

春石斛组培快繁技术研究

傅玉兰, 张志平, 姚萍 (安徽农业大学林学与园林学院, 安徽合肥 230036)

摘要 春石斛花朵繁密, 花色艳丽, 花期长, 是东南亚市场上极受欢迎的高档盆花。为了发展春石斛优质种苗的规模化生产, 满足国内市场对春石斛的需求, 以春石斛的茎段为外植体, 以 MS 为基本培养基, 就植物激素对春石斛侧芽诱导、侧芽生长以及继代增殖的影响进行了较全面的研究。结果表明, BA 0.5 mg/L + NAA 0.1 mg/L 的植物激素组合最有利于侧芽的诱导; BA 0.5 mg/L + 2,4-D 0.2 mg/L 植物激素组合对侧芽生长最有利; 而 BA 3.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L 植物激素组合对侧芽继代增殖促进效果最佳。

关键词 春石斛; 植物激素; 侧芽; 继代增殖

中图分类号 Q943.1 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2006)03-0464-02

Study on the Micropropagation of *Dendrobium nobile*

FU Yu-lan et al (Anhui Agricultural University, Hefei, Anhui 230036)

Abstract The flowers of *Dendrobium nobile* are dense, the color is gorgeous and the flowering season is long. It is welcomed in the southeast Asia market. In order to develop the scale production of *Dendrobium nobile* to satisfy the demand of domestic market, we used the stem section as explants and MS medium as primary medium to study the effect of phytohormones on the induction growth and subculture of mixed bud. The results indicated that BA 0.5 mg/L + NAA 0.1 mg/L can improve the induction of the mixed bud, BA 0.5 mg/L + 2,4-D 0.2 mg/L can improve the growth of mixed bud, and BA 3.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L was the best to improve the mixed bud subculture.

Key words *Dendrobium nobile*; Phytohormones; Mixed bud; Enrichment culture

在园艺学上石斛兰的品种一般以其开花期划分为春石斛系和秋石斛系 2 大类。春石斛属落叶温带种, 其花色鲜艳, 豪华灿烂, 常作为盆花栽种。近年来, 春石斛在东南亚一带非常受欢迎, 目前, 我国花卉市场的春石斛品种大多数是日本等国外国种苗公司的 2.3 代种苗^[1], 所以价格昂贵。为了加速国内春石斛工厂化育苗, 以满足市场需求, 笔者对春石斛组培快繁技术进行了研究, 拟建立起高效的植株再生体系。

1 材料与方法

1.1 材料 以春石斛盆苗的茎段为实验材料。

1.2 无菌外植体的获得 剪取春石斛的茎, 剥离叶片后流水冲洗 30 min 以上, 70% 的酒精浸数秒, 用无菌水冲洗 1 次, 再用 0.1% 的升汞液浸 8 min, 最后用无菌水冲洗 8 次, 获得无菌外植体。

1.3 实验方法

1.3.1 实验设计。 分别设计了不同植物激素组合的 2 组实验(表 1), 从不同角度研究植物激素种类及不同浓度对比对春石斛侧芽诱导、侧芽生长及继代增殖的影响。

表 1 培养基中植物激素的种类及其浓度配比(基本培养基为 MS)

实验 1 植物激素及其配比对春石斛侧芽诱导的影响 mg/L	实验 2 植物激素及其配比对春石斛侧芽继代增殖的影响 // mg/L
1-1 BA 0.5 + 2,4-D 0.2	2-1 BA 1.0 + NAA 0.1
1-2 BA 0.5 + 2,4-D 0.3	2-2 BA 2.0 + NAA 0.2
1-3 BA 0.5 + 2,4-D 0.3 + 活性炭 1g/L	2-3 BA 3.0 + NAA 0.2
1-4 KT 3.0 + NAA 0.1	2-4 BA 4.0 + NAA 0.5
1-5 BA 0.5 + NAA 0.1	2-5 KT 0.5 + NAA 0.1
1-6 BA 1.0 + NAA 0.2	2-6 KT 1.0 + NAA 0.1
	2-7 KT 2.0 + NAA 0.2
	2-8 KT 3.0 + NAA 0.2

注: 添加香蕉 100 g/L, 糖 30 g/L, 琼脂 8 g/L, 调整 pH 值 5.4。

1.3.2 接种方法与培养条件。 将经过灭菌处理后的春石斛的茎在无菌培养皿内切成 2~2.5 cm 的茎段, 每一茎段上

有 1 个茎节。将此茎段接种在实验 1 的诱导侧芽的各组培养基中, 每实验组接种 4 瓶, 每瓶接 1 个茎段, 3 次重复。将实验 1 诱导出的生长健壮、叶色正常, 且大小、形态相近的侧芽转接到实验 2 的各组继代增殖培养基中, 每实验组接种 5 瓶, 每瓶 1 株, 3 次重复。接种后, 将三角瓶置于培养室中培养, 培养条件均为: 温度(25±2)℃, 光照为 12 h/d^[2]。

2 结果与分析

2.1 植物激素对侧芽诱导的影响 试验表明(表 2), 1-5 组的侧芽诱导率最高, 为 79%。同时还发现, 培养基中 BA 与 NAA 组合和 BA 与 2,4-D 组合对侧芽诱导效果明显不同, 前者优于后者。其中, 以 1-5 组的组合配比最佳, 即 BA 0.5 mg/L + NAA 0.1 mg/L。1-1 组的诱导率(75%)高于 1-2 组(64%)和 1-3 组(64%)的诱导率, 认为 2,4-D 对侧芽发生有抑制作用, 在一定范围内 2,4-D 浓度越高抑制作用越强, 并可看出活性炭对侧芽发生无明显效果。从第 1-4 组的侧芽诱导效果可以看出, 当使用高浓度的细胞分裂素 KT 时, 反而抑制侧芽发生, 侧芽诱导率为最低, 且诱导出的侧芽表现畸形, 这与其他文献报道相一致, 即植物组织培养的培养基中细胞分裂素过多会引发培养物的畸形现象^[2], 且侧芽诱导速度最慢。所以在春石斛侧芽诱导阶段适宜采用 BA 与 NAA 的组合, 且以 MS + BA 0.5 mg/L + NAA 0.1 mg/L 的浓度配比为最佳。

表 2 植物激素及配比对春石斛侧芽诱导的影响(培养 90 d)

实验组	接种材料数 块	发生侧芽数 块	侧芽诱导率 %	接种至发芽 天数 // d	备注
1-1	12	9	75	21	
1-2	11	7	64	25	
1-3	11	7	64	29	
1-4	11	3	27	32	叶片畸形
1-5	14	11	79	26	
1-6	12	8	67	29	

2.2 植物激素对侧芽生长的影响 实验结果表明(表 3), 1-1、1-2、1-3 组的株高高于 1-4、1-5、1-6 组, 分别为 1.79、1.81、1.65 和 1.13、1.15、1.23 cm, 由此表明, 在侧芽生长阶段 2,4-D 与 BA 组合效果比 NAA 与 BA 组合更好。1-1 组和

作者简介 傅玉兰(1944-), 女, 北京人, 教授, 从事花卉栽培与繁育研究。

收稿日期 2005-11-14

段 2,4-D 与 BA 组合效果比 NAA 与 BA 组合更好。1-1 组和 1-2 组相比,两组虽株高相近,但 1-1 组的长势优于 1-2 组。由此看出,在 BA 浓度相同时,低浓度的 2,4-D 有利于植株生长。1-2 组和 1-3 组相比,2 组的激素成分和浓度均相同,只是 1-3 组添加了活性炭,结果表明活性炭不利于侧芽伸长生长,这与向邓云等的报道相吻合^[3,4]。从 1-4 组数据可以看出,过高浓度的细胞分裂素 KT 极不利于植株生长,表现为株高最低,叶片最少且畸形,所以在侧芽生长阶段不宜采用过高浓度的 KT。1-5 组虽然侧芽展开叶数最多,但株高不足,呈矮化现象。

综上所述,在侧芽生长阶段最宜采用 1-1 组配方,即 MS + BA 0.5 mg/L + 2,4-D 0.2 mg/L。

综合表 2、3 可看出诱导侧芽发生效果最佳的植物激素组合,对侧芽的后期生长却不利,但有一点是相同的,即低浓度的生长素均有利于侧芽的诱导和生长;高浓度的细胞分裂素抑制芽的诱导和生长。

表 3 植物激素及配比对侧芽生长的影响(培养 90 d)

实验组	株高 cm	展开叶数 片	侧芽长势	备注
1-1	1.79	2.73	+++	
1-2	1.81	2.57	++	
1-3	1.65	2.63	++	
1-4	1.13	1.50	-	叶片畸形
1-5	1.15	3.00	-	生理矮化
1-6	1.23	1.89	+	

注:侧芽长势分 4 个等级,+++ 长势良好,展开叶片多且呈深绿色;++ 长势较好,展开叶片较多,叶色深绿;+ 长势一般,展开叶片较少,叶色淡绿;- 长势较差,植株矮化,展开叶片极少或叶片畸形。

2.3 植物激素组合及配比对侧芽继代增殖的影响 由表 4 可以看出,BA 与 NAA 的植物激素组合对促进侧芽继代增殖均有一定的效果,且增殖倍数和 BA/NAA 的配比关系更为密切,例如 2-3 组,当 BA/NAA 比值为 15 倍时,侧芽继代培养月增殖倍数最高,达 2.2 倍;BA/NAA 比值低于 15 倍时,月增殖倍数均低于 2.2 倍。可见,培养基中植物激素种类及其配比是制约侧芽增殖的主要因素。调查数据还证明,对侧芽继代增殖的效果 BA 与 NAA 的组合更优于 KT 与 NAA 的组合。因此,认为春石斛侧芽继代增殖培养中宜采

用 BA 与 NAA 的组合,且以 MS + BA 3.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L 为最适宜配方。

表 4 植物激素组合对春石斛侧芽继代增殖的影响(培养 30 d)

实验组	接种株数 株	培养后株数 株	增殖倍数	备注
2-1	5	8	1.60	
2-2	5	7	1.40	
2-3	5	11	2.20	
2-4	7	13	1.86	
2-5	5	5	1.00	茎基部叶发黄
2-6	5	8	1.60	
2-7	8	8	1.00	
2-8	5	8	1.60	

3 结论与讨论

综合以上各组研究结果可以看出,植物激素及其配比对春石斛侧芽诱导、侧芽生长和继代增殖有明显的影

3.1 茎段侧芽诱导及侧芽生长阶段的最佳配方 对春石斛侧芽诱导阶段,BA 与 NAA 组合的效果比 BA 与 2,4-D 组合的更好;在侧芽生长阶段,BA 与 2,4-D 组合的效果表现最好,在这 2 个阶段均为低浓度的生长素更有利于侧芽的诱导和生长。研究证明,侧芽诱导阶段以 MS + BA 0.5 mg/L + NAA 0.1 mg/L 配方为最佳;侧芽生长阶段则以 MS + BA 0.5 mg/L + 2,4-D 0.2 mg/L 配方为最佳。

3.2 继代增殖阶段的最佳配方 春石斛继代增殖培养阶段,细胞分裂素与生长素适当的比对促进增殖有明显效果。BA 与 NAA 组合的效果较 KT 与 NAA 组合的效果更好。且 BA/NAA 比值为 15 时,对侧芽增殖效果最佳。最佳增殖培养基配方为:MS + BA 3.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L。

对于春石斛试管苗的壮苗、生根及出瓶移栽等环节有待于进一步研究。

参考文献

- 杨增海.园艺植物组织培养[M].北京:农业出版社,1987.52.
- Leshem B, Shalev D P, Izhar S. Cytokinin as an inducer of vitrication in melon [J]. *Ann Bot*, 1988, 61(2): 76-79.
- 向邓云.植物生长调节物质对植物组织培养形态建立的调控[J].涪陵师专学报,2001,17(3): 119-123.
- Nihar R N, Shiba P R, Satyanarayan P. In vitro propagation of three epiphytic orchids, *Cymbidium aloifolium* (L.) Sw., *Dendrobium aphyllum* (Roxb) Fisch and *Dendrobium moschatum* (Buch-Ham) Sw. through thidiazuron-induced high frequency shoot proliferation[J]. *Scientia Horticulturae*, 1997, 71(3): 240-250.

(上接第 444 页)

大大地省工节支,简化了育秧程序,是一种给种植农户带来福音的高新技术。

3.2 拌种包衣是关键环节 把握种子表面湿但不滴水这个包衣最佳状态进行包衣,过湿过干包衣都难成功,包衣后尽快安排播种,不可久置,原因是:①如种子过湿,种子带有水珠,“早育保姆”会吸水膨胀结成块,导致包衣不匀或包不上衣。②如种子过干,“早育保姆”只能部分包上或包不上。例如示范户谢开良因种子过干包不上衣,未经处理就播种,秧苗素质差,抗逆能力弱,出现了部分死苗现象,遇到这种情况,应将种子重新浸湿再行包衣。③如包衣后放置时间过长,早育保姆会吸潮,使包了衣的种子结成块,无法播种。例如示范户张文贵播种前 1 天包衣,播种时种子已如一堆

烂泥,后经农技人员用过筛的干土粪渣反复搓和吸湿处理,才分散成团粒状。

3.3 适龄抛秧更显优势 不同秧龄抛秧对比,以秧龄 20~25 d、叶龄 3.1~3.5 叶、苗高 8~10 cm 的秧苗易拔、易抛、大田长势最好。提倡当天整田当天抛秧,这样有利于秧苗根部扎进泥浆中,促进扎根立苗。

4 技术开发

实施该项技术,还需进一步作好以下两方面技术研究及推广工作:①在水源条件好的区域大力推广“早育保姆”早育小、中龄抛秧技术,指秧龄在 25 d 内、叶龄 3.5 叶内抛秧实施该项技术。②摸索“早育保姆”早育大龄抛、栽秧技术,指秧龄在 30 d 以上抛、栽秧,为水源不便的深水插秧区推广早育大龄抛、栽秧提供可行技术。