

肿节石斛的无菌播种和快速繁殖

霍丽丽¹, 潘会堂^{1,2}, 张启翔^{1,2,*}

¹北京林业大学园林学院, 北京100083; ²国家花卉工程技术研究中心, 北京100083

Asepsis Sowing and Rapid Propagation of *Dendrobium pendulum* Roxb.

HUO Li-Li¹, PAN Hui-Tang^{1,2}, ZHANG Qi-Xiang^{1,2,*}

¹College of Landscape Architecture, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China; ²National Engineering Research Center for Floriculture, Beijing 100083, China

1 植物名称 肿节石斛 (*Dendrobium pendulum* Roxb.)。

2 材料类别 成熟种子。

3 培养条件 以 N6 和 MS 为基本培养基。种子萌发培养基: (1) N6; (2) MS; (3) 1/2MS; (4) VW (Vacin-Went 培养基); (5) MS+ 椰乳 100 mg·L⁻¹ (单位下同)。增殖与分化成苗培养基: (6) MS+6-BA 0.2+NAA 0.2。生根壮苗培养基: (7) MS+NAA 0.5; (8) MS+ 土豆泥 100。上述培养基均附加 30 g·L⁻¹ 蔗糖和 6 g·L⁻¹ 琼脂, pH 5.5~5.8。培养温度为 (24±2) °C; 光照强度 20~40 μmol·m⁻²·s⁻¹, 光照时间 12 h·d⁻¹。

4 生长与分化情况

4.1 材料的无菌处理 取肿节石斛植株自交授粉后的成熟果荚, 用肥皂水擦洗蒴果表面后用自来水冲洗 30 min, 在超净工作台上, 用无菌蒸馏水冲洗 3 次, 75% 酒精表面灭菌 30 s, 无菌蒸馏水冲洗 3 次后, 再于 5% NaClO 溶液中浸 5~15 min, 最后用无菌蒸馏水冲洗 5 遍。

4.2 种子萌发 用消毒滤纸吸干水分, 切开蒴果, 将种子分散于琼脂水溶液中 (琼脂含量 2 g·L⁻¹), 用移液枪吸取种子接种于萌发培养基 (1)~(5) 上。培养基 (1) 上的种子萌发率最高, 达到 90% 以上; 其次是培养基 (5), 萌发率 85%; 在培养基 (2) 和 (3) 上的萌发率相差不大, 为 80% 左右; 在培养基 (4) 上的种子萌发率最低, 仅有 50%。在正常光照条件下的种子萌发率和经暗培养 1 周后再转入光照培养条件的种子萌发率无明显区别, 活性炭的添加与否对种子萌发也无明显影响, 而添加椰乳则显著提高种子萌发率和原球茎长势, 椰乳对种胚的萌发有促进作用。N6 培养基是本实验所试 5 种培养基中最适种子萌

发培养基。在体视显微镜下观察发现, 接种的种子 1 周后种胚膨大突破种皮, 2 周后种胚呈现绿色原球茎状, 3 周后少量原球茎顶端长出叶原基, 可进行增殖培养, 4 周后 80% 原球茎顶端长出叶原基 (图 1)。

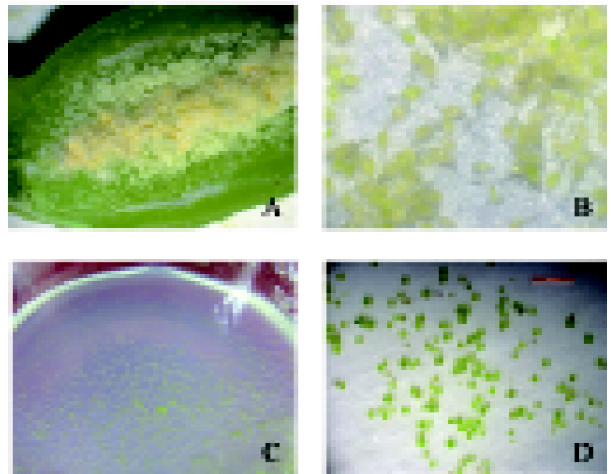


图1 肿节石斛种胚发育过程

A: 蒴果果荚剖开; B: 成熟种子; C: 种胚发育 2 周; D: 种胚发育 4 周。

4.3 原球茎增殖与分化 将上一阶段获得的原球茎接种于液体培养基 (3) 中振荡培养, 2 周后形成大量黄绿色粒状原球茎, 原球茎随着培养时间的延长逐渐变绿, 且大小一致。将原球茎接种于培养基 (6)

收稿 2010-10-20 修定 2010-11-02

资助 国家林业局“948”重大项目 (2006-4-C08) 和国家科技支撑计划课题 (2006BAD01A18)。

* 通讯作者 (E-mail: zqx@bjfu.edu.cn; Tel: 010-62338005)。

中, 增殖率达4~7倍。将增殖后的原球茎直接转入培养基(2)中, 1周后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, 长出新芽, 4周后新芽长出2~3片叶子, 此时约有30%原球茎长出嫩根, 可转入生根壮苗培养基中。

4.4 壮苗及生根培养 将分化后高约1 cm的肿节石斛苗转至培养基(7)中, 1~2周后苗基部长出新根, 每株生根4~5条, 4周后根长为1~2 cm, 此时转入添加有土豆泥的培养基(8)中, 植株生长速度加快, 植株粗壮, 叶片厚实, 根系发达(图2)。



图2 肿节石斛生根壮苗

4.5 炼苗移栽 将培养瓶敞开瓶盖, 炼苗1~2周后, 取出小苗, 洗去根部残留的培养基, 用经过1 000倍多菌灵溶液浸泡处理12 h的水苔包裹小苗基部移入穴盘中, 注意保持温度, 做部分遮荫处理并喷雾保湿, 30 d后成活率达90%以上(图3、4), 之后可正常的水肥管理。

5 意义与进展 肿节石斛为兰科石斛属植物, 属于附生兰, 主要分布于中国云南南部海拔1 000~1 600 m的疏林中树干上, 在印度、缅甸、越南、老挝和



图3 肿节石斛移栽幼苗

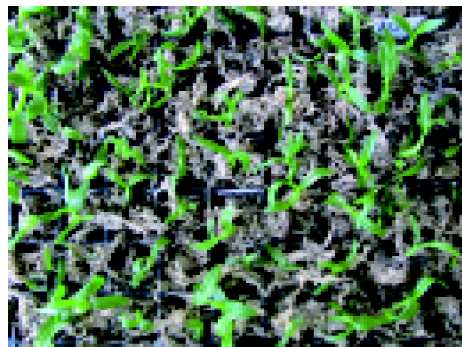


图4 移栽1个月后的肿节石斛幼苗

泰国也有分布。肿节石斛茎节明显肿大, 花大, 唇盘有一大黄色斑块, 花色艳丽, 具有较高的观赏价值, 同时肿节石斛也是春石斛杂交育种的常用原生种。肿节石斛种子小、无胚乳, 自然条件下萌发率极低, 人工栽培中虽然可用常规扦插或分株繁殖, 但繁殖率较低。采用无菌非共生萌发技术实现试管苗大量繁殖, 不仅能够满足市场需求, 而且可以实现石斛属野生资源的保护和利用。肿节石斛的无菌播种和快速繁殖尚未见报道。