

春石斛组织培养的研究

张晓申,王慧瑜,李晓青

(郑州市农林科学研究所 生物技术中心,河南 郑州 450005)

提 要: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,以春石斛茎段为外植体,以 KC 为基本培养基,对春石斛腋芽进行组织培养的研究。结果表明:BA1.0mg/l+NAA0.4mg/l 有利于腋芽的诱导;BA1.5mg/l+NAA0.5mg/l+香蕉泥 100g/l 对腋芽继代增殖最佳;IBA1.0mg/l+NAA0.4mg/l+香蕉泥 100g/l 有利于幼苗生根。

关键词:春石斛;侧芽;继代增殖

石斛是兰科石斛属(Dendrobium)多年生草本植物,原产亚洲和大洋洲的热带和亚热带地区,并与卡特兰,蝴蝶兰,万代兰并列为观赏价值最高的四大观赏兰类。在园艺学上石斛品种一般以开花期划分为春石斛系和秋石斛系两大类。春天开花的春石斛流行于日本、欧美等发达国家,其既可做切花,也可盆栽欣赏,盆花花多,花色鲜艳,雍容大方,华丽优雅,管理粗放,很适合家居栽植和摆设^[1]。春石斛主要采用扦插和高压方法进行繁殖,其繁殖率低,周期长,难以满足规模化生产的需求^[2]。笔者以春石斛的腋芽茎段为材料,研究了组培快繁技术,为工厂化育苗提供了技术依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料与灭菌

试验于 2003 年 1 月~2006 年 12 月,在郑州市农林科学研究所组培室进行,试验所用的材料采自本单位实验场,材料为从南方引进的春石斛红花黄心品种。灭菌方法:采用植株中部萌发的 10cm 小苗为材料,将采集的材料先用自来水冲洗干净后,剥去大叶,放入稀释的洗洁精溶液中浸泡 10min,再用自来水冲洗干净,然后在无菌条件下,剥去小苗上的叶片,露出茎上的腋芽为止,先用 70% 的酒精浸泡 30s,再用 0.1% 的升汞溶液浸泡 5min,最后用无菌水冲洗 4 遍,将带腋芽茎段接入诱导培养基上,诱导腋芽萌发,当腋芽长到 2cm 左右的时候,从原茎段上切下转入增殖培养基使其产生丛生芽,不断切分继代,使其大量增殖,无根苗转入生根培养基培养后,可获得完整植

株,待生根苗长至 5cm 左右时进行炼苗移栽。

1.2 诱导培养基的选择

将外植体接种在 KC 培养基上,细胞分裂素 BA 浓度选择 0.5,1.0,1.5mg/l,NAA 浓度分别选择 0.2,0.4,0.6mg/l/9 个处理组合,每处理 10 瓶,每瓶 4 个外植体,重复 3 次,生长 30d,调查芽苗诱导率,筛选最佳诱导培养基。

1.3 增殖培养基的筛选

以 KC 为基本培养基,设计了 $L_9(3^3)$ 正交试验,细胞分裂素 BA 选择浓度设为 0.5,1.0,1.5mg/l;生长素 NAA 选择 0.1,0.3,0.5mg/l;香蕉泥用量选择 70,100,130g/l。每处理接种 10 瓶,每瓶接种 4 个芽,重复 3 次,生长 30d,调查增殖系数和平均株高。

1.4 生根培养基的筛选

当试管苗生长到 2~3cm 时,可对春石斛进行生根。以 KC 为基本培养基,分别添加不同浓度的 IBA、NAA,具体配比见表 3,并添加 100g/l 的香蕉泥,接种 20d 后,统计生根率及平均生根数量,每处理 10 瓶,每瓶 4 株,重复 3 次。

1.5 移栽

当试管苗长到 5cm 高,生根 4 条左右,根长 2cm 左右时,进行移栽,移栽设计两种基质,南方水草和树皮,对春石斛移栽进行研究。每处理 100 株,重复 3 次,移栽 30d,调查其成活率、平均苗高、平均叶长在移栽 3 个月进行。

1.6 培养条件

所用培养基均加入 2% 白砂糖和 0.6% 的琼脂,pH 值为 5.3。培养室温度为 $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$,光照

收稿日期:2007-04-23

项目来源:河南省重点科技攻关项目(0623010500)“洋兰组织培养及栽培技术研究”。

作者简介:张晓申(1976-),男,河南镇平人,助理研究员,主要研究方向为林果花卉组织培养。

强度 1 500~2 000lx,光照时间 12h/d。

2 结果与分析

2.1 不同激素对春石斛启动培养的影响效果

将经过表面灭菌的外植体,接种在不同的启动培养基上。30d 后调查芽诱导率及生长情况。结果见表 1。从表 1 极差分析可以看出,对春石斛外

植体的诱导分化,细胞分裂素 BA 影响最大,其次是生长素 NAA,最大诱导率为 75.00%,一般接种 7d 后,腋芽开始萌动,接着膨大,15d 时开始迅速生长,30d 时,可以长到 3cm 左右。最适合春石斛诱导的培养基为 KC + BA1.0mg/l + NAA 0.4mg/l。

表 1 不同培养基上春石斛外植体分化情况

处理序号	BA mg/L	NAA mg/L	芽诱导率%
1	0.5	0.2	25.00
2	0.5	0.4	30.00
3	0.5	0.6	17.50
4	1.0	0.2	50.00
5	1.0	0.4	75.00
6	1.0	0.6	62.50
7	1.5	0.2	20.00
8	1.5	0.4	30.00
9	1.5	0.6	15.00
X1	27.50	31.67	
X2	62.50	45.00	
X3	21.67	31.50	
R	40.83	13.50	

2.2 BA、NAA、香蕉泥对春石斛增殖的影响

待不定芽长到 3cm 左右时,切割分株接入增殖培养基中进行增殖培养,继代周期为 25~30d,接种 30d,调查增殖系数和平均株高。三种因素对春石斛的增殖作用,从表 2 的正交试验可以看出,细胞分裂素 BA 对增殖的影响作用最强,生长素

NAA 和香蕉泥对增殖的作用较弱,细胞分裂素 BA 中以 1.5mg/l 最好,生长素 NAA 中以 0.5mg/l 最好,香蕉泥以 100g/l 最好,综合分析,最适合春石斛增殖的培养基为 KC+BA 1.5mg/l + NAA 0.5mg/l + 香蕉泥 100g/l,增殖系数可平均达到 3.60 左右。

表 2 BA、NAA、香蕉泥正交试验结果

处理序号	BA(mg/l)	NAA(mg/l)	香蕉泥(g/l)	增殖系数	平均株高 cm
1	0.5	0.1	70	1.20	2.10
2	0.5	0.3	100	1.40	2.35
3	0.5	0.5	130	1.30	2.60
4	1.0	0.1	100	2.40	2.20
5	1.0	0.3	130	2.30	2.50
6	1.0	0.5	70	2.50	3.20
7	1.5	0.1	130	3.10	2.30
8	1.5	0.3	70	3.20	2.50
9	1.5	0.5	100	3.60	2.70
X1	1.30	2.23	2.30		
X2	2.40	2.30	2.47		
X3	3.30	2.47	2.23		
R	2.00	0.24	0.24		

2.3 生根培养

将继带代培养得到的无根苗,切除基部,接种到生根培养基上。20d 后,调查生根情况。从表 3 可以看出,随着生长素 IBA 浓度的增高,生根率不断递增,同时也随着 NAA 的增大,生根率不断

递增,当 IBA 浓度为 1.0mg/l, NAA 浓度为 0.4mg/l,生根率达到 100%,最适合春石斛生根的培养基为 KC+IBA 1.0mg/l + NAA 0.4mg/l + 香蕉泥 100g/l,平均每株生根 4.20 条左右。

表3 不同激素对比对春石斛生根的影响

IBA(mg/l)	NAA(mg/l)	平均生根数(条)	平均生根率(%)
0.5	0.2	2.10	50.00
0.5	0.4	3.20	62.50
1.0	0.2	3.50	87.50
1.0	0.4	4.20	100.00

2.4 组培苗的移栽

生根苗在生根培养基上生根 20d 后,长出 4 条根,株高 4cm 左右时,进行移栽。移栽前要将水草和树皮先用水浸泡 4h,水草浸泡后要用脱水机脱干再用,栽植后,用 50% 的多菌灵 500 倍进行杀菌。春石斛组培苗不用炼苗可直接栽植在温室

大棚或自动化温室内,生长 30d,调查成活率,发现水草中成活率达到 100%,树皮成活率为 85%,生长 3 个月,调查平均苗高和叶长,发现在水草中生长比在树皮中生长的好,所以,春石斛最佳移栽基质为水草。

表4 不同基质对春石斛组培苗移栽成活及生长的影响

基质	移栽成活率(%)	平均苗高(cm)	平均叶长(cm)
水草	100.00	8.23	5.24
树皮	85.00	7.50	4.23

3 小结

通过对春石斛组织培养的研究,对春石斛萌发的 10cm 高的小苗为材料,并剥取小苗的带腋芽茎段为外植体,进行诱导培养,筛选出春石斛红花黄心的最佳启动诱导培养 KC+BA1.0mg/l+NAA0.4mg/l,最佳增殖培养基 KC+BA1.5

mg/l+NAA0.5mg/l+香蕉泥 100g/l,最佳生根培养基 KC+IBA1.0mg/l+NAA0.4mg/l+香蕉泥 100g/l,移栽基质为水草。

参 考 文 献:

- [1]曹致义,刘国民.实用植物组织培养技术教程[M].兰州,甘肃科学技术出版社,1996.
- [2]谭文澄.观赏植物组织培养技术[M].北京:中国林业出版社,2001.

(上接第 23 页)

表 2 表明,2000~2006 年省水稻区试品种 307 个(次),中抗以上稻瘟病的品种占 56.68%,中感稻瘟病以下的品种占 43.31%,说明多数品种是抗稻瘟病的。中抗以上白叶枯病品种占 31.96%,中感以上白叶枯病品种占 68.08%,说明大多数参试品种是感白叶枯病的。

2.3 近 7a 省水稻品种抗病性变化分析

表 1、2 表明,高抗稻瘟病的品种已由原来的 18.24% 下降至 0%,中感以下稻瘟病的品种由原来的 35.58% 上升到 43.31%,所占比例明显上升。可见,近 7 年来省水稻区试品种抗稻瘟病总体水平明显下降。而高感白叶枯病的比例由原来的

4.53% 上升到 7.82%,上升了 42.07%。应当引起育(引)种工作者及种子管理部门的高度重视。

3 讨论

汉中地处暖温带和亚热带过渡区,有高山丘陵、平坝沟壑,气候特殊而复杂,有利于水稻病害的发生,特别是稻瘟病,流行频率高,对水稻产量影响大,如 2005 年汉中地区金优晚 3 等品种发病严重,发病田块产量损失高达 80% 以上。为确保水稻高产稳产,确保粮食安全,促进我省绿色稻米基地建设,建议省种子管理部门对抗病性不如对照的品种,特别是高感稻瘟病甚至感稻瘟病的品种在审(认)定时予以一票否决。