

蝴蝶石斛的组培快繁技术研究

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)

摘要:以蝴蝶石斛的嫩茎为外植体研究其组培快繁技术。结果表明:芽的最佳诱导培养基为KC+BA 1.0 mg/L+NAA 0.3 mg/L+100 mL/L的椰乳;小苗的最佳增殖培养基为KC+BA 1.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L+100 mL/L的椰乳,增殖系数达到10.0左右;最佳生根培养基为KC+NAA 0.3 mg/L+100 g/L香蕉泥+1 g/L活性炭,生根率达到98%。移栽基质为水草,移栽成活率达到95%以上。

关键词:蝴蝶石斛;组织培养;快繁

中图分类号:S 682.31 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2007)09-0193-02

石斛是兰科石斛属(*Dendrobium*)多年生草本植物,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^[1]。秋石斛由于其花形似蝴蝶,因此又称为蝴蝶石斛(*D. phalanopsis*)。秋石斛的原种分布在澳大利亚、巴布亚新几内亚及太平洋一些岛屿上,它们的共同特点是均在秋季开花。经过人类的杂交培育,如今秋石斛的品种几乎全年有花,一年四季均有不同的开花品种供应花卉市场^[2]。由于秋石斛养殖管理简单,一般春节开花,繁殖方式以分株繁殖、无菌播种和原球茎增殖,试验以红色蝴蝶石斛的嫩茎为材料,进行丛生芽方式进行增殖,保持了原品种的特征特性,目前未见报道,为秋石斛繁殖增加了一条途径。

1 材料与方法

1.1 试验材料

在蝴蝶石斛播种苗的红色品种开花之后的生长季节,采取新抽生的5~10 cm高的嫩茎为外植体。

1.2 方法

1.2.1 外植体的消毒 将外植体剥去外面叶片,在无菌条件下,先用70%的酒精消毒30 s,再用0.1%的升汞消毒,消毒时间选择1、2、3、4、5 min,切取带腋芽茎段接种到启动培养基上,每瓶接种1个芽,每处理10瓶,重复2次,生长20 d调查成活率。

1.2.2 诱导培养基 诱导培养基的选择进行正交试验,基本培养基选择MS、KC、1/2MS;细胞分裂素BA选择0.5、1.0、1.5 mg/L;生长素NAA选择0.1、0.2、0.3 mg/L。每瓶接1个芽,每处理接种20个芽,重复2

次,生长30 d统计芽的诱导率,并进行极差分析,选择最佳启动培养基。

1.2.3 增殖培养基 以KC为基本培养基,对增殖进行正交试验设计,细胞分裂素BA选择0.5、1.0、1.5 mg/L;生长素NAA选择0.1、0.3、0.5 mg/L;生长素IBA选择0、0.1、0.3 mg/L,每瓶接种5个芽,每处理10瓶,重复2次,生长30 d,调查增殖系数,并进行极差分析。

1.2.4 生根培养基 将丛生芽分切成单芽,接种到以KC为基本培养基,附加不同浓度的生长素上,生长30 d调查平均生根率,平均根长和平均苗高。每处理10瓶,每瓶接种5个芽,重复3次。

1.2.5 移栽 试管苗生长到4 cm左右高,根长3 cm左右,叶片3片以上,即可进行移栽。移栽基质为水草,移栽30 d后,调查移栽成活率。

1.2.6 培养条件 诱导培养基和增殖培养基都附加100 mL/L椰乳,生根培养基附加100 g/L香蕉泥和1 g/L的活性炭,以上培养基均附加白砂糖20 g/L,琼脂6.5 g/L,培养基pH值5.5。光照强度1500 Lx,光照时间12 h/d,培养温度为(25±2)℃。

2 结果与分析

2.1 不同消毒时间对蝴蝶石斛成活率的影响

表1 不同消毒时间对蝴蝶石斛成活率的影响

| 处理组合 | 消毒时间/min | 成活率/%I | 成活率/%II | 成活率/%I+II |
|------|----------|--------|---------|-----------|
| 1 | 1 | 20 | 30 | 25.0 |
| 2 | 2 | 60 | 55 | 57.5 |
| 3 | 3 | 80 | 85 | 87.5 |
| 4 | 4 | 70 | 60 | 65.0 |
| 5 | 5 | 45 | 50 | 47.5 |

对蝴蝶石斛的嫩茎进行消毒杀菌,试验在相同的酒精处理后,在不同的升汞消毒时间下,外植体的成活率不一样。试验重复2次,从表1可以看出,随着升汞消毒时间的延长,芽的成活率不断提高,当升汞消毒3 min时,成活

第一作者简介: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。

基金项目:河南省重点科技攻关资助项目(0623010500)。

收稿日期:2007-04-06

率最高达 87.5%,再随时间增加,成活率呈下降趋势。因此,蝴蝶石斛外植体的升汞最佳消毒时间为 3 min。

2.2 诱导培养基的筛选

对蝴蝶石斛诱导培养基的筛选,采用正交极差分析,基本培养基选用了 3 种,细胞分裂素选用 3 个水平,生长素选用了 3 个水平。从表 2 试验结果可以看出,对蝴蝶石斛芽诱导影响最大的是基本培养基,其次是细胞分裂素 BA,最弱的是生长素 NAA。在观察中发现,带腋芽茎段接入培养基中 10 d 后,芽开始萌动,20 d 后已有 2 个叶片的小苗形成。蝴蝶石斛芽诱导的最佳培养基是 KC+BA 1.0 mg/L+NAA 0.3 mg/L+100 ml/L 的椰乳。

表 2 基本培养基、BA、NAA 对蝴蝶石斛芽诱导的影响

| 处理组合 | 基本培养基 | BA/mg · L ⁻¹ | NAA/mg · L ⁻¹ | 平均诱导率/% |
|------|----------|-------------------------|--------------------------|---------|
| 1 | MS | 0.5 | 0.1 | 53.0 |
| 2 | MS | 1.0 | 0.2 | 76.0 |
| 3 | MS | 1.5 | 0.3 | 56.0 |
| 4 | KC | 0.5 | 0.2 | 74.5 |
| 5 | KC | 1.0 | 0.3 | 81.0 |
| 6 | KC | 1.5 | 0.1 | 58.0 |
| 7 | 1/2MS | 0.5 | 0.3 | 42.0 |
| 8 | 1/2MS | 1.0 | 0.1 | 62.0 |
| 9 | 1/2MS | 1.5 | 0.2 | 48.0 |
| K1 | 185.00 | 169.50 | 163.0 | |
| K2 | 213.50 * | 219.00 * | 198.50 * | |
| K3 | 152.00 | 162.00 | 179.00 | |
| X1 | 61.67 | 56.50 | 54.33 | |
| X2 | 71.17 * | 73.00 * | 66.17 * | |
| X3 | 50.67 | 54.00 | 59.67 | |
| R | 20.50 * | 19.00 | 11.84 | |

2.3 增殖培养基的筛选

表 3 BA、NAA、IBA 对蝴蝶石斛增殖的影响

| 处理组合 | BA/mg · L ⁻¹ | NAA/mg · L ⁻¹ | IBA/mg · L ⁻¹ | 平均增殖系数 |
|------|-------------------------|--------------------------|--------------------------|--------|
| 1 | 0.5 | 0.1 | 0 | 3.7 |
| 2 | 0.5 | 0.3 | 0.1 | 4.1 |
| 3 | 0.5 | 0.5 | 0.3 | 4.7 |
| 4 | 1.0 | 0.1 | 0.1 | 8.0 |
| 5 | 1.0 | 0.3 | 0.3 | 9.2 |
| 6 | 1.0 | 0.5 | 0 | 10.8 |
| 7 | 1.5 | 0.1 | 0.3 | 9.3 |
| 8 | 1.5 | 0.3 | 0 | 8.9 |
| 9 | 1.5 | 0.5 | 0.1 | 7.5 |
| K1 | 12.50 | 21.00 | 23.40 * | |
| K2 | 28.00 * | 22.20 | 19.60 | |
| K3 | 25.70 | 23.00 * | 23.20 | |
| X1 | 4.17 | 7.00 | 7.80 * | |
| X2 | 9.33 * | 7.40 | 6.53 | |
| X3 | 8.57 | 7.67 * | 7.73 | |
| R | 5.16 * | 0.67 | 1.27 | |

增殖系数影响组织培养的速度和质量,试验采用三因素三因子正交试验对蝴蝶石斛的增殖进行研究,基本培养基采用 KC,激素种类选择 BA、NAA、IBA,每种激素选择 3 个水平,共 9 个组合,重复 2 次,接种 30 d 后,调

查增殖系数,取平均值,并进行极差分析。从表 3 调查结果可以看出,对蝴蝶石斛增殖影响最大的因素是 BA,其次是 IBA,最弱为 NAA。当 BA 浓度为 1.0 mg/L 时,增殖系数最大,IBA 选择 0 mg/L 最好,NAA 最适浓度为 0.5 mg/L,增殖系数最高平均达 10.4。因此,蝴蝶石斛增殖的最佳培养基为 KC+BA 1.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L+100 ml/L 的椰乳。

2.4 生根培养基的筛选

当蝴蝶石斛增殖到一定的量时对其进行生根,生根培养基选择 KC 为基本培养基,附加香蕉泥 100 g/L,生长素选择 NAA 和 IBA,分别对蝴蝶石斛的生根进行研究。从表 4 可以看出,NAA 对蝴蝶石斛的生根效果比 IBA 好,并且都随浓度的增大,生根率不断提高,生根条数也增加,平均株高也呈递增趋势。蝴蝶石斛的最佳生根培养基为 KC+NAA 0.3 mg/L+100 g/L 香蕉泥+1 g/L 的活性炭。

表 4 NAA、IBA 对蝴蝶石斛生根的影响

| 处理组合 | NAA /mg · L ⁻¹ | IBA /mg · L ⁻¹ | 平均生根率/% | 平均生根条数/条 | 平均根长/cm | 平均株高/cm |
|------|---------------------------|---------------------------|---------|----------|---------|---------|
| 1 | 0.1 | 0 | 75.5 | 2.5 | 2.3 | 2.2 |
| 2 | 0.3 | 0 | 86.0 | 3.2 | 2.2 | 3.5 |
| 3 | 0.5 | 0 | 98.0 | 3.5 | 2.8 | 3.7 |
| 4 | 0 | 0.1 | 40.5 | 1.8 | 2.0 | 2.1 |
| 5 | 0 | 0.3 | 62.5 | 2.4 | 2.2 | 2.3 |
| 6 | 0 | 0.5 | 68.5 | 2.6 | 2.4 | 2.9 |

2.5 移栽

当蝴蝶石斛的试管苗生根 30 d 后,对蝴蝶石斛试管苗进行驯化移栽,首先将水草用清水浸泡 2 h,然后对其进行脱水甩干,最后用甩干的水草将洗净的蝴蝶石斛试管苗根部裹紧栽入育苗盘内,定期进行浇水,生长 30 d 调查成活率,经调查成活率达到 95%以上。

3 小结

研究对红花蝴蝶石斛的组织培养进行了研究,主要是从生芽的增殖方式,这在秋石斛的组织培养中未见报道,对于非常有观赏价值的蝴蝶石斛采用这种方法进行快速繁殖是很有效的,较好地保持了原物种的特征特性。研究探索出红花蝴蝶石斛的芽的最佳诱导培养基为 KC+BA 1.0 mg/L+NAA 0.3 mg/L+100 ml/L 的椰乳;小苗的最佳增殖培养基为 KC+BA 1.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L+100 ml/L 的椰乳,增殖系数达到 10.0 左右;最佳生根培养基为 KC+NAA 0.3 mg/L+100 g/L 香蕉泥+1 g/L 活性炭,生根率达到 98%。移栽基质为水草,移栽成活率达到 95%以上。

参考文献

[1] 卢思聪. 中国兰与洋兰[M]. 北京: 金盾出版社 1994: 90.
[2] 胡松华. 热带兰花[M]. 北京: 中国林业出版社 2002: 93.