮苗和生根培养基为 1/2MS+NAA 0.2 mg·L<sup>-1</sup>,生根率为 96%,椰子汁、苹果汁、土豆汁作为复合添加物对生根较为有利;组培生根苗移栽成活率在 91.5%以上。

**关键词:** 蝴蝶兰; 正交设计; 组织培养

**中图分类号:** S 681.31

**文献标识码:** A

### Tissue Culture and Rapid Propagation of Big Chili *Phalaenopsis*

WU Ai-long<sup>1</sup>, WU Jian-yang<sup>1</sup>, ZHUO Hai-rong<sup>2</sup>

(1. College of Basic Education, Zhanjiang Normal College, Zhanjiang, Guangdong 524037, China;

2. Huazhou High School, Maoming, Guangdong 525100, China)

**Abstract:** The young, tender flower stalks of the Big Chili *Phalaenopsis* were used for this study on the tissue culture and rapid propagation of the orchid. Using an orthogonal design experiment, the effects of the basic culture medium as well as hormone application and concentration on the pedicel induction, proliferation and differentiation of the adventitious buds and the seedling development and rooting of the plant were investigated. The results showed that (a) the best medium for inducing the adventitious buds was Hyponex No. 1+NAA (0.3 mg·L<sup>-1</sup>) +6-BA (5 mg·L<sup>-1</sup>); (b) the best medium for the proliferation and differentiation of the adventitious buds was Hyponex No. 1+NAA (0.2 mg·L<sup>-1</sup>) +6-BA (6 mg·L<sup>-1</sup>), which resulted in a multiplication factor up to 5.53 times; (c) the best medium for seedling development and rooting was 1/2 MS+NAA (0.2 mg·L<sup>-1</sup>), which yielded a rooting rate of 96%, and coconut milk, apple juice, potato juice as parts of the composite additives were found to be advantageous for rooting; and (d) the survival rate of the transplanted tissue culture was greater than 91.5%.

**Key words:** *Phalaenopsis*; orthogonal experiment; tissue culture

蝴蝶兰 *Phalaenopsis* 是兰科蝴蝶兰属植物,在中国台湾、泰国、菲律宾、马来西亚、印度尼西亚等地都有分布。蝴蝶兰被誉为“兰中皇后”,近几年迅速成为盆花中最流行的品种,为年宵花首位<sup>[1]</sup>。由于蝴蝶兰的生产设备具有很强的复制性,现在全国各个地区,从南方到北方,都在进行蝴蝶兰的生产<sup>[2-4]</sup>,蝴蝶兰的产业由此得到快速发展,产量极速增加。但是近年由于受国内外经济形势的影响,蝴蝶兰的销售在 2012、2013 年陷入低谷期,重要因素之一是新品种缺乏,很多蝴蝶兰生产商主要集中生

产几个流行的品种,品种单一造成市场大幅度滑坡。

为促进蝴蝶兰产业的持续发展,除了加强蝴蝶兰新品种的选育,还需要加强新品种的组织培养配套生产技术研究以促进推广生产,使新品种得以迅速进入消费市场,抢占市场先机。黄象男等<sup>[5]</sup>、曾碧玉等<sup>[6]</sup>、张彦妮等<sup>[7]</sup>、谭鹏鹏等<sup>[8]</sup>有过对蝴蝶兰的组培技术的研究,但实验室研究与工厂化生产育苗有很大的区别。工厂化生产育苗需要配方稳定、增殖系数高的实用化组培生产技术模式,而由于正交设计是多因素分析的有力工具,可用较少的试验

收稿日期: 2015-05-08 初稿; 2015-08-23 修改稿

作者简介: 武爱龙 (1978-), 男, 讲师, 研究方向: 植物遗传育种与组织培养研 (E-mail: wuailong8390@126.com)

基金项目: 广东省教育研究院教育研究课题 (GDJY-2014-B-b091)

次数获得较多的信息,林宗铿等<sup>[9]</sup>、李成慧等<sup>[10]</sup>、王冬云等<sup>[11]</sup>已应用在蝴蝶兰组培技术研究。为此选择最近流行的蝴蝶兰“大辣椒”品种进行实用化组培技术生产研究,采用正交设计法对不定芽诱导、不定芽增殖、丛生芽壮苗和生根培养基进行对比分析,以优化培养基配方,以期建立一整套蝴蝶兰实用化组培生产技术要求,满足工厂化生产的要求。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验材料

选择蝴蝶兰品种“大辣椒”为试验材料,采集供试品种幼嫩的花梗,其母株花芽饱满,排列正常、花形也对称、无瑕疵。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 花梗消毒** 从母株上切下带有腋芽的蝴蝶兰幼嫩花梗,用自来水冲洗干净,并用无菌滤纸将其擦干净,然后,将其切成长 2.0 cm 的小段,每段带 1 个花芽。在超净工作台上先用 75% 的酒精漂洗 20 s;迅速放入到 0.1% 升汞溶液中浸泡 10 min;浸泡完毕之后用无菌水冲洗 4 次,然后将其放在无菌碟子切去两端伤口,并放置 30 min,等到花梗晾干之后,接种到不同的诱导培养基上;先暗培养 15 d,然后再将其放入光照条件下培养。培养室温度为 (28 ± 3)℃,光/暗周期为 14 h/10 h,光照强度 3 500~4 000 lx。

**1.2.2 培养基的配置** 试验利用 MS,花宝 1 号, KC 为基本培养基,在基础培养基上按不同的培养阶段添加不同浓度、不同配比的植物生长调节剂 (NAA、6-BA),并添加椰子汁、马铃薯、香蕉等天然添加物,其中马铃薯剥皮称质量后,切成小碎块煮烂用纱布过滤后使用,成熟香蕉剥皮研磨成香蕉泥。调节所有培养基的 pH 值为 5.8,并用 1 g · L<sup>-1</sup> 卡拉胶固化,分装到 350 mL 三角瓶中,在 121℃ 条件下灭菌 24 min,待冷却凝固后使用。

**1.2.3 不定芽诱导** 为筛选出促使腋芽萌发最为适宜的培养基和激素浓度,蝴蝶兰“大辣椒”花梗不定芽诱导培养基因素与水平见表 1,其 L<sub>9</sub> (3<sup>3</sup>) 正交设计试验因素与水平组合见表 1,将花梗切段后,按自然生长状态接种到不同基本培养基、不同生长调节剂配比的培养基上,每个处理接种 30 个花梗段,共接种 270 个花梗段,每个培养都添加了 150 mL · L<sup>-1</sup> 椰汁 (CM)、香蕉泥 200 g · L<sup>-1</sup>、马铃薯泥 200 g · L<sup>-1</sup>、糖 20 g · L<sup>-1</sup>、水解乳蛋白 1 g · L<sup>-1</sup>。不定芽诱导培养基的正交试验设计因素与水平见表 1。

表 1 蝴蝶兰“大辣椒”不定芽诱导培养基因素及水平 L<sub>9</sub> (3<sup>3</sup>)  
Table 1 L<sub>9</sub> (3<sup>3</sup>) factors and levels on medium for bud induction on Big Chili *Phalaenopsis*

因子 水平	基本 培养基	植物生长调节剂	
		NAA/(mg · L <sup>-1</sup> )	6-BA/(mg · L <sup>-1</sup> )
1	MS	0.1	1
2	花宝一号	0.2	3
3	KC	0.3	5

**1.2.4 不定芽的增殖及分化** 为筛选出不定芽增殖及分化最为适宜的培养基和植物生长调节剂含量,蝴蝶兰“大辣椒”不定芽增殖及分化培养基因素与水平见表 2,其 L<sub>9</sub> (3<sup>4</sup>) 正交设计试验因素与水平的组合见表 2,将不定芽切取之后,按自然生长状态接种到不同基本培养基、不同生长调节剂配比的培养基上,每个处理接种 30 棵不定芽,共接种 300 棵不定芽,每个培养都添加了 150 mL · L<sup>-1</sup> 椰汁 (CM)、香蕉泥 200 g · L<sup>-1</sup>、马铃薯泥 200 g · L<sup>-1</sup>、糖 20 g · L<sup>-1</sup>、并附加 0.5 g · L<sup>-1</sup> 活性炭 (AC)。

表 2 蝴蝶兰“大辣椒”不定芽增殖及分化培养基因素及水平 L<sub>9</sub> (3<sup>4</sup>)  
Table 2 L<sub>9</sub> (3<sup>4</sup>) factors and levels on medium for adventitious bud proliferation and differentiation on Big Chili *Phalaenopsis*

因子 水平	基本 培养基	植物生长调节剂	
		NAA/(mg · L <sup>-1</sup> )	6-BA/(mg · L <sup>-1</sup> )
1	MS	0.2	2
2	1/2MS	0.4	4
3	花宝一号	0.6	6

**1.2.5 蝴蝶兰的壮苗及生根培养基** 为筛选出最为适宜的壮苗及生根培养基,本研究主要对植物生长调节剂含量和配比做些调整,蝴蝶兰“大辣椒”壮苗和生根培养基的因素与水平见表 3。小苗分别接种在接种到不同的壮苗和生根培养基上 (表 10),每个处理接种 10 瓶 (每瓶 10 芽),共接种 60 瓶。都添加了 150 mL · L<sup>-1</sup> 椰汁 (CM)、香蕉泥 200 g · L<sup>-1</sup>、马铃薯泥 200 g · L<sup>-1</sup>、糖 20 g · L<sup>-1</sup>、并附加 0.5 g · L<sup>-1</sup> 活性炭 (AC)。培养条件以日光灯为光源,无菌苗光照时间为每天 12 h,光照强度为 1 400~1 800 lx,温度为 26℃ 左右。

**1.2.6 组培苗的驯化和移栽** 小苗经过 3 个月左右的生根培养,等到叶片长度达到 5 cm 左右,同时根的长度也达到了 5 cm 左右就可以移入温室中

进行炼苗。炼苗过程要将小苗根部的培养基洗干净，同时用多菌灵或高锰酸钾进行消毒，然后栽入水草基质中进行生长。

表 3 蝴蝶兰“大辣椒”壮苗及生根培养基的因素与水平  
Table 3 Factors and levels on culture medium for seedling development and rooting of Big Chili *Phalaenopsis*

因子水平	基本培养基	NAA/ (mg · L <sup>-1</sup> )
1	1/2MS	0
2	花宝一号	0.2
3		0.4

1.3 调查统计分析

每 15 d 调查 1 次瓶苗生长情况，统计不定芽的诱导及增殖数量；接种后 15 d 统计生根数量，计算生根率，并利用 SPSS 21 软件对试验数据进行方差分析和单因子主效应分析。

2 结果与分析

2.1 不同基本培养基、植物生长调节剂配比对花梗不定芽的诱导效果比较

将花梗段接种在不定芽诱导培养基上，培养 15 d 后不定芽开始膨大，20 d 后萌发长出小叶，30 d 形成 1 个不定芽（图 1）。试验结果表明（表 4）用花梗作为初次外植体接入不定芽诱导培养基中，由于污染的原因，造成接种瓶数损失较大，为 20%~30%。同时，所诱导出来的不定芽长势，一般是激素含量越高，芽比较小，叶色就会出现由水泽状，生长速度快。

方差分析结果表明（表 5）：基本培养基对出芽率的影响（Sig. = 0.003）呈极显著性（ $P < 0.01$ ），NAA 对出芽率的影响（Sig. = 0.199）表现不明显（ $P > 0.05$ ），BA 对对出芽率的影响（Sig. = 0.014）呈显著性（ $P < 0.05$ ），3 个因素中对出芽率影响大小次序依次为基本培养基>BA>NAA。

单因子主效应分析对出芽率的影响，表 6 结果分析表明：对于提高出芽率来说，基本培养基应选择花宝一号（均值最大，为 67.29），NAA 含量应该为 0.3 mg · L<sup>-1</sup>（均值最大，为 36.56），6-BA 含量应该为 5 mg · L<sup>-1</sup>（均值最大，为 49.80），因此对于不定芽诱导的最佳培养基为基础培养基：花宝一号；NAA：0.3 mg · L<sup>-1</sup>；6-BA：5 mg · L<sup>-1</sup>。



图 1 花梗诱导出不定芽  
Fig. 1 Pedicel induced adventitious buds

表 4 不同基本培养基、不同植物生长调节剂配比对花梗不定芽诱导效果影响  
Table 4 Effect of basic media and hormones on adventitious buds induction

序号	基本培养基	NAA/ (mg · L <sup>-1</sup> )	6-BA/ (mg · L <sup>-1</sup> )	接种数 /瓶	污染数 /瓶	出芽数 /瓶	出芽率 /%	不定芽长势情况
1	3	3	1	30	7	2	8.70	芽小,生长速度慢,芽正常
2	1	2	3	30	6	8	36.36	芽眼多,有些形成小芽,生长速度慢,芽正常
3	3	1	3	30	7	8	34.78	芽眼多,有些形成小芽,生长速度较快,芽正常
4	1	3	2	30	8	5	22.73	芽大,生长速度慢,芽正常
5	2	3	3	30	7	18	78.26	芽小,生长速度快,芽正常
6	3	2	2	30	11	4	21.05	芽小而粗壮,生长速度慢,芽正常
7	2	2	1	30	7	12	52.17	芽大,生长速度慢,芽正常
8	2	1	2	30	9	15	71.43	芽小,生长速度较快,芽正常
9	1	1	1	30	9	4	18.05	芽小,粗壮,叶色鲜绿,生长速度慢,芽正常

注：出芽率=出芽的花梗数/（接种的花梗数-污染的花梗数）×100%

表 5 培养基和植物生长调节剂对出芽率的影响方差分析

Table 5 Results of variance analysis

方差来源	III 型平方和	df	均方	F	Sig.
基本培养基	3841.513	2	1920.757	325.812	0.003
NAA	47.533	2	23.767	4.031	0.199
BA	828.150	2	414.075	70.238	0.014
误差	11.791	2	5.895		
总计	17841.527	9			
校正的总计	4728.987	8			

注:  $R^2=0.990$ 

表 6 单因素影响出芽率统计结果

Table 6 Statistical results on single factor affecting sprouting rate

因素	水平	均值	标准误差	95% 置信区间	
				下限	上限
基本培养基	MS	25.713	1.402	19.682	31.745
	花宝一号	67.287	1.402	61.255	73.318
	KC	21.51	1.402	15.478	27.542
NAA/(mg · L <sup>-1</sup> )	0.1	41.42	1.402	35.388	47.452
	0.2	36.527	1.402	30.495	42.558
	0.3	36.563	1.402	30.532	42.595
BA/(mg · L <sup>-1</sup> )	1	26.307	1.402	20.275	32.338
	3	38.403	1.402	32.372	44.435
	5	49.8	1.402	43.768	55.832

## 2.2 不同基本培养基、植物生长调节剂配比对不定芽增殖及分化效果比较

花梗不定芽诱导出来之后,将所获得的不定芽在无菌操作台上分切为单芽后转入准备好的不定芽增殖及分化培养基里面进行培养之后,发现 20 d 其不定芽就逐渐萌发出芽眼,再过 20 d 之后,逐渐长出小叶并舒展,叶色由渐渐白转为淡绿、鲜绿、浓绿(图 2、3)。

通过不同基本培养基、不同植物生长调节剂配比对不定芽增殖及分化效果影响(表 7),表明将所获得的不定芽转入到增殖和分化培养基中,污染数比较低为 0~2%,符合一般组培公司操作污染的规定(夏天污染不能超过 10%,冬天污染不能超过 4%),同时,植物生长调节剂越高,丛生芽眼的数量增长也越多,但是,也存在芽体生长不正常的现象,如玻璃化,变异现象的出现。增殖系数最高的培养基为花宝一号+NAA 0.2 mg · L<sup>-1</sup>+6-BA 6 mg · L<sup>-1</sup>达到 5.53 倍。



图 2 不定芽增殖前表现

Fig. 2 Adventitious buds before proliferation

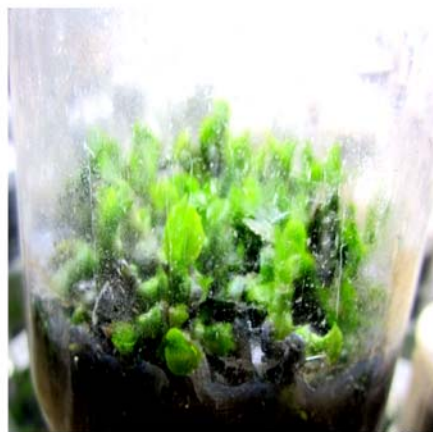


图 3 不定芽增殖后表现

Fig. 3 Adventitious buds after proliferation

通过方差分析增殖系数的影响(表 8):基本培养基的显著值 Sig. 为 0.005 ( $P<0.01$ )对增殖系数有极显著性影响, NAA 的显著值 Sig. 为 0.049 ( $P<0.05$ )对增殖系数有显著性影响, BA 的显著值 Sig. 为 0.013 ( $P<0.05$ )对增殖系数有显著性影响。3 个因素中,影响大小次序依次为基本培养基>BA>NAA。

单因子主效应分析对增殖系数影响统计结果(表 9),表明对于提高增殖系数来说,基本培养基应选择花宝一号(均值最大,为 4.43), NAA 含量应该为 0.2 mg · L<sup>-1</sup>(均值最大,为 3.33), 6-BA 含量应该为 6 mg · L<sup>-1</sup>(均值最大,为 3.51),因此,对于不定芽增殖和分化的最佳培养基为基础培养基:花宝一号; NAA: 0.2 mg · L<sup>-1</sup>; 6-BA: 6 mg · L<sup>-1</sup>。

表 7 不同基本培养基、不同植物生长调节剂配比对不定芽增殖及分化效果影响

Table 7 Effect of basic media and hormones on proliferation and differentiation of adventitious buds

序号	基本培养基	NAA/ (mg · L <sup>-1</sup> )	6-BA/ (mg · L <sup>-1</sup> )	接种数 /瓶	污染数 /瓶	形成丛 生芽数	增殖 系数	丛生芽长势情况
1	3	3	1	10	1	814	3.01	小芽健壮,叶片鲜绿
2	1	2	3	10	0	543	2.26	小芽长势一般,叶片淡绿
3	3	1	3	10	2	1329	5.53	小芽多而密,有点变异,叶片水泽状
4	1	3	2	10	1	405	1.5	小芽少而粗壮,长势慢,叶片浓绿
5	2	3	3	10	0	825	2.75	小芽小而粗壮,长势慢,叶片淡绿
6	3	2	2	10	0	1422	4.74	小芽多而密,长势正常,叶片鲜绿
7	2	2	1	10	2	983	1.04	小芽少而粗壮,长势慢,叶片浓绿
8	2	1	2	10	1	311	3.28	小芽健壮,叶片鲜绿
9	1	1	1	10	2	284	1.18	小芽少而健壮,长势慢,叶片鲜绿

注:计算形成的丛生芽数和增殖系数时都去除掉污染瓶数。

表 8 培养基和植物生长调节剂对增殖系数的影响方差分析

Table 8 Effect of multiplication factor on variance analysis

方差来源	III 型平方和	df	均方	F	Sig.
基本培养基	12.517	2	6.259	186.271	0.005
NAA	1.318	2	.659	19.616	0.049
BA	5.293	2	2.647	78.771	0.013
误差	0.067	2	0.034		
总计	90.261	9			
校正的总计	19.196	8			

注: R<sup>2</sup>=0.986

表 9 单因素影响增殖系数统计结果

Table 9 Statistical results of single factor affecting multiplication factor

因素	水平	均值	标准 误差	95% 置信区间	
				下限	上限
基本培养基	MS	1.647	0.106	1.191	2.102
	1/2MS	2.357	0.106	1.901	2.812
	花宝一号	1.647	0.106	1.191	2.102
NAA/(mg·L <sup>-1</sup> )	0.2	3.330	0.106	2.875	3.785
	0.4	2.680	0.106	2.225	3.135
	0.6	2.420	0.106	1.965	2.875
BA/(mg·L <sup>-1</sup> )	2	1.743	0.106	1.288	2.199
	4	3.173	0.106	2.718	3.629
	6	3.513	0.106	3.058	3.969

2.3 不同基本培养基、植物生长调节剂配比对蝴蝶兰的壮苗及生根培养基效果比较

将无根丛生芽分开后接种到生根培养基中, 20 d左右根就开始萌发, 2~3 个月就可移栽(图 4)。选用不同的基本培养基对萌发并具有 4~5 片叶的小苗进行生根培养结果(表 10), 表明低盐培养基 1/2MS 较适合生根培养。在培养基 2 中, 生根率为 96%, 且根长势健壮, 数量多; 而以花宝一号为基本培养基中, 生根率最高为 44%, 最低为 34%, 且长势较弱; 以 NAA 0.2 mg · L<sup>-1</sup> 根长势较好; 椰子汁、苹果汁、土豆汁作为复合添加物对生根较为有利。最佳的壮苗和生根培养基为 1/2MS + 0.2 mg · L<sup>-1</sup>。

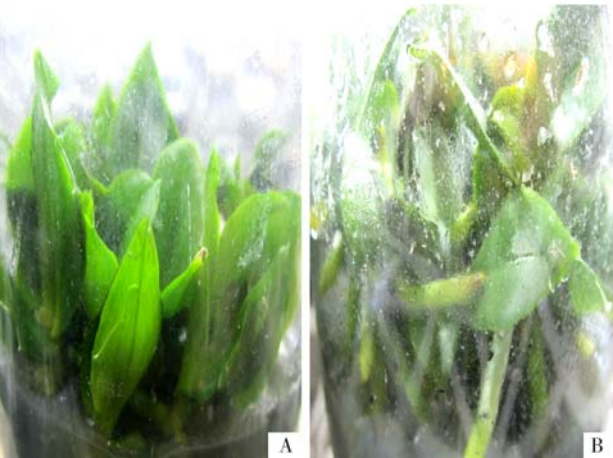


图 4 组培苗

Fig. 4 Seedlings

注: A 为生根前表现, B 为生根后表现。

表 10 不同基本培养基、不同植物生长调节剂配比对蝴蝶兰的壮苗及生根培养基影响  
Table 10 Effect of basic media and hormones on medium for seedling development and rooting of *Phalaenopsis*

序号	基本培养基	NAA/ (mg · L <sup>-1</sup> )	接种瓶数/ (个 · 瓶 <sup>-1</sup> )	平均根数 /条	平均根长 /cm	生根率 /%	根生长情况
1	1/2MS	0	10	1.62	2.78	67	细长,数量少
2	1/2MS	0.2	10	3.43	3.16	96	粗壮,根较多
3	1/2MS	0.4	10	2.84	3.04	83	短,根多
4	花宝一号	0	10	1.45	2.17	34	粗短,根较少
5	花宝一号	0.2	10	2.56	1.66	42	弱,根少
6	花宝一号	0.4	10	2.14	1.87	44	细弱,根少

## 2.4 生根苗移栽

选取根系发达、粗壮、长 4~5 cm 的试管苗,在移栽前先经炼苗培养,即将试管苗(未打开培养瓶盖)放在温室大棚里面的滚床上,室温下 30 d,等到三角瓶里面的蝴蝶兰生根苗的叶子由鲜绿变为墨绿之后,再打开瓶盖在室温下放置 20 d,然后移栽,所用基质是消毒灭菌的水苔,加盖塑料薄膜,薄膜上有通风小口,基质用营养液喷湿,但不能过湿,置于散射光下生长。待蝴蝶兰根系成活后,再喷洒清水 1 次,然后每隔 7 d 浇水 1 次,这样蝴蝶兰成活率较高,一般的成活率在 91.5% 以上。

## 2.5 蝴蝶兰温室管理

蝴蝶兰属于热带阴生植物,喜高温不耐严寒,在温度 5℃ 以下便会死亡,如果温度低于 10℃ 时蝴蝶兰的花瓣上就容易出现黑色的斑点,冬季要注意防寒。同时,蝴蝶兰喜欢高湿的环境,根部又忌积水,因此,蝴蝶兰喜通风,水分过多,容易引起根部腐烂,对于刚出瓶的小苗就要及时补充水分,中苗或大苗应根据干湿程度浇水,一般 7~10 d 基质变干,盆面发白时宜浇水,浇水时要让盆中水苔湿透,并且夏季通风不良植株易染病,日常管理注意光照不宜过强,施肥根据不同生长需要来完成,栽成活率达到 91.5%。组培苗移栽 4~6 周之后可适当施一些液体肥料,每周 1 次。一般栽培 2 年时间就可以根据销售需求来调控其抽花梗以及开花时间,以达到既满足市场对蝴蝶兰的需求,又能够达到盈利目的。

## 3 讨论与结论

影响组培效果的因素主要有污染、褐化问题。本研究过程笔者不建议采取添加抗菌剂,尽可能采用升汞进行蝴蝶兰花梗以及叶片表面消毒,这与何荆州等<sup>[12]</sup>研究一致的。本研究采取尤海龙等<sup>[13]</sup>、唐德华等<sup>[14]</sup>在培养基里面添加适当含量的 PVP 和

VC,新组培的瓶苗采取在低温 17~20℃、黑暗培养 7 d,再转到正常温度、光照培养,能较大降低褐化程度。同时生根培养基中添加活性炭,褐化效果更好。

研究结果表明,选择花宝一号为基本培养基,不定芽诱导的最佳培养基为:花宝一号+NAA 0.3 mg · L<sup>-1</sup>+6-BA 5 mg · L<sup>-1</sup>;不定芽增殖和分化的最佳培养基为:花宝一号+NAA 0.2 mg · L<sup>-1</sup>+6-BA 6 mg · L<sup>-1</sup>,增殖系数最高达到 5.53 倍。在工厂化生产中,一般都是使用花宝一号作为诱导以及增殖培养基使用,张伟等<sup>[15]</sup>在蝴蝶兰组培中就发现在 MS+3.0 mg · L<sup>-1</sup> 6-BA+1.0 g · L<sup>-1</sup> 花宝 1 号培养基中诱导出营养芽,其诱导率达 90%,叶秀仙等<sup>[16]</sup>在添加甘露醇 15 g · L<sup>-1</sup>或多效唑(PP333) 6.0 mg · L<sup>-1</sup>的 13.0 g · L<sup>-1</sup>+AC 0.5 g · L<sup>-1</sup>+蔗糖 20 g · L<sup>-1</sup>培养基上保存 18 个月,存活率达 80.0% 以上,且保持较高的增殖速率,增殖系数 4.1,这都意味着蝴蝶兰应用花宝一号作为培养基具有更强的实用性。同时研究发现最佳的壮苗和生根培养基为 1/2MS+NAA 0.2 mg · L<sup>-1</sup>,生根率为 96%,椰子汁、苹果汁、土豆汁作为复合添加物对生根较为有利,这与很多蝴蝶兰组培研究者<sup>[5-8]</sup>利用 1/2MS 作为壮苗和生根培养基的结果是一致的。

本研究采用蝴蝶兰品种“大辣椒”幼嫩花梗作为试验材料,通过正交试验设计研究基本培养基、激素成分及浓度水平对花梗不定芽的诱导、增殖、分化、生根的影响,以及蝴蝶兰温室管理等方面进行了较为系统的研究,建立了蝴蝶兰组织培养与快速繁殖技术体系,可为工厂实用化种苗生产提供技术支持。

## 参考文献:

- [1] 王俊,杨书才,杨录军,等.郑州市蝴蝶兰产业现状、存在问题及发展建议[J].河南农业科学,2011,40(12):17-19.

- [2] 张永柏, 曾俊弼. 我国蝴蝶兰发展趋势和存在问题 [J]. 中国花卉盆景, 2001, (12): 8—9.
- [3] YOUNG P S, MURTHY H N, YOEUP P K, et al. Mass multiplication of protocorm-like bodies using bioreactor system and subsequent plant regeneration in phalaenopsis [J]. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 2000, 63 (1): 67—72.
- [4] HUANG XIANG-NAN, ZANG XIN, LV XIA-HUI, et al. . Rapid Propagation of Phalaenopsis Orchid by Tissue Culture [J]. Journal of Henan Agricultural Sciences, 2008, 1: 91—93.
- [5] 黄象男, 藏新, 吕晓辉, 等. 蝴蝶兰组培快繁技术研究 [J]. 河南农业科学, 2008, (1): 91—93.
- [6] 张彦妮, 边红琳, 陈立新. 蝴蝶兰幼嫩花梗组织培养和快速繁殖 [J]. 草业科学, 2011, 28 (4): 590—595.
- [7] 曾碧玉, 许传俊, 张文惠, 等. 蝴蝶兰花梗初代培养研究 [J]. 福建农业学报, 2013, 28 (2): 124—128.
- [8] 谭鹏鹏, 彭方仁, 江荣翠, 等. 蝴蝶兰丛生芽快繁体系的建立 [J]. 林业科技开发, 2013, 27 (4): 80—84.
- [9] 林宗铿, 黄德贵. 应用正交设计方法探讨蝴蝶兰丛生芽生根壮苗的条件 [J]. 福建热作科技, 2012, 27 (1): 4—5, 11.
- [10] 李成慧, 蔡斌, 单丽丽, 等. 应用正交设计法探讨蝴蝶兰叶片类原球茎的诱导 [J]. 扬州大学学报: 农业与生命科学版, 2014, 25 (2): 76—78.
- [11] 王冬云, 汪建亚, 蔡桁, 等. 蝴蝶兰组培不定芽增殖条件的优化 [J]. 华中农业大学学报, 2007, 26 (6): 856—858.
- [12] 何荆洲, 卜朝阳, 闭志强, 等. 蝴蝶兰离体培养花梗表面消毒试验初报 [J]. 农业研究与应用, 2011, 132 (1): 1—4.
- [13] 尤海龙, 司亮. 蝴蝶兰组织培养过程中减轻外植体褐化的方法研究 [J]. 中国林副特产, 2009, 101 (4): 19—21.
- [14] 唐德华, 崔宝禄. 蝴蝶兰外植体褐化控制的研究. 安徽农业科学, 2012, 40 (3): 1294—1295.
- [15] 张伟, 乔保建, 李冰冰, 等. 蝴蝶兰高效组培快繁及温室移栽技术, 江苏农业科学, 2015, (9): 83—86.
- [16] 叶秀仙, 黄敏玲, 樊荣辉, 等. 蝴蝶兰离体保存及其遗传稳定性研究. 福建农业学报, 2014, (10): 976—981.

(责任编辑: 黄爱萍)