

铁皮石斛的组织培养与快速繁殖

洪香娇 喻晚之 熊正葵

(江西省南昌市蔬菜科学研究所 330001)

铁皮石斛又名黑节草, 兰科石斛属多年生草本植物, 是名贵的中草药, 有重要的药用价值, 具滋阴清热, 生津益胃, 止咳润肺之功效, 主要分布在亚热带地区, 我国分布在西南和南方沿海各省, 铁皮石斛种子极小, 无胚乳, 自然条件下需与某些真菌共生才能萌发, 很难用实生苗栽培, 而传统的分株、扦插等方式的繁殖率极低, 加上人为地过度采挖, 已濒临灭绝, 铁皮石斛组培技术的研究, 能有效地挽救这一濒临灭绝的珍稀物种。

1 材料与方法

1.1 试验材料

野生未开裂的铁皮石斛果实。

1.2 外植体灭菌

用 75% 酒精棉球仔细擦洗果实表面, 无菌水冲洗 3 次, 再用 0.1% 升汞灭菌 3 分钟, 无菌水漂洗 3 次, 在无菌的滤纸上, 将处理过的果实切开一个口子, 将种子撒播在培养基上培养。

1.3 培养基

1.3.1 种子萌发培养基。(1)MS, (2)1/2 MS。

1.3.2 原球茎增殖培养基。(3)1/2 MS+CM 20%(CM 为椰汁), (4)1/2 MS+6-BA 0.2 mg/L (单位下同)+NAA 0.2+CM 20%, (5)1/2 MS+6-BA 2.0+NAA 0.2+CM 20%, (6)1/2 MS+6-BA 2.0+NAA 0.5+CM 20%, (7)1/2 MS+6-BA 2.0+NAA 0.2+IBA 0.1。

1.3.3 壮苗培养基。(8)MS+NAA 0.2+6-BA 0.1+香蕉泥 20%。

1.3.4 生根培养基。(9)MS+香蕉泥 20%, (10)MS+6-BA 0.1+NAA 1.0+香蕉泥 20%, (11)MS+NAA 0.5+香蕉泥 20%。

1.4 培养条件

上述培养基均加蔗糖 3%、琼脂 0.7%、pH 值 5.8、培养温度 25℃左右、光照 12 小时/天、光照强度 1500~2000lx、湿度 70%。

2 生长与分化情况

2.1 无菌苗的获得

将经过处理后的种子接种到萌发培养基(1)和

(2)上, 先在暗培养箱中培养 2 天, 再转入光照培养, 1 周后种子变得鲜绿, 可见胚长大, 15 天后胚几乎充满整个种子, 呈球形, 30 天后, 种子部分发育成原球茎, 圆球形的原球茎上有尖尖突起的叶原基, 从原球茎的直径上来看, 接种在 1/2 MS 的原球茎比接种在 MS 的原球茎直径大, 因此 1/2 MS 更有利于种子的萌发。

2.2 原球茎的增殖

原球茎分别接种于 (3)、(4)、(5)、(6)、(7) 培养基上, (3) 号培养基 60 天后原球茎增殖速度快, 可叠生于培养基表面 2~3cm 高, 原球茎颜色鲜绿、更亮、直径大。(5)、(6)、(7) 号培养基接种 60 天呈浅黄色水浸状, 停止生长已死亡。(4) 号培养基原球茎的颜色、亮度、直径都不如 (3) 号培养基。说明 (3) 号培养基更有利于原球茎的增殖。

2.3 壮苗与生根

将增殖后的胚状体转到 (8) 中壮苗, 可提高植株的健壮度, 培养 30 天后再转到培养基 (9)、(10)、(11) 中, (9)、(10) 号培养基迅速分化长出具根的小苗, 60 天后形成的丛生苗已具 3 片真叶和 4 条 3~5cm 长的根。(9) 号培养基上的苗根系发达, 苗高可达 4~5cm。(11) 号培养基苗高可达 5~6cm, 但苗基部易产生丛芽, 不利于试管苗的移栽, 所以 (9) 号培养基更有利于生根移栽。

3 试管苗的移栽

铁皮石斛是附生植物, 野生状态在多湿森林中的树上和林下岩石上, 特别是半阴半阳的附有苔藓植物的石灰岩上和树上, 所以驯化栽培时采用地栽方法是不能成活的, 必须采用适合的基质, 模拟野生环境栽培。

移栽前, 先将试管苗练苗 1 周, 出瓶时注意不要伤及根茎部, 用流水洗去根部附着的培养基后, 在阴凉通风处晾根半天, 栽入盛锯木屑和塘基兰石的穴盘中, 或者混合基质 (2 份陶粒 + 1 份腐叶土 + 1 份树皮 + 1 份锯木屑), (下转第 13 页)

时,采用人工方法全部抹去嫩芽,也可以用500~1000mg/kg的多效唑喷洒,控制夏梢抽生。8月上中旬,统一放秋梢,在注意病虫害防治工作的同时,保证秋梢正常生长。结果树夏剪主要是剪去扰乱树形的徒长枝、交叉枝、病虫枝。冬剪主要对结果枝、落果枝进行回缩修剪,防止树冠过快增长和枝条早衰。同时剪去病虫枝、交叉枝、直立枝,对树冠顶部过密的枝条要适当剪去大枝,以开天窗,增加通风透光。

3.2.3 保花保果和疏花疏果。①疏去部分春梢和全部夏梢;②及时施稳果肥;③第1次和第2次生理落果前10天各喷1次50mg/kg“九二〇”+0.3%磷酸二氢钾或有机叶面肥的混合保果药;④谢花期在主干上环割1圈。要及时疏花疏果,疏花要在花蕾期进行。疏果则在第1次、第2次生理落果结束后进行。第1次疏果按留果量3倍数量留果,第2次则按比留果量多1/3的量留果。疏去病虫果、畸形果、发育不好的幼果。

4 抓好病虫害防治是丰产重要措施

柑桔类的病虫害种类较多,介绍几种主要病虫害的为害症状及防治方法。

4.1 疮痂病

主要为害嫩枝叶、幼果。叶片染病开始出现水渍状小斑点,后成蜡黄色。果实受害后常长出许多瘤状突起。防治方法:第1次在春芽萌动1粒米长时,第2次在谢花结束时,各喷1次50%退菌特500倍液或70%甲基托布津800倍液。

4.2 炭疽病

炭疽病主要特征是在多雨高温下,病斑出现红色小点,在干燥条件下呈黑色小点,呈轮纹状。防治方法:在嫩梢期和幼果期各喷药1~2次0.5%等量式波尔多液、50%退菌特500倍液或70%甲基托布津800倍液。

4.3 黄龙病

(上接第9页)锯木屑须经发酵,塘基兰石浸水,这种基质疏松透气,能保持水分,幼苗生长旺盛,分蘖力强,适合作为铁皮石斛的栽培基质。

移栽后的小苗,置于遮阴、通风、高湿的地方,1周内不浇水,以后每半个月叶面喷1次营养液,大气湿度保持在80%~90%,基质见干见湿,诱发气生根的生长,达到生根后萌芽的目的,成活率为80%左右。

主要症状:除了出现黄梢外,识别该病的主要特征是:叶片基部和边缘黄化,出现不规则的黄绿相间的斑驳叶。防治方法:①选择无病苗木,隔离病区种植。②严格防治传病媒介——柑桔木虱,在每次展梢期用药治虫保梢,用氧化乐果1000倍液、蚜虱净或吡虫啉2000倍液喷洒。③发现病树,及时挖除,消灭病源。

4.4 螨类

主要有红蜘蛛和锈壁虱。红蜘蛛为害叶、果、嫩梢,被害叶片失去光泽,呈灰白色。锈壁虱主要为害果实,造成黑皮果。红蜘蛛防治方法:冬季用1°Be的石硫合剂清园。生长季节可用金霸螨、克螨特等杀螨剂轮流喷杀,每隔7~10天1次,连续2~3次。或放养捕食螨进行防治。锈壁虱防治:从每年6月份开始,观察虫口密度,出现锈壁虱为害时,立即喷药防治,使用的药物与防治红蜘蛛的药物一样。

4.5 蚧类

主要有吹绵蚧、盾蚧类等,为害枝条和果实,削弱树势,诱发煤烟病,降低果实的产量和品质。防治方法:冬季用16~20倍液的松脂合剂清园,并剪去虫枝。防治重点掌握在5~6月间第1代若虫盛发期连续喷药2次,使用的药剂有:40%氧化乐果或40%乐斯本800倍液,加入100倍液的机油乳剂,效果更佳,或用蚧杀特1500倍液、速扑杀1500倍液。

4.6 潜叶蛾

俗称绘图虫、鬼画符,以幼虫潜入嫩叶表皮下取食,在叶背面形成白色弯曲的虫道,叶片卷缩,以夏、秋梢受害最为严重。防治方法:抹除零星嫩梢,统一放梢、集中喷药,在夏、秋梢嫩芽1粒米长时开始喷第1次药,隔7~10天再喷1次,每次梢喷药2次,可用克蛾宝或安绿宝1500倍液、敌杀死2000倍液喷杀。(收稿:2008-03-31)

栽苗用具用0.2%多菌灵液消毒30秒,栽培基质用0.1%百菌清液消毒20分钟。

综上所述,通过组织培养方法使其胚萌发后诱导形成更多胚状体,繁殖系数很高,可用于大量繁殖,可解决铁皮石斛规模化种植优质种苗的来源与供应问题,进而挽救铁皮石斛这一濒临灭绝珍稀物种。

(收稿:2008-03-05)