

梳唇石斛成熟胚的离体培养和植株再生

孔琼* 袁盛勇 查应洪 袁寒 薛春丽

红河学院生物系, 云南蒙自 661100

In vitro Tissue Culture and Plant Regeneration from Mature Embryos of *Dendrobium strongylanthum* Rchb. f.

KONG Qiong*, YUAN Sheng-Yong, ZHA Ying-Hong, YUAN Han, XUE Chun-Li

Department of Biology, Honghe College, Mengzi, Yunnan 661100, China

1 植物名称 梳唇石斛 (*Dendrobium strongylanthum* Rchb. f.)。

2 材料类别 成熟种子。

3 培养条件 以MS和1/2MS为基本培养基。(1)种子萌发培养基: MS+NAA 0.2 mg·L⁻¹(单位下同)+6-BA 0.4+马铃薯汁200 g·L⁻¹; (2)原球茎诱导增殖培养基: 1/2MS+6-BA 0.5; (3)原球茎分化培养基: 1/2MS+6-BA 0.5+NAA 0.5+椰子汁200 g·L⁻¹; (4)壮苗及生根培养基: 1/2MS+NAA 0.5+香蕉泥100 g·L⁻¹。上述培养基均附加20 g·L⁻¹蔗糖、8 g·L⁻¹琼脂, pH 5.5~5.8。培养温度为(24±2)℃, 光照时间12 h·d⁻¹, 光照度1 000~2 000 lx。

4 生长与分化情况

4.1 无菌种子萌发 摘取成熟而未开裂的梳唇石斛蒴果, 自来水冲洗10 min后, 用毛刷蘸洗衣粉轻轻刷洗蒴果, 再用自来水冲洗20 min。在超净工作台上用75%酒精消毒30 s, 3%次氯酸钠(附加2~3滴吐温80)浸泡20 min, 无菌水冲洗5~6次。把果实放在无菌滤纸上, 用解剖刀切开果实, 将种子均匀抖落在培养基(1)上。接种10 d后, 种子开始萌动、膨大、变绿, 逐渐萌发成圆锥状的原球茎。20~23 d后原球茎可进行增殖培养。当原球茎长到30 d, 其顶端产生叶原基, 如果不转接到增殖培养基上, 也可直接发育成幼叶而形成小苗。

4.2 原球茎诱导增殖培养 把上一阶段获得的原球茎接种于培养基(2)中, 10 d后原球茎开始分化, 在其周围形成大量黄白色粒状原球茎。随着培养时间的延长, 原球茎逐渐变绿。增殖率达6~8倍。

4.3 原球茎分化培养 将增殖后的原球茎转接于培养基(3)中, 7~8 d后原球茎开始产生大量的叶原基, 25 d后可生长发育成具有一叶的小苗, 叶长

0.3~0.5 cm。

4.4 壮苗及生根培养 将分化后高为1~2 cm的梳唇石斛苗转接于培养基(4)上, 6~8 d后苗基部产生1~2条白色根尖, 30 d后根长可达1~2 cm, 且植株粗壮, 生长健壮, 叶片浓绿。诱导生根率达95%。

4.5 炼苗移栽 当组培苗长至8~10 cm高、根长为2~3 cm时, 敞开瓶盖, 炼苗5~6 d, 取出小苗, 洗去根部残留的培养基后移入到珍珠岩和泥炭各半的基质中, 浇透水, 并遮荫保湿, 12~15 d后移植于富含腐殖质的培养土中, 成活率可达85%。

5 意义与进展 梳唇石斛属兰科石斛属, 具有滋阴清热、润肺止咳、养胃生津、明目强身等功效, 是很多中药的配方^[1]。它主要分布于我国云南西南部、印度东北部和缅甸^[2]。1990年, 郑博仁^[3]报道此种植物是云南生产加工吊兰枫斗的原植物之一, 且是加工“龙头凤尾”枫斗的最好石斛属植物。其种子小、无胚乳, 自然条件下萌发率极低, 无性繁殖系数也低。近年来, 药材市场对该种石斛需求量大。本文结果对该种中药的种质资源保护和有效利用提供种苗可能有一定的潜在应用价值。梳唇石斛的组织培养未见报道。

参考文献

- 1 马继光. 神农本草经辑注. 北京: 人民卫生出版社, 1995
- 2 包雪声, 顺庆生, 陈立钻. 中国药用石斛. 上海: 复旦大学出版社, 2001. 99
- 3 郑博仁. 云南石斛属药材现状及其原植物. 中国中药杂志, 1990, 15(1): 9~10

收稿 2004-11-03 修定 2005-04-29

资助 红河学院校级课题(XJ04021)。

*E-mail: kongqiong761127@yahoo.com.cn