

不同培养基成分对石斛兰继代和生根的影响

蔺红苹, 房美玲

(湛江师范学院 生命科学与技术学院, 广东 湛江 524048)

摘要: 对石斛兰 (*Dendrobium*) 的继代培养及生根培养进行研究。结果表明: 不同的细胞分裂素和生长素比例对石斛兰继代培养的影响不同, 石斛兰继代培养最适培养基: MS+6-BA 0.5 mg/L+2,4-D 0.5 mg/L+10%椰乳+琼脂 8.0 g/L+蔗糖 30 g/L; 不同的有机添加物组合对石斛兰根的生长也不同, 石斛兰壮苗生根最适培养基: 1/2 MS+IBA 2.0 mg/L+肌醇 2.0 mg/L+水解酪蛋白 1.0×10^3 mg/L+香蕉泥 1.0×10^5 mg/L+琼脂 8.0 g/L+蔗糖 30 g/L。

关键词: 石斛兰; 继代培养; 生长素; 细胞分裂素

中图分类号: S 682.1⁺9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2010)04-0141-03

石斛兰属兰科石斛属(*Dendrobium*), 是观赏价值较高的花卉, 是我国古文献中最早记载的兰科植物之一。其花姿优美, 花色艳丽, 花期较长, 多具芳香气味, 深受人们喜爱, 在国际花卉市场中占有重要地位。当今世界上许多国家都有广泛栽培, 尤以东南亚最盛, 其中以泰国产量最大。另外, 新加坡、马来西亚和我国台湾也有一定数量生产。石斛兰与卡特兰、蝴蝶兰、万带兰并列为观赏价值最高的四大观赏兰类。近年来, 国内花卉市场上石斛兰鲜切花供不应求, 主要缘于其自然繁殖力很

低, 常规繁殖速度太慢, 许多优良品种无法大量繁殖以满足日益增长的市场需求, 利用组织培养技术可以扩大石斛兰生产规模^[1]。该试验旨在探讨石斛兰组培快繁过程中某些因素对其茎芽的增殖分化及生根的影响, 以寻求最适宜的组培快繁条件来扩大生产。

1 材料与方法

1.1 试验材料

材料(石斛兰幼芽)由组培实验室提供。

1.2 试验方法

1.2.1 不同培养基配方^[2-4] ①石斛兰继代培养起始培养基: MS+6-BA 1.0 mg/L+10%椰乳+琼脂 8.0 g/L+蔗糖 30 g/L; ②石斛兰继代培养的的培养基(不同的细胞分裂素和生长素比例)见表 1; ③石斛兰生根培养基配方(不同的有机添加物组合)见表 2。

第一作者简介: 蔺红苹(1979-), 女, 硕士, 实验师, 主要研究方向为组织培养及微生物学。E-mail: yuzaidongji@yahoo.com.cn。
收稿日期: 2009-11-20

PLB Induction and Differentiation of *Phalaenopsis* Tissue Culture Plant

QIAO Yong-xu, ZHANG Yong-ping, CHEN Chao, HAN xing-hui, WANG Xu, LIU Gui-ping
(Department of Life Science, Tangshan Teachers College, Tangshan, Hebei 063000)

Abstract: Using leaves of *Phalaenopsis* tissue culture plant as explants, the effects of various factors on protocorn-like-body (PLB) induction, PLB growth and PLB differentiation were studied. We desined six kinds of medium for PLB induction, two kinds of medium for PLB growth and two kinds of medium for PLB differentiation. There are three kinds of metherds in PLB induction. The results showed that the induction rate of the first metherd was the best, the rate was 33.3%; The high concentration of 6-BA was helpful to PLB induction. 1/2MS+6-BA 10 mg/L+10% coconut milk was the suitable medium for PLB induction; 1/2MS+NAA 1 mg/L+6-BA 2 mg/L was ideal medium for PLB growth. Coconut milk promoted PLB induction.

Key words: *Phalaenopsis* hybrid; leaves; rotocorn-like-body; induce; differentiation

表 1 石斛兰继代培养培养基

组别	培养基配方
1	MS+6-BA 0.5 mg/L+2 4-D 0.5 mg/L+10%椰乳+琼脂 8.0 g/L+蔗糖 30 g/L
2	MS+6-BA 1.0 mg/L+2 4-D 0.5 mg/L+10%椰乳+琼脂 8.0 g/L+蔗糖 30 g/L
3	MS+6-BA 1.5 mg/L+2 4-D 0.5 mg/L+10%椰乳+琼脂 8.0 g/L+蔗糖 30 g/L
4	MS+6-BA 2.0 mg/L+2 4-D 0.5 mg/L+10%椰乳+琼脂 8.0 g/L+蔗糖 30 g/L

表 2 石斛兰生根培养基

组别	培养基配方
1	1/2 MS+IBA 2.0 mg/L+琼脂 8.0 g/L+蔗糖 30 g/L
2	1/2 MS+IBA 2.0 mg/L+肌醇 2.0 mg/L+琼脂 8.0 g/L+蔗糖 30 g/L
3	1/2MS+IBA 2.0 mg/L+水解酪蛋白 1.0×10 ³ mg/L+琼脂 8.0 g/L+蔗糖 30 g/L
4	1/2MS+IBA 2.0 mg/L+香蕉泥 1.0×10 ⁵ mg/L+琼脂 8.0 g/L+蔗糖 30 g/L
5	1/2MS+IBA 2.0 mg/L+水解酪蛋白 1.0×10 ³ mg/L+香蕉泥 1.0×10 ⁵ mg/L+琼脂 8.0 g/L+蔗糖 30 g/L
6	1/2MS+IBA 2.0 mg/L+肌醇 2.0 mg/L+水解酪蛋白 1.0×10 ³ mg/L+香蕉泥 1.0×10 ⁵ mg/L+琼脂 8.0 g/L+蔗糖 30 g/L

1.2.2 接种 选取生长状况良好的石斛兰芽接种到起始培养基上培养, 培养 20 瓶, 每瓶接种 3 个芽体, 培养 20 d, 观察结果。挑选生长状况良好的(大约 1.2 cm)石

斛兰芽分别接种到 4 组不同的石斛兰继代培养基上培养, 每个处理 20 瓶, 每瓶接 1 个芽体, 培养 40 d, 观察结果。40 d 后, 选取生长健壮、高 2 cm 以上的单个芽体分别接入表 2 中 6 个不同处理的改良的 MS(大量元素、微量元素减半)培养基中进行壮苗生根培养。每个处理 20 瓶, 每瓶接 3 个芽体, 培养 60 d, 观察结果。

2 结果与分析

2.1 石斛兰在继代培养起始培养基上的生长情况

图 2 中的石斛兰的芽明显比图 1 的多, 且长势良好, 说明起始培养基较适合石斛兰的继代培养。

2.2 不同激素比例对石斛兰芽生长的影响

由图 3~6 可知, 经培养 40 d 后观察, 可以看到各组的石斛兰长势良好, 比刚接种时粗壮, 芽高度大致在 2.0~2.8 cm 之间。比较 4 组的石斛兰芽发现, 第 4 组的石斛兰长势最好, 芽高平均约为 2.7 cm; 其次为第 3 组和第 2 组, 这 2 组石斛兰芽长势较为接近, 平均高度为 2.3 cm, 但相对而言, 第 3 组的石斛兰长势稍比第 2 组要好一些; 第 1 组的石斛兰最弱, 芽平均高度为 2.0 cm。

由上述结果可知, 在适宜石斛兰生长的生长素和细胞分裂素浓度的范围内, 生长素和细胞分裂素的比值越小, 越有利于芽的生长。



图 1 培养前石斛兰芽



图 2 放在起始培养基中培养 3 周的石斛兰芽



图 3 第 1 组石斛兰生长情况(弱)



图 4 第 2 组石斛兰生长情况(良好)



图 5 第 3 组石斛兰生长情况(良好)



图 6 第 4 组石斛兰生长情况(最好)

2.3 不同培养基成分对石斛兰生根的影响

由表 3 可知, 处理 6 生根效果最佳, 生根率达 100%, 平均根长度也是最长, 长达 2.2 cm, 且植株根系发达粗壮, 其次是处理 5, 生根率为 90%, 平均根长度有 2.0 cm, 其它处理生根率均比较低, 根系少而弱, 根长度也相对小。结果表明, 在相同激素水平条件下, 添加一定量的香蕉泥有助于石斛兰根系的分化, 从而形成完整的石斛兰小植株。由于根的分化形成, 加快了植株对营养的吸收, 促进茎叶的生长, 达到了壮苗的目的。

表 3 不同培养基对瓶苗根系的影响

处理	生根率/ %	根系健壮程度	平均根长度/ cm
1	30.0	细弱	1.0
2	34.5	弱	1.2
3	43.0	中	1.5
4	80.0	中	1.7
5	90.0	粗壮	2.0
6	100	较粗壮	2.2

3 结论与讨论

在石斛兰壮苗生根的培养基中添加激素(IBA)、有机物质(肌醇、水解酪蛋白) 及天然物质(香蕉泥), 对根的形成有一定的促进作用, 其中以香蕉泥的作用最为显著。香蕉泥用量为 100 ~ 200 g/ L, 一般用黄熟的小香蕉, 加入培养基后变为淡褐色, 具较大的 pH 缓冲作用。主要用于兰花的组织培养, 对幼苗发育有促进作用^[9]。椰乳是椰子的液体胚乳。也是使用最多、效果最明显的一种天然复合物。一般使用浓度在 10% ~ 20%, 椰乳对生长有明显的促进作用。

在试验过程中, 发现有些石斛兰芽有褐化现象, 应该在培养基中添加少许活性炭。在培养基中添加活性

碳可以防止植物组织自身的酚类物质排泌和变褐老化。对形态发生和器官形成有良好作用。一般认为, 活性炭主要吸附非极性物质及色素大分子, 可以减少一些有害物质的影响, 但是具体吸附的选择性很差, 温度低时吸附力增强, 温度高是吸附力减弱, 甚至会解吸附^[6]。通常使用浓度为 0.5 ~ 10 g/ L。加入活性炭后使培养基变黑, 对一些植物诱导生根有利。大量活性炭的加入会削弱琼脂的凝固能力, 因此要多加些琼脂。很细的活性炭容易沉淀, 因此通常在琼脂将要凝固时, 需轻轻摇动培养瓶。

接种前, 须对无菌接种室进行严格的消毒灭菌操作。进过多次的试验, 发现在接种前 1 d 晚上, 配制甲醛(70 ~ 80 mL) 和高锰酸钾(30 ~ 40 g) 溶液对无菌室进行熏蒸; 试验前先用 75% 酒精喷洒无菌室, 然后打开无菌室及工作台的紫外灯进行灭菌 30 min 的消毒灭菌效果较好, 污染程度较低。

参考文献

[1] 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.

[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, 649.

[3] 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.

[4] 曾宋君, 程式君. 五种石斛兰的胚培养及其快速繁殖研究[J]. 园艺学报, 1998, 25(1): 75.

[5] 刘振祥, 廖旭辉. 植物组织培养技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2007: 19-21.

[6] 王和飞, 梁柳, 林应耀. 石斛兰快繁技术研究[J]. 琼州大学学报, 2007, 14(2): 32-34.

Effect of Different Medium on *Dendrobium* Subculture and Root

LIN Hong-ping, FANG Mei-ling

(College of Life Sciences and Technology, Zhanjiang Normal University, Zhanjiang Guangdong 524048)

Abstract: The subculture of *Dendrobium* and rooting were studied. The results showed that a different ratio of cytokinin and auxin subculture of *Dendrobium* affected differently. *Dendrobium* optimum subculture medium was MS+6-BA 0.5 mg/ L+2, 4-D 0.5 mg/ L+10% coconut milk agar+8.0 g/ L+ sucrose 30 g/ L; different combination of organic additives on the growth of *Dendrobium* roots were also different. *Dendrobium* seedling optimal rooting medium was 1/2MS+IBA 2.0 mg/ L+Inositol 2.0 mg/ L+CH 1.0×10³ mg/ L+banana mud 1.0×10⁵ mg/ L+Agar 8.0 g/ L+Sucrose 30 g/ L.

Key words: *Dendrobium*; subculture; growth hormone; cytokinin.