

齿瓣石斛的无菌播种和组织培养

孙永玉*, 李恒安, 闫红, 李昆

中国林业科学研究院资源昆虫研究所, 昆明 650224

Asepsis Sowing and Tissue Culture of *Dendrobium devonianum* Paxt.

SUN Yong-Yu*, LI Heng-An, YAN Hong, LI Kun

Research Institute of Resources Insects, Chinese Academy of Forestry, Kunming 650224, China

1 植物名称 齿瓣石斛(*Dendrobium devonianum* Paxt.), 又名香棍草、大黄草。

2 材料类别 成熟种子。

3 培养条件 无菌播种培养基: (1) MS; (2) 1/2MS; (3) N_6 ; (4) White; (5) KC (Knudson C 培养基); (6) VW (Vacin-Went 培养基)。分化成苗培养基: (7) $N_6+6-BA 0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (单位下同); (8) $N_6+6-BA 1.0$; (9) $1/2N_6+6-BA 0.5$; (10) $1/2N_6+6-BA 1.0$ 。生根壮苗培养基: (11) $N_6+NAA 0.1$; (12) $N_6+NAA 0.5$; (13) $1/2N_6+NAA 0.1$; (14) $1/2N_6+NAA 0.5$ 。各培养基均添加 20% (V/V) 椰乳和 $0.2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 活性炭。培养温度为 $20\sim 25^\circ\text{C}$, 光照强度为 $35\sim 42 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 光照时间为 $10\sim 14 \text{ h}\cdot\text{d}^{-1}$ 。

4 生长与分化情况

4.1 材料的无菌处理 试验用齿瓣石斛蒴果采自云南省龙陵县原始林内授粉后的成熟野生果。蒴果用洗衣粉溶液浸泡 10 min, 然后用流水冲洗 8~10 遍。将果实置于 75% 乙醇溶液中浸 10~15 s, 再于 0.1% 升汞溶液中浸 5~20 min, 最后用无菌水冲洗 5 遍。用消毒滤纸吸干水分, 切开蒴果, 将种子轻抖散落在无菌播种培养基(1)~(6)上, 每种处理播种 30 瓶, 光下培养。

4.2 种子萌发 在上述培养条件下, 播种后 15 d 左右, 种胚逐渐肥大; 播种后 25 d 左右, 种胚进一步肥大, 突破种皮, 露出种胚; 播种后 60~70 d, 胚苗基本长至 1 cm 高。培养基(1)上的萌发率为 90% 左右, 胚苗平均高 1.14 cm; 培养基(2)上的萌发率为 80% 左右, 胚苗高 0.97 cm; 培养基(3)上的萌发率为 90% 左右, 胚苗高 1.22 cm。培养基(4)、(5)和(6)上的萌发率分别为 70%、70% 和 50% 左右, 胚苗高度分别为 0.95、0.91 和 0.84 cm。种子在培养基(1)~(3)上的萌发速度和生长速度均比在(4)~(6)上快。培养基(6)不但萌发率低, 还出现了胚苗叶

片黄化和胚苗不健康等症状。

4.3 分化成苗 将原球茎和小芽的混合体转移至培养基(7)~(10)上, 原球茎迅速萌发成芽, 在芽的基部有新芽产生, 部分芽又能分化出原球茎(图 1)。25~30 d 后培养基(9)和(10)上芽苗颜色翠绿, 平均苗高分别为 1.67 和 1.44 cm; 培养基(7)和(8)上芽苗颜色黄绿, 平均苗高分别为 1.37 和 1.17 cm。

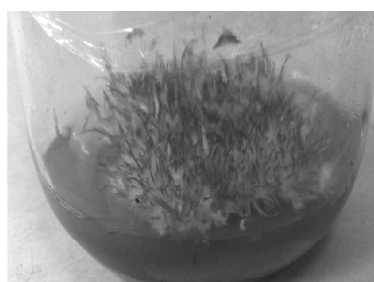


图 1 齿瓣石斛种子的原球茎分化

4.4 壮苗和生根培养 将小苗分成单株后分别转移到培养基(11)~(14)中培养, 30 d 后各培养基生根率差异较大, 分别为 30%、100%、30% 和 81%。其中生根率最高的培养基(12)上平均苗高为 2.04 cm, 平均根长为 1.98 cm, 根毛较多, 适合于组培分化苗的生根壮苗培养(图 2)。

4.5 移栽 将培养瓶置于温室炼苗 10 d 左右, 取出生根苗, 洗净根部的培养基, 用 0.1% 高锰酸钾溶液浸泡 5~10 min。以事先用水浸泡并用 1 000 倍多菌灵溶液消毒的椰丝或甘蔗渣作为种植基质包裹组培苗根部, 注意保持湿度和温度, 置于阴凉通风处, 喷雾保湿。30 d 后成活率达 80% 以上, 此时可移入大棚温室并正常水、肥、药管理(图 3)。

收稿 2009-09-07 修定 2009-09-21

资助 科技部农业成果转化基金项目(2008GB24320419)。

* 通讯作者(E-mail: cafsdrn@163.com; Tel: 0871-3862761)。



图2 齿瓣石斛的生根壮苗培养



图3 齿瓣石斛组培苗的大规模应用

5 意义与进展 齿瓣石斛为兰科(Orchidaceae)石斛属植物, 附生于丛林树上或阴湿岩石上, 多分布于云南、广西等热带和亚热带地区, 性喜湿润、通风良好的环境, 是我国低纬度地区的林下药用植物资源, 具有较高的药用价值。药用成分如石斛多糖、石斛碱类、氨基酸和矿物质元素等与铁皮石斛相接近, 其多糖含量还稍高于铁皮石斛(郑志新等

2008)。近年来由于连年采挖, 自然资源已处于濒危状态。石斛属种子无胚乳, 在野外需与真菌共生才能萌发, 发芽率极低, 因此大多用无菌播种与组培快繁技术(白音等 2006; 张莹等 2007)。齿瓣石斛的组培已有一些报道(丁长春 2004; 王兰新和曾彩云 2006; 李军萍和杨遂民 2008), 但组培分化率和成苗率低, 炼苗一般用碎砖块、碎木炭和蛭石等, 组培成苗周期较长, 一般需 150~200 d, 在生产中未大规模应用。本文使用的培养基、激素、成苗时间和炼苗方法均与已有报道不同。通过椰丝或甘蔗渣包裹组培苗根部等措施, 组培成苗率可达 80% 以上, 组培成苗时间控制在 150 d 以内, 已成功培育出大量的齿瓣石斛试管苗, 在云南的保山和龙陵等齿瓣石斛产区进行了规模化应用。

参考文献

- 白音, 包英华, 王文全, 阎玉凝(2006). 玫瑰石斛的组织培养及快速繁殖. 植物生理学通讯, 42 (5): 903
- 丁长春(2004). 齿瓣石斛的胚培养技术及其快速繁殖研究. 云南农业科技, (6): 20~21
- 李军萍, 杨遂民(2008). 齿瓣石斛种子培养及扩繁技术研究. 河北农业科学, 12 (7): 52~53
- 王兰新, 曾彩云(2006). 齿瓣石斛的胚培养. 林业调查规划, 31 (5): 128~130
- 张莹, 王雁, 李振坚(2007). 报春石斛的组织培养与快速繁殖. 植物生理学通讯, 43 (4): 749~750
- 郑志新, 李昆, 张昌顺, 马姜明(2008). 云南龙陵齿瓣石斛化学成分分析测定及栽培方式选择. 安徽农业科学, 36 (4): 1426~1427