

# 春石斛的组织培养和快速繁殖

周辉明 叶 炜 罗庆国

三明市农科所

春石斛是兰科(orchidaceae)石斛属(Dendrobium)多年生草本植物,原种主要分布在亚洲热带地区和亚热带地区,从日本、韩国到中国台湾、中国大陆、泰国越南、菲律宾、马来西亚、印度到澳洲、新西兰尤以泰国最多。目前全世界记载的野生石斛兰原生种约 1500 多种,从低海拔的雨林地带一直到喜马拉雅山脉。我国原产的有 70 多种,主要分布在秦岭以南各省区,以云南省最多,生长在海拔 500-1000m,常附生在树上和岩石上。

春石斛花多,花色鲜艳,豪华灿烂,常作为盆花栽种,春石斛最早在日本和欧美等发达国家很受欢迎。近年来,在我国和其他东南亚国家非常流行,迄今,春石斛的组织培养研究主要集中在丛芽方面而在原球茎方面还未见报道。笔者以茎尖为诱导材料进行春石斛的原球茎诱导、增殖、分化、壮苗和生根试验,获得较好的诱导和增殖效果,为工厂化育苗探索了另一条途径,并为春石斛转基因研究打下坚实的基础。

## 1 材料和方法

1.1 试验材料 春石斛瓶苗由三明市农业科学研究所生物中心提供。

## 1.2 试验方法

1.2.1 培养基的配置:基本培养基由 MS、改良 KC 和 1/2MS 添加蔗糖 20g/L、琼脂粉 5.5g/L 组成。然后添加各种不同质量浓度的生长调节物质和有机添加物,再将培养基 pH

值调为 5.6,分装到 250ml 的广口瓶中,每瓶装 40ml,高压灭菌后备用。

1.2.2 培养条件:接种好的广口瓶放在培养室培养,培养温度为 25℃ 左右,光照强度 1500-2000Lx,光照周期为每日 12h。

## 2 结果和分析

2.1 原球茎诱导 剥取无菌苗的腋芽和茎尖接种在 1/2MS + 6-BA1 + NAA0.8 培养基上,40 天后,腋芽大多数形成丛生芽,极少数诱导出原球茎。茎尖大多数诱导出原球茎。可见,茎尖更容易诱导出原球茎。

进一步以茎尖为外植体在 1/2MS 基本培养基上培养,生长调节剂 6-BA、NAA 的质量浓度分别为 0、0.5、1、2mg/L 进行组合诱导试验。结果发现,单独用 NAA 或 6-BA 都能诱导出原球茎,NAA 的诱导效果比 6-BA 好,6-BA 和 NAA 组合使用效果没有单独使用 NAA 好。

2.2 6-BA、NAA 不同浓度配比对原球茎增殖的影响 对照组的原球茎的增殖倍数最高 3.3,只加 0.5mg/L NAA 激素时,增殖倍数为 3.0,然后才是 6-BA 和 NAA 组合,只加 0.5mg/L 6-BA 细胞分裂素时,增殖倍数最低 1.3。这表明,生长调节剂对春石斛原球茎增殖有抑制作用,6-BA 细胞分裂素的抑制作用比 NAA 激素强。因此,不加任何生长调节剂最适宜原球茎的增殖。

**2.3 原球茎的分化** 将原球茎分别转接到 MS、1/2MS 和改良 KC + 6 - BA0.5 培养基上培养。45 天后,在改良 KC 中原球茎分化最多,其次是 1/2MS。在 MS 培养基中原球茎分化最少,而且部分原球茎褐化,死亡。这表明,无机盐浓度过高,原球茎的分化受到抑制。MS 和 1/2MS 中分化出的小苗质量好,相似。MS 和 1/2MS 中分化的小苗质量比改良 KC 的好。由此可见,1/2MS 作为原球茎分化培养基是适宜的。

**2.4 试管苗的壮苗和生根** 将无根苗接种在壮苗生根培养基上,培养 45 天,记录苗的生长情况。1/2MS + 香蕉泥 100g/L 比 1/2MS 的苗壮,生根率高。1/2MS + NAA2 + 香蕉泥 100g/L 的苗壮根粗,生根率 100%,1/2MS + NAA2 苗弱根细,生根率 85%。由此可知,香蕉泥具有壮苗生根的作用。春石斛的适宜的壮苗生根培养基是 1/2MS + NAA2 + 香蕉泥 100g/L。

### 3 练苗和移栽

待瓶苗长到 3 枚以上叶片、2 - 3 条根时,将试管苗放置在智能温室大棚的苗床上练苗,以增强幼苗对环境的适应能力。一周后,将瓶塞打开,让瓶苗逐步适应外界的光照和温度。3 天后,将组培苗倒入清水中,洗净根部附着的琼脂,以免引起烂根。用甲基拖布津或多菌灵 1000 倍液浸泡 10min,待根部表面水分自然晾干后,用水苔定植于穴盘中。定植后,注意保温、保湿。1 个月后,成活率可达百分之八十左右。

## 4 讨论

**4.1 原球茎** 是一类圆锥状的介于愈伤和短茎之间的兰科植物特有的幼嫩器官,在兰科植物中大多以这种器官进行增殖和分化。将春石斛的腋芽和茎尖接种在合适的诱导培养基上约 30 天左右,茎尖形成淡黄色愈伤组织,继续培养 10 天,淡黄色愈伤组织形成珠状原球茎。原球茎接种在增殖培养基上培养 20 天左右,大多数原球茎变为黄绿色,有的表面被有白色刚毛,极少数分泌褐色物质。10 天后开始出现多个黄绿色瘤状物即新增的原球茎。在分化培养基上原球茎由黄绿色变为绿色,成为具绿色叶原基的假鳞茎原球茎,2 个月后,长成 3 片叶子以上,2 - 3 条根的健壮小苗。春石斛的这一快繁过程与其他兰科植物如蝴蝶兰、大花蕙兰和铁皮石斛等快繁过程类似,尤其是铁皮石斛,这可能是春石斛和铁皮石斛是同科同属,生物学特性最接近的缘故。

**4.2 本试验**以茎尖和腋芽为外植体成功地诱导出春石斛的原球茎,至于春石斛的叶子和根作为外植体能否诱导出原球茎有待于进一步研究。据报道,有机添加物如土豆泥、香蕉泥和椰汁等能促进兰科植物生长。本试验发现,香蕉泥对春石斛的壮苗和生根有促进作用。这可能是因为香蕉泥中含有春石斛生长所需物质,且香蕉泥对酸碱有很强的缓冲能力,能保持培养基 pH 值在 5.6 左右,从而促进春石斛的生长。至于椰汁和土豆泥对春石斛的壮苗生根是否有促进作用也有待于进一步研究。