

江西野生四季兰组培中的酚害控制和污染控制

种楠¹, 陈洁敏¹, 赵九洲²

(¹江西财经大学艺术学院园林系, 南昌 330032; ²江西省生态环境实验教学示范中心, 南昌 330032)

中国兰是中国十大传统名花之一, 具有很高的观赏价值和经济价值。但是野生兰花的生境随着工业和城市化进程的迅猛发展而遭到严重破坏。本研究旨在缩短和简化野生四季兰 [*Cymbidium ensifolium* (L.) Sw.] 的育苗程序, 解决组培中的酚害和污染的问题, 以降低成本, 为江西野生四季兰花的迁地保护和规模化生产提供依据。

选取野生四季兰 3 ~ 8 cm 长的幼芽, 将其从母体上采下, 先用自来水流水冲洗 10 min, 75% 的酒精浸泡 30 s, 再置于 0.1% 升汞溶液 (加 1 ~ 2 滴 Tween-20) 中消毒 8 min, 然后用无菌水冲洗 5 次, 用消毒滤纸吸干表面水分, 剥去外围小叶, 在无菌条件下于解剖镜下剥出约 10 mm 长的茎尖, 以生长点为中心分割 4 mm 茎段作为外植体。采用 $L_{16}(4^3)$ 正交设计研究外植体组培中的酚害控制和污染的控制效果。以改良的 MS 为基本培养基 [其中 $1/4$ MS + 花宝 1 号 $3 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ + 蛋白胨 $2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ + 6-BA $2.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + 香蕉泥 (BJ) $200 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ + 蔗糖 $20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ + 琼脂 $8 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$], 培养基中添加不同浓度 (0、2、4、6 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) 的活性炭 (activated carbon, AC) 和不同浓度 (0、35、70、105 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 的硫代硫酸钠 (Hyposulphite, HY) 研究酚害的控制效果; 添加不同浓度 (0、0.5、1.0、1.5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 的氨苄 (Penicillin, PN) 研究污染的控制效果。试验中所有培养基 pH 值均为 5.5。培养室温度 (25 ± 1) $^{\circ}\text{C}$, 光照 10 ~ 12 $\text{h} \cdot \text{d}^{-1}$, 光照度约 2000 lx, 相对湿度 60% ~ 65%。

在茎尖的培养中, 以 $1/4\text{MS} + \text{蔗糖 } 20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} + \text{BJ} 200 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} + \text{琼脂 } 8 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} + 6\text{-BA } 2.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{NAA } 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{AC } 4 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的诱导率高达 96.7%, AC 的用量为 4 和 6 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 控制酚害的效果好。野生四季兰的茎段培养中的污染较重, 限制成苗率和出瓶率。将污染菌在无菌条件下接种于葡萄糖蛋白胨液体培养基中增殖培养后, 在马铃薯葡萄糖培养基平板上划线接种, 置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温培养箱 48 h 后观察菌落的生长状态, 确定污染菌的适宜生长培养基, 其后继续在适宜培养基平板上划线分离, 得到不同的单菌落。分别挑取单个菌落接种于马铃薯斜面培养基培养上, 每种菌源均反复划线、镜检, 得到纯菌种, 经过镜检确定为革兰氏阴性杆菌和革兰氏阳性芽孢杆菌 2 种。为此在培养基中添加 PN 和 HY, 进行抑菌试验, 7 d 和 14 d 统计污染率。PLB 继代培养中, $1/4\text{MS} + 6\text{-BA } 2.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{NAA } 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{BJ } 200 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} + \text{蔗糖 } 20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} + \text{琼脂 } 8 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} + \text{PN } 70 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} + \text{HY } 1.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 组合可有效控制污染, 浓度较大 (80 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ PN) 时容易导致 PLB 黄化, 难以诱导苗分化。

关键词: 四季兰; 氨苄; 硫代硫酸钠; 酚害; 污染; 组培

中图分类号: S 682.31

文献标识码: A

文章编号: 0513-353X (2011) S-2626-01

收稿日期: 2011 - 08 - 01

基金项目: 江西省科技厅科技支撑项目 (2008BB22000); 2011 大学生创新性实验项目

* 通信作者 (E-mail: 327481955@qq.com; Tel: 15970665575)