

石斛兰快繁技术研究

王和飞, 梁柳, 林应耀

(琼州学院生命科学系, 海南 五指山, 572200)

摘要: 利用生长素 (IBA) 和细胞分裂素 (6-BA) 浓度的不同配比, 研究对石斛属 [Dendrobium Sw.] 的石斛兰 [1] (Dendrobium) 外植体愈伤组织的形成、芽苗的增殖以及根的产生的影响。

关键词: 兰花; 石斛兰; 吲哚丁酸; 苄基腺嘌呤

中图分类号: S 682.31 **文献标识码:** A **文章编号:** 1008-6722(2007)02-0032-03

兰花作为一种极具观赏价值的名贵花卉, 近年来成为国内外各科研单位研究的热点。海南具有得天独厚的自然和气候环境, 野生兰花资源丰富, 但是兰花自然生长缓慢, 分株繁殖系数低, 种子繁殖发芽率又差, 利用传统的栽种方法远远不能满足人们的需求^{[2][3][5][6][7]}。目前兰花产业正在海南兴起并日趋蓬勃发展, 本研究利用组织培养方法探讨两种激素对比对石斛属的石斛兰在快速繁殖上的影响, 解决兰花在大规模推广方面的技术难题, 同时可以为在加速兰花等观赏花卉中实现工厂化育苗提供技术平台。

1 材料和方法

1.1 试验材料 采用从三亚采购的热带兰花科石斛属 [Dendrobium Sw.] 的石斛兰, 用其花梗^[2]、茎段进行培养。

1.2 试验方法 将外植体材料用自来水冲洗 30min 后, 在次氯酸钠溶液中浸泡 10-15min, 加入几滴吐温, 边浸泡边搅拌, 然后放入 70% 乙醇中浸泡 10s^[6], 最后在无菌水中清洗 4-5 次, 接种到培养基中。每瓶接种 3 个外植体。

1.3 培养条件 培养室温度为 (25 ± 2) °C, 每天光照 10-12h^[4], 光照度约 1500Lx。

1.4 培养基 以 MS 为基本培养基, 以生长素和细胞分裂素不同组合, 附加蔗糖 3%、琼脂 0.7%, PH5.8。生长素 (吲哚丁酸 - IBA) 的浓度为 0, 0.1, 0.2, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 mg/L; 细胞分裂素 (苄基腺嘌呤 - 6-BA) 浓度为 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 mg/L。本实验从愈伤组织到芽苗分化和增殖、根的生长和壮苗都不需专门的独立培养基, 减少换瓶的工序和感染几率, 有利于生产中节约成本和缩短培养时间。

2 试验结果

2.1 愈伤组织的形成 外植体接种到培养基上培养 2 周后, 有的外植体褐变死亡, 存活的外植体略见膨大形成泛白色愈伤组织, 再经过 3 周天后转化成为绿色原球茎 (如图 1, 记录见表 1)。

表 1 不同培养基对愈伤组织形成的影响

培养基 (浓度单位 mg/L)	接种株数	出现愈伤组织株数 /最早时间 d	愈伤组织长势 mm (长 X 宽 X 高)
6-BA3.0 + IBA (0.1-2.5)	84	42/18	4X4X2 ~3 致密
6-BA4.0 + IBA (0.1-2.5)	84	56/18	5X4X2 ~3 致密
6-BA5.0 + IBA (0.1-2.5)	84	35/18	4X3X1.5 ~2 致密

2.2 芽苗分化和增殖

收稿日期: 2007-02-28

作者简介: 王和飞 (1977-), 男, 海南澄迈人, 琼州学院生命科学系助教, 主要从事生物化学与分子生物学的教学工作和植物组织培养方向的研究。

继续培养6~7周,原球茎快速增殖,同时分化长出丛芽,形成兰花组培中常见的原球茎与丛生芽同时存在的结构[7](如图2-a、b、c),同时也有少部分外植体不经愈伤组织阶段,直接形成丛芽苗。观察结果具体如表2

表2 不同培养基对芽苗形成的影响

培养基 〔浓度单位 mg/L〕	平均苗高 cm/株数	苗长 cm	茎芽长势
IBA0.0+6-BA〔4.0、5.0〕	0.5/14	1.41	植株健壮
IBA0.1+6-BA〔4.0、5.0〕	0.52/13	1.82	植株健壮
IBA0.2+6-BA〔4.0、5.0〕	0.49/17	1.69	植株健壮,较高
IBA0.5+6-BA〔4.0、5.0〕	0.56/14	1.6	植株健壮
IBA1.0+6-BA〔4.0、5.0〕	1.07/16	2.63	植株健壮、最高
IBA1.5+6-BA〔4.0、5.0〕	0.71/18	1.94	植株健壮、较高
IBA2.0+6-BA〔4.0、5.0〕	0.68/15	1.6	植株健壮
IBA2.5+6-BA〔4.0、5.0〕	0.61/16	1.5	植株健壮

2.3 根的形成 选择长势健壮的,茎高2cm以上的茎芽接种到MS+IBA〔0.0-2.5〕mg/L+6-BA0.5mg/L培养基上继续培养,2周天后植株增高、叶片伸长,基部开始出现根芽,6周后观察测量根系生长情况(如图3-a、b)。观察结果具体如表3。

表3 不同培养基对根形成的影响

培养基〔浓度单位 mg/L〕	平均根长 cm/根数	根长势
IBA0.0+6-BA0.5	0.82/24	根细、长,条数最多
IBA0.1+6-BA0.5	0.70/21	根壮、长,条数多
IBA0.2+6-BA0.5	0.61/18	根壮、长,条数多
IBA0.5+6-BA0.5	1.41/22	根壮、长,条数多
IBA1.0+6-BA0.5	1.67/15	根最壮、长,条数多
IBA1.5+6-BA0.5	1.47/9	根壮、长,条数较少
IBA2.0+6-BA0.5	1.50/11	根壮、长,条数较少
IBA2.5+6-BA0.5	0.77/12	根壮、长,条数较少

2.4 壮苗和驯化 继续在原培养基上培养,让根系增长,植株长壮长高到5-7cm高时就可以驯化炼苗,从培养室中移植到室外的装有细纱:木屑=3:2[4][6]的既疏松透气又保水保肥的培养袋中培养。

3 讨论及结论

3.1 对愈伤组织的形成 从表1可以看出,培养基在加有细胞分裂素6-BA3.0mg/L、4.0mg/L、5.0mg/L浓度的情况下,IBA的浓度从0.1-2.5mg/L,对诱导外植体产生形成愈伤组织的效果都很好,都能较早的很好的出现较多、较大块的愈伤组织并很快形成原球茎,并且是IBA/6-BA值越大,愈伤组织形成越好[5]。其他培养基的激素配比也有出现,但是形成的愈伤组织的时间较长,出现的比率也比该组合要小。所以本实验对于诱导石斛兰形成愈伤组织较佳的培养基是MS+6-BA〔3.0-5.0mg/L〕+IBA。

3.2 对芽苗分化和增殖的影响 继续培养,观察对芽苗分化和增殖的培养基,在加有6-BA0.4、5.0mg/L的培养基对芽的分化和增殖比较明显,并且随着IBA从0.0-2.5mg/L都有很好的效果,随着6-BA浓度的减小,对芽的分化和增殖有一定的抑制作用,并且IBA/6-BA值越高抑制越明显。由表2可以看出,对芽的分化和增殖效果比较好的培养基是MS+IBA〔0.5-2.0mg/L〕+6-BA4.0、5.0mg/L,IBA处在一个比较高的水平对芽苗分化有促进作用。

3.3 对壮苗生根的影响 选择生长健壮的芽苗进行继续培养观察,比较发现对壮苗和生根有比较明显优势的是MS+IBA〔0.5-2.0mg/L〕+6-BA0.5mg/L培养基。从表3可以看出,该系列培养基的植株

根系粗壮、发达;其他培养基系列虽然也有根的出现,但生根率均比较低,且根系少而弱。

综合表1和表2,得到一个很好的信息就是对愈伤组织形成有利的培养基对芽苗分化和增殖也有明显作用,因此在石斛兰属的石斛兰的组织培养上,可以将愈伤组织形成和诱导芽苗的增殖一起进行,不需专门的生根培养基,减少换瓶的工序,缩短培养的时间,有利于生产中节约成本。

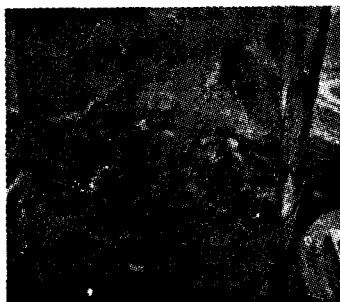


图1 愈伤组织



图2 芽苗的分化



图3 生根和壮苗

参考文献:

- [1] 钟士传. 植物激素对石斛兰组织培养效果的影响[J]. 安徽农业科学, 2005, 33 (4) : 621, 649.
- [2] 张莉, 张明, 高宏秀. 兰花组织培养研究进展[J]. 安徽农业科学, 2005, 33(11) : 2134 - 2135, 2147.
- [3] 陈之林等. 白花独蒜兰的组织培养和快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 2004, 40 (4) : 455.
- [4] 顾伟民, 曹春英等. 蝴蝶兰组培快繁技术的研究[J]. 山东林业科技, 2004, 5: 12 ~ 13.
- [5] 黄萍萍等. 石斛兰组培快繁研究初探[J]. 闽西职业大学学报, 闽西职业大学学报, 2003, 3: 85 ~ 86.
- [6] 王春. 石斛兰组织培养及快繁技术研究[J]. 浙江林业科技, 2002, 22 (2) : 38 ~ 41.
- [7] 郑迎冬等. 大花蕙兰的茎段培养[J]. 仲恺农业技术学院学报, 2000, 13(1) : 19 ~ 22.

Study Quick Propagation of Dendrobium

WANG He-fei , LIANG Liu , LIN Ying-yao

(Department of Life Science , Qiongzhou College , Wuzhishan Hainan 572200 , China)

Abstract: This text showed that in IBA and 6 - BA with different content , study to plants a body outside to harm built - up formation , bud seedling to propagate and the influence with creation of the root to the Dendrobium.

Key words: orchid ; Dendrobium ; indolebutyric acid ; benzyladenine