

滇桂石斛的离体培养和植株再生

包英华, 白音*, 彭晓云

韶关学院英东生物工程学院, 广东韶关 512005

In vitro Culture and Plant Regeneration of *Dendrobium guangxiense* S. J. Cheng et C. Z. Tang

BAO Ying-Hua, BAI Yin*, PENG Xiao-Yun

Yingdong School of Bioengineering, Shaoguan College, Shaoguan, Guangdong 512005, China

1 植物名称 滇桂石斛(*Dendrobium guangxiense* S. J. Cheng et C. Z. Tang)。

2 材料类别 成熟种胚。

3 培养条件 种胚萌发培养基:(1) MS+NAA 0.5 mg·L⁻¹ (单位下同); (2) MS+NAA 0.5+0.5%~1.0% 酵母提取物。种胚苗增殖培养基:(3) MS+6-BA 0.2+KT 0.2+NAA 0.1; (4) 1/2MS+6-BA 0.3+KT 0.1+NAA 0.05。生根和壮苗培养基:(5) 1/2MS+IBA 0.2~0.4; (6) MS+NAA 1.0+6-BA 0.5+0.05% 活性炭; (7) MS+NAA 2.0+6-BA 1.0+0.05% 活性炭。以上培养基均加入 30 g·L⁻¹ 蔗糖、10 g·L⁻¹ 琼脂粉, pH 5.8, 高压灭菌锅中 121 °C 下灭菌 20 min。培养温度为(26±2) °C, 光照度为 20~40 μmol·m⁻²·s⁻¹, 光照时间 14 h·d⁻¹。

4 生长与分化情况

4.1 无菌种胚苗的培育 先用肥皂水刷洗滇桂石斛蒴果, 流水冲洗干净, 75% 酒精浸泡 1 min, 无菌水冲洗 3 次, 再用 0.1% HgCl₂ 表面消毒 12 min, 无菌水冲洗 6 次后, 吸干表面水分, 用无菌解剖刀将蒴果剖成两半, 把种子散落到种胚萌发培养基(1)和(2)上。培养 50 d 后种子开始萌发, 逐渐形成绿色原球茎; 再过 150 d, 原球茎长成一株或丛生苗。在实验过程中发现, 培养基(2)上原球茎生长情况比培养基(1)的好, 表明酵母提取物对滇桂石斛原球茎生长与分化有促进作用, 这与美花石斛原球茎的生长分化实验结果一致。

4.2 种胚苗的增殖 将无根种胚苗转接培养在培养基(3)和(4)上, 进行种胚苗的增殖培养。种胚苗在培养基(3)和(4)上均可分株增殖, 并长高, 增殖系数可达 7.5。

4.3 生根与壮苗 将长成大约 1 cm 的增殖苗, 分

株后转接在培养基(5)上, 进行生根培养。滇桂石斛在离体培养过程中比较容易生根, 生根率可达 100%。种胚苗生根后, 再继续代在培养基(6)和(7)上, 进行壮苗培养。

4.4 炼苗与移栽 组培苗长出大约 8 片小叶时, 将培养瓶移至室内散射光处炼苗 5~6 d。然后将小苗从培养瓶取出, 轻轻洗净苗根部粘连的培养基, 保持根系不受损伤, 移栽到已铺好基质的炼苗盘上, 基质一般采用木屑和少量苔藓, 上面喷浇 MS 培养液和 0.2% 多菌灵液。炼苗盘放在温度为(26±2) °C, 湿度为 70%~85% 的大棚内, 30 d 后即可移栽到花盆中, 花盆底部铺小石块, 上面铺木屑和树皮块, 并有少量苔藓, 成活率达到 90% 以上。

5 意义与进展 滇桂石斛是兰科石斛属多年生草本植物, 其花淡黄色或黄绿色, 唇瓣上具有紫红色斑块, 是观赏价值很高的野生兰花。滇桂石斛的茎紫色而柔软, 是加工紫皮枫斗的主要原料之一。由于长期过度采收, 野生石斛资源(包括滇桂石斛)急剧减少。近年来, 人们试图用植物组织快繁技术加以解决石斛资源的保护问题, 本文结果对此问题可能有一定的参考价值。与滇桂石斛同属的玫瑰石斛、美花石斛、铁皮石斛、细茎石斛、粉花石斛的组培快繁已有报道。但滇桂石斛组织培养和快速繁殖的报道尚未见。

收稿 2007-12-17 修定 2008-02-18
资助 国家科技基础条件平台工作项目子课题(2005DKA21000)和韶关学院科研项目(2007010)。

* 通讯作者(E-mail: byinghua@126.com; Tel: 0751-8121376)。