

春石斛兰的茎段繁殖研究

刘会清, 张爱香, 常美花, 刘青, 龚学臣

(河北北方学院 农林科技学院农业科学系 河北 张家口 075131)

摘要: 采用春石斛兰的无菌苗作为研究材料, 对其茎段繁殖进行系统地研究。采用茎段繁殖可以大大提高上部侧芽诱导率。在春石斛兰侧芽诱导中, 较高浓度的无机盐抑制芽的生长; 6-BA 在 0.2~0.8 mg/L 的浓度范围内, 随着浓度的升高, 春石斛兰的侧芽诱导率呈下降趋势; NAA 在 0.5~1 mg/L 的浓度范围内, 春石斛兰的侧芽诱导率呈上升趋势。结果表明: 春石斛兰茎段诱导侧芽的最适培养基为 KC+6-BA 0.2 mg/L+NAA 0.5 mg/L 或 1/2 MS+KT 1.5 mg/L+NAA 1.0 mg/L。添加香蕉汁等有机附加物有利于侧芽的生长。

关键词: 春石斛兰; 茎段繁殖; 侧芽诱导

中图分类号: Q 945.51 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2008)01-0181-03

石斛兰(*Dendrobim nobile* Lindl)又名杜兰、石斛、石兰等, 是兰科植物中最大的属之一, 种类繁多。原产于中国、日本、东南亚及澳大利亚, 为多年生附生落叶或常绿草本植物^[1]。其花形各异, 姿态优美, 花色艳丽多彩, 花多而且花期长, 深受人们喜爱。石斛兰为四大观赏兰之一, 分为春石斛和秋石斛, 春石斛春季开花, 花开在茎节两侧, 秋石斛秋季开花, 花从茎顶开出。春石斛兰是继蝴蝶兰、大花蕙兰之后最有希望的兰花商业品种, 其需求量增长甚快, 目前我国主要依靠从日本、韩国进口, 利用组织培养技术进行规模化生产已迫在眉睫^[2]。

我国从 20 世纪 70 年代中期开始, 对石斛的组织培养进行深入研究, 进展很快。据报道, 目前已在霍山石斛^[3]、金钗石斛^[4]、铁皮石斛^[5]等 9 种石斛属植物^[6,8] 成功诱导出无性繁殖系和离体种子苗, 并已进入规模生产阶段。作为观赏花卉的春、秋石斛的组培研究工作, 自 20 世纪 80 年代开展以来, 取得可喜的进展, 离体种子的发芽成活率在 90% 以上, 秋石斛分生苗已进入工厂化生产。春石斛品种间差异很大, 分生苗的诱导有一定难度, 目前仍处于探索阶段^[9]。

现应用春石斛兰离体种子无菌苗作为材料, 对其茎段繁殖进行系统的研究, 结果总结如下。

1 材料与方法

1.1 材料

春石斛兰离体种子无菌苗由张家口市农科院花卉

研究所提供。

1.2 方法

将健康的春石斛兰无菌苗自两节中间剪开, 每段带一个叶片接种于固体培养基上, 培养基的 pH 值为 5.4, 添加 20 g/L 的蔗糖, 以 7 g/L 的琼脂固化, 培养室温度为 24~26℃, 每天光照 13 h, 光照强度为 3 000 lx。1 个月调查出芽率。

2 结果与分析

2.1 不同培养基对茎段侧芽诱导的影响

将春石斛兰的茎段接种于不含任何激素的 MS、KC、1/2MS 培养基上, 一周后茎段开始膨大, 1 个月调查出芽率(表 1)。

可以看出, 1/2 MS 对侧芽的诱导率最高, 说明较高浓度的无机盐会抑制芽的生长。

表 1 不同的培养基对春石斛兰茎段出芽率的影响

培养基	接种茎段数/个	出芽数/个	出芽率/%
MS	240	156	65
KC	240	172	72
1/2MS	240	193	80

注: 每处理 10 瓶 每瓶接种 8 个茎段 试验重复 3 次, 出芽率为 3 次平均值

2.2 不同的激素比对春石斛兰侧芽诱导率的影响

将春石斛兰的茎段接种于含有不同激素配比的 1/2 MS、KC 培养基上, 1 个月调查出芽率, 结果见表 2, 3, 4 可以看出, 6-BA 在 0.2~0.8 mg/L 的浓度范围内, 无论在 1/2 MS 培养基还是在 KC 培养基, 随着浓度的升高, 春石斛兰的侧芽诱导率呈下降趋势; NAA 在 0.5~1 mg/L 的浓度范围内, 春石斛兰的侧芽诱导率呈上升趋势。

2.3 有机附加物对春石斛兰侧芽生长的影响

将春石斛兰的侧芽接种到表 5 所列培养基上, 1 个半月后观察植株生长情况, 数其叶片数、根数, 测量其株

第一作者简介: 刘会清(1965-), 男, 副教授, 主要从事作物栽培及药用植物组织培养研究。

通讯作者: 龚学臣。

基金项目: 河北省科技厅资助项目(052201122)。

收稿日期: 2007-08-27

高、茎粗(见图 1)。可以看出,在 1/2 MS 培养基中添加香蕉汁,有利于春石斛兰的侧芽生长,无论对其株高、叶片数、根数、茎粗都有所提高。

表 2 6-BA 的浓度在 1/2 MS 培养基中对发芽率的影响

1/2 MS	不同的激素配比		春石斛兰侧芽诱导率/%
	6-BA/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	NAA/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	
1	0.2	0.5	85.2
2	0.4	0.5	80.6
3	0.6	0.5	76.8
4	0.8	0.5	72.2

表 3 6-BA 的浓度在 KC 培养基中对发芽率的影响

1/2 MS	不同的激素配比		春石斛兰侧芽诱导率/%
	6-BA/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	NAA/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	
1	0.2	0.5	80.7
2	0.4	0.5	77.2
3	0.6	0.5	71.8
4	0.8	0.5	64.9

表 4 NAA 的浓度变化对出芽率的影响

1/2 MS	不同的激素配比		春石斛兰侧芽诱导率/%
	6-BA/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	NAA/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	
1	0.50	1.50	63.3
2	0.75	1.50	72.00
3	1.00	1.50	85.2

表 5 有机附加物对春石斛兰侧芽生长的影响

	叶片数/张	株高/cm	茎粗/cm	根数/条
1/2 MS	4.3	2.88	0.29	5.78
1/2 MS+香蕉汁	4.6	3.12	0.31	6.13

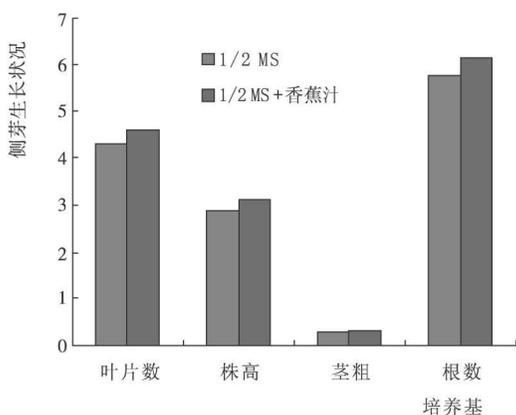


图 1 有机附加物对侧芽生长的影响

2.4 移栽

将组培所得的春石斛兰苗移入温室,练苗 3 d 后移栽。移栽前先洗净组培苗根部培养基,用 50%的多菌灵可湿性粉剂 1 000 倍液浸泡 15 min,然后移入苔藓基质中,其移栽成活率为 72%(春石斛兰移栽成活苗见图 2)。

3 讨论

3.1 在春石斛兰的组织培养过程中,会产生褐化。原因是由于植物离体组织或细胞中的多酚氧化酶被激活,

和酚类物质氧化产生棕黄色的醌类物质,并抑制其他酶的活性,这些酚类物质慢慢扩散到培养基中去,毒害外植体,严重影响离体培养植物组织的生长分化和再生,造成生长不良甚至死亡。因此,在春石斛兰的组织培养过程中,要防止褐化现象的产生,试验通过在培养基中加入 0.5%的活性炭,很好的解决了褐化问题,且发现加活性炭的培养基幼苗生长显著,根系发达,叶色浓绿,这与周华伟^[9]的结果相同。



图 2 春石斛兰移栽成活苗

3.2 春石斛兰组培苗移栽后,成活率偏低,主要原因可能是缺乏共生菌。潘超美等^[11]从野生剑兰和墨兰根中分离、纯化培养收获 4 种菌株,发现其真菌对诱导石斛组织培养物(愈伤组织、拟原球茎以及不定芽)的生长均有不同程度的促进作用。郭顺星等^[12]从野生铁皮石斛和金钗石斛根中分离获得内生真菌 25 种,其中 5 种真菌可促进石斛种子萌发;7 种真菌可与石斛幼苗形成共生关系。因此,分离和筛选促进春石斛生长发育的菌根真菌,可能是提高试管苗移栽成活率,解决北方春石斛生产的关键所在。

3.3 石斛为世界四大热带兰之一,不同种或品种之间,其观赏价值可能有很大区别。离体扩繁技术为石斛种质资源有效的保存和持续利用提供了可能。

参考文献

[1] 刘金. 兰花[M]. 北京: 中国农业出版社, 1998.
 [2] 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, 629.
 [3] 傅玉兰, 谷凤, 胡传明, 等. 霍山石斛组培快繁技术研究[J]. 安徽农业科学, 2004(3):
 [4] 孙廷, 杨玉珍, 胡如善, 等. 金钗石斛的组织培养和快繁技术[J]. 西北农业学报, 2004(4).
 [5] 周俊辉, 钟雪峰, 蔡丁稳. 铁皮石斛的组织培养与快速繁殖研究[J]. 仲恺农业技术学院学报, 2005, 18(1): 23-26.
 [6] 赵天榜, 陈志秀, 陈占宽, 等. 石斛组织培养与栽培技术的研究[J]. 河南农业大学学报, 1994(2): 128-133.
 [7] 张明, 夏鸿西, 朱利泉, 等. 石斛组织培养研究进展[J]. 中国中药杂志, 2000(6): 232-236.

草莓茎尖培养快繁技术研究

徐启红¹, 任平国¹, 张 胜¹, 侯 凯²

(1. 漯河职业技术学院 河南 漯河 462000; 2. 漯河天翼生物工程有限公司 河南 漯河 462000)

摘要:以童子一号草莓为试材,对草莓匍匐茎茎尖进行组织培养,筛选出低成本下草莓诱导分化培养基、继代增殖培养基分别为:MS+BA 0.5 mg/L、MS+BA 0.5 mg/L,瓶外生根最佳生长调节剂浓度为 IBA 800 mg/L,在温度 20~30℃、光强为 4000~10000 lx、湿度为 85%~95%时,组培苗生根性状良好。此方法繁殖的无毒苗,移栽成活率可达 99%,每株成本也下降了 75%。

关键词:草莓;茎尖培养;快繁技术

中图分类号: S 668.404⁺.3 文献标识码: A 文章编号: 1001-0009(2008)01-0183-03

草莓(*Fragaria ananassa* Duch)是蔷薇科草莓属宿根性多年生草本植物,为世界性水果,其栽培面积和产量在世界浆果类水果生产中仅次于葡萄^[1]。草莓具有适应性广、栽培容易、结果早、产量高、收益好等优点,是一种经济价值较高的天然高档食品^[2],除供鲜食外,还可加工成罐头、酱、酒、饮料等制品,并有较高的医疗保

健作用^[3]。因此,全国各地都在积极引种。但由于长期的匍匐茎无性繁殖,易受病毒侵染而使品种退化^[4],产量、质量也下降明显。针对这一情况,漯河职业技术学院和漯河天翼生物工程有限公司积极合作,自 2006 年起开展了草莓试管苗低成本快繁技术的研究,并经申请被批准为 2007 年度河南省教育厅自然科学研究科技攻关项目。该研究是项目子课题之一。

1 材料与方法

1.1 材料

漯河天翼生物工程有限公司提供的童子一号草莓。

1.2 方法

1.2.1 材料预处理 自田间选取健壮的童子一号草莓

第一作者简介:徐启红(1973-),女,河南沈丘人,讲师,在读硕士,主要从事生理、生化方面的研究。

基金项目:河南省教育厅自然科学研究科技攻关资助项目(2007180035)。

收稿日期:2007-09-24

[8] 张建勇,刘涛,袁佐清.石斛属植物组织培养及遗传转化研究进展

[J].安徽农业科学,2007(3):656-670.

[9] 毛碧增,李凤玉,王春,等.春石斛组织培养技术研究[J].浙江大学学报(理学版),2003(5):580-583.

[10] 周华伟,李世君.组织培养中若干因素对石斛兰试管苗生长的影响

[J].浙江农业大学学报,1995,21(6):622-624.

[11] 潘超美,贺红,林群英,等.真菌诱导子对铁皮石斛组培物生长的影响[J].中医药学报,2004,22(1):54-55.

[12] 郭顺星,曹文岑,高微微.铁皮石斛及金钗石斛菌根真菌的分离及其生物活性测定[J].中国中药杂志,2000,25(6):338-341.

Study on Stem Section Reproduction of *Dendrobium nobile* in Vitro

LIU Hui-qing, ZHANG Ai-xiang, CHANG Mei-hua, LIU Qing, GONG Xue-cheng
(Agricultural Department, Hebei North University, Zhangjiakou, Hebei 075131, China)

Abstract: The *Dendrobium nobile* in vitro was used as the research material and carried on studies to the stem section reproduction systematically. The stem section reproduction can greatly enhance the inductivity of the lateral bud. Higher consistency of inorganic salt restraints buds' growth in the induction of the lateral bud of *Dendrobium nobile*. 6-BA changes within 0.2~0.8 mg/L consistency range, with the fact that the consistency rises, the inductivity of the lateral bud appears down trend. NAA consistency range inner in 0.5~1 mg/L, the inductivity of the lateral bud assumes an uptrend. The results indicated that the most suitable culture medium used to induce the lateral bud was KC+6-BA 0.2 mg/L+NAA 0.5 mg/L or 1/2 MS+KT 1.5 mg/L+NAA 1.0 mg/L. Organic additions such as fruit juice of banana were advantageous to lateral buds' growth.

Key words: *Dendrobium Nobile*; Stem section reproduction; The induction of the lateral bud