

小型黄花石斛兰的组织培养试验

陈继敏, 杨镇明, 吴熙文, 陈旭敏, 罗丽霞

(珠海市农业科学研究中心, 广东 珠海 519075)

摘要:从生产实际出发阐述了小型黄花石斛兰的组培快繁技术, 包括外植体处理、腋芽的启动培养、原球茎的诱导与增殖、丛生芽的诱导培养、生根培养、炼苗移栽等, 以期实现规模化生产。

关键词:石斛兰; 组培快繁; 规模化生产

中图分类号: S682.31

文献标志码: A

文章编号: 1004-874X(2008)12-0064-02

石斛兰属(*Dendrobium*)属名是由 dendro(树)与 bios(生长)二词组成, 是指这类兰花生长于树上之意。全属约有 1 000 种以上, 是兰科植物中种类最多的属之一, 原产于亚洲和大洋洲的热带和亚热带地区。其中, 秋石斛花序顶生、花多、枝长、花形优美, 是目前最流行的切花品种之一。秋石斛的自然花期在秋季, 但是通过人工花期调控等手段可实现其春节开花, 进一步提升了该品种的商业价值^[1]。

本试验所研究的小型黄石斛兰 (*Den. Sharifa Faimah*) 是秋石斛的一种, 从新加坡引进, 花序较短, 花中型、7~8 朵, 花色清新、黄绿色, 唇瓣基部粉红, 散发出淡淡清香。该品种植株易于老化、叶片易脱落、自然分株率低且慢。为使小型黄石斛兰既能脱除病毒, 又能保证母本性状, 实现规模化生产, 我们从生产实际出发研究了其组培快繁技术, 现将结果报道如下。

1 外植体处理

从无病虫害的母株上选择健壮、叶片未展开的幼芽, 用已消毒的刀片切取 4~12 cm, 并将外围叶片剥除, 仅留顶端 0.3 cm 叶鞘。切取的芽体直径约 1.2 cm、高 2.0~5.0 cm, 呈锥螺状, 具顶芽 1 个、腋芽 3~4 个(每层各有 1 个)。将芽体用 0.1% 升汞溶液浸泡 10 min、无菌水冲洗 3~5 次后, 切除叶鞘。然后将顶芽与腋芽分开, 取从下往上数第 2、3 个腋芽作外植体(第 1 个腋芽较难消毒, 第 4 个腋芽易成苗、较难诱导出原球茎), 备用^[2-3]。

2 腋芽的启动培养

将外植体接种于 MS+6-BA1.0 mg/L+NAA0.1

mg/L 的启动培养基上, 约 5 d 后即可启动。其中, MS 基本培养基附加 0.52% 琼脂粉、3% 白糖, 调节 pH 至 5.5(下同)。由于基质越透明, 越有利于污染的筛选, 因此启动培养基不宜添加活性炭。接种后置于温度(26±2)℃、光照强度 1 000 lx(每天连续光照 10 h)的环境下培养。

3 原球茎的诱导与增殖

腋芽接种于启动培养基中 15~20 d 后即可长成直径 0.6 cm 以上的芽锥。将芽锥上尖端切除, 保留生长点, 若芽体直径大于 1 cm, 则将其纵切成对称的两半(即每边均有生长点), 然后将其接种于 MS+6-BA1.0 mg/L+NAA0.1 mg/L+0.05% 活性炭的诱导培养基上。观察发现, 上述材料形成原球茎有以下 3 种方式:(1)各层叶鞘加厚、变透明, 原来连起来的一圈纵裂成不均等的小块, 直接形成浅绿色圆锥状原球茎;(2)各层叶鞘脱分化, 表皮细胞颜色由绿变白, 形成颗粒状的愈伤组织, 然后再分化成绿色原球茎;(3)顶芽和腋芽萌动膨大, 由芽体的表皮细胞经愈伤组织再分化成原球茎^[4]。

不论以何种方式形成的原球茎, 其增殖能力都非常旺盛, 每隔 15~20 d, 在单个原球茎表面又将增殖产生出新一代原球茎群体, 增殖率达 4 倍^[5]。用镊子将石斛兰原球茎分离开, 单个接种于 MS+6-BA1.0 mg/L+NAA0.1 mg/L+0.05% 活性炭的培养基中。当增殖 3 代以后, 将原球茎接种于未添加任何激素的 MS+0.05% 活性炭的增殖培养基中, 这样有利于减少玻璃化现象、降低变异率, 而增殖率并无明显降低。接种后置于温度(26±2)℃、光照强度 1 000 lx(每天连续光照 10 h)的环境下培养。需要注意的是, 原球茎的转接必须及时, 若长时间不转接, 原球茎将继续分化成丛生芽, 此时可切除上部叶片、留下基部重新诱导原球茎, 但增殖率将大大降低。

4 丛生芽的诱导培养

取已增殖的原球茎, 不必切割分离, 直接接种于

收稿日期: 2008-08-14

基金项目: 国家外国专家局引进国外技术、管理人才成果示范项目(20054400007)

作者简介: 陈继敏(1976-), 女, 农艺师

通讯作者: 陈旭敏(1980-), 女, 助理农艺师, E-mail: 421208316@qq.com

MS+花宝1号2 g/L+5%香蕉的培养基中。各原球茎之间应预留足够的生长空间,例如,500 mL的兰花瓶可接种表面积为1 cm²的原球茎15~20块;培养1个月后,原球茎分化成丛生芽,每个原球茎可长出10~15株苗(高1~2 cm、具2~3片叶、个别已长出1~2条1~3 cm的根),即每个兰花瓶可长出150~300株苗。苗与苗之间以类似下胚轴的部分相连,极易进行分株。个别材料在形成丛生芽的同时又可增殖出原球茎,可视生产需要进行取舍。

5 生根培养

将诱导出的丛生芽单个分开,可采用以下2种方法将其接种于生根培养基中:

5.1 一步法

于500 mL兰花瓶中注入MS+花宝1号3 g/L+1.7%苹果+1.7%香蕉+1.7%马铃薯的培养基150 mL,接入20株根茎叶分化较完全、株型整齐的健壮小苗。接种后将瓶苗置于温度(27±2)℃、光照强度1 000~2 000 lx(每天连续光照10 h)、加设水帘风机系统的环境下培养。一步到位定植可避免因个体差异大而导致瓶苗商品价值的下降,培养3~4个月后即可出瓶。

5.2 二步法

于500 mL兰花瓶注入MS+花宝1号2 g/L+1.7%苹果+1.7%香蕉+1.7%马铃薯的培养基100 mL,接入40~44株“一步法”筛选后剩下的无根、细弱小苗。培养1个月后,按20株/瓶再转接于MS+花宝1号3 g/L+1.7%苹果+1.7%香蕉+1.7%马铃薯或MS+花宝2号3 g/L+1.7%苹果+1.7%香蕉+1.7%马铃薯的培养基中,每500 mL兰花瓶注入培养基150 mL。接种后将瓶苗置于温度(27±2)℃、光照强度1 000~2 000 lx(每天连续光照10 h)、加设水帘风机系统的环境下培养,3个月后即可出瓶。“二步法”对初期植入小苗的要求较低,淘汰出变异株后,有根苗和无根苗均可植入,第2次转接时调整同瓶整齐度即可。

相比较而言,以“二步法”的生根效果较好,但该方法步骤多且较繁琐,生产成本低。2种方法瓶苗出瓶后大棚恢复的差异不显著,因此在大规模生产中多选择“一步法”,在材料充足的情况下往往将小苗、弱苗淘

汰。由于石斛兰原球茎细胞全能性很强,不添加激素也可分化发育出正常的根、茎、叶,因此生根培养基可不添加激素。

6 炼苗移栽

生根培养3个月后的石斛兰,大多已长出10条根、5片叶和1个分蘖,叶片表面的角质层也已形成,可有效抵抗低强度的光线照射及减少水分散失。出瓶前不需开盖放置,小苗根部也不需浸泡消毒液,将培养基清除干净即可直接出瓶种植。新购的水苔、穴盘和培养杯用清水冲洗浸泡甩干即可,重复利用的材料必须消毒后方可再用。出瓶后1周内,温室光照强度应控制在1 000 lx以内,必要时可于植株上方1~2 m处加盖1层遮荫网;相对湿度控制在85%以上,每天喷雾3~4次可保证湿度。

以往很多有关石斛兰组织培养的研究大多以探讨最有效的原球茎诱导与增殖、生根壮苗的配方为主,可为规模化生产提供强有力的理论支撑。而本研究的重点在于实际的生产操作,从外植体启动、增殖接种数量、大苗定植等方面进行论述,比较有操作性和可执行性,可供同行参考。从1个腋芽的启动至形成20块大小为5 mm×5 mm×5 mm的原球茎需4个月左右,之后才进入指数增殖阶段。以每个周期(20 d)增殖4倍计,4个月即可分化出1 000瓶原球茎;随后进入生根壮苗阶段,共定植10万株,3~4个月后即可出瓶。因此,1年可培养出石斛兰10万株。本研究的供试品种为小型黄花石斛兰,对于大花型、红花型石斛兰品种,本文提及的方法和培养基配方均可适用。

参考文献:

- [1] 付志惠,李洪林,杨波.广东石斛的组织培养[J].植物生理学通讯,2005,41(4):491.
- [2] 谭云,叶庆生,刘伟.霍山石斛(*Dendrobidium huoshannense*)的组织培养[J].植物学通报,2005,22(1):58-62.
- [3] 罗岚,关仕港,刘建昌,等.秋石斛兰离体快速繁殖研究[J].佛山科学技术学院学报(自然科学版),2004,22(2):69-71.
- [4] 周钟信.石斛(*Dendrobium nobile*)离体再生及其器官发生的解剖学观察[J].天津农学院学报,1997,4(1):11-16.
- [5] 叶秀舜.石斛兰组织培养和细胞学观察[J].园艺学报,1995,22(1):83-87.