

余 乐, 兰芹英, 姜宗庆. 铁皮石斛离体快繁技术[J]. 江苏农业科学, 2014, 42(11): 268-270.

doi: 10.15889/j.issn.1002-1302.2014.11.096

铁皮石斛离体快繁技术

余 乐¹, 兰芹英², 姜宗庆¹

(1. 江苏农牧科技职业学院, 江苏泰州 225300; 2. 中国科学院西双版纳热带植物园, 云南勐腊 6663033)

摘要:以铁皮石斛(*Dendrobium officinale* Kimura et Migo)为研究对象,通过对不同无机盐浓度、不同培养温度以及不同激素浓度配比等影响因子进行研究,确立以种子无菌萌发为途径的铁皮石斛组培快繁体系。结果表明:25℃时,1/2MS+2 mg/L 6-BA+0.1 mg/L NAA 培养基配方最有利于铁皮石斛原球茎的诱导和幼苗分化;1/2MS+0.5 mg/L NAA 培养基配方最适合铁皮石斛幼苗生根,生根率达100%。

关键词:铁皮石斛;种子;离体快繁;优化培养基配方

中图分类号:S567.23+9.04 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2014)11-0268-02

铁皮石斛(*Dendrobium officinale* Kimura et Migo)为兰科(Orchidaceae)石斛属(*Dendrobium*)多年生附生型草本植物,别称黑节草、铁皮兰,是我国特有的名贵药材^[1-3]。此外,铁皮石斛亦有“救命仙草”“寸金草”之称^[4],《道藏》将其誉为“中华九大仙草之首”。近年来,由于人们对石斛生存环境的过度破坏,野生石斛长期处于被滥采滥挖的状态;加上石斛自然繁殖困难,种子萌发率低,而传统繁殖又较为缓慢,现在已经很难发现野生铁皮石斛的踪迹^[5-10],因而药用石斛市场供需矛盾也就日益凸显出来^[11-13]。本研究以铁皮石斛成熟种子为外植体,通过对不同无机盐浓度、不同培养温度以及不同激素浓度配比等问题的探讨,以期建立铁皮石斛离体快繁技术体系,从而为铁皮石斛工厂化生产提供理论依据与技术指导,对野生石斛的种质资源保护也具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验用铁皮石斛成熟种子由泰州森禾花卉园艺有限公司花木基地提供。

1.2 试验方法

1.2.1 种子无菌萌发 (1)培养基种类对种子萌发的影响试验:设KC、1/2MS、1/4MS、MS等4种培养基,均添加2%蔗糖、0.6%琼脂、20%马铃薯汁,调节pH值为5.6~5.8,培养温度为25℃,光照度2 000 lx,光照时间12 h/d,环境湿度60%~70%。(2)培养温度对种子萌发的影响试验:设15~30℃和25/30℃变温处理,培养基配方为1/2MS+2%蔗糖+0.6%琼脂+20%马铃薯汁,pH值5.6~5.8,培养温度为(25±1)℃,光照度为2 000 lx,光照时间为12 h/d,环境湿度60%~70%。12瓶为1组,每组3个重复,30 d为1个周期,

观察并统计种子萌发、原球茎的生长情况,选出最适宜铁皮石斛种子无菌萌发的基础培养基。

1.2.2 原球茎增殖与分化 研究不同激素浓度配比对铁皮石斛原球茎增殖与分化的影响,培养基配方为:MS+1~3 mg/L 6-BA+0.1~0.5 mg/L NAA+2%蔗糖+0.6%琼脂+20%马铃薯汁。调节pH值至5.6~5.8,放置于(25±1)℃、光照度2 000 lx,光照时间12 h/d、环境湿度60%~70%的条件下培养。12瓶为1组,每组3个重复,60 d为1个周期,观察并统计原球茎增殖与分化情况,从中选出最适宜铁皮石斛原球茎增殖与分化的培养基。

1.2.3 幼苗壮苗生根培养 将生长良好的铁皮石斛组培苗接入配方为MS+0.1~1.0 mg/L NAA+2%蔗糖+0.6%琼脂+20%马铃薯汁的培养基中。调节pH值为5.6~5.8,放置于(25±1)℃、光照度2 000 lx、光照时间12 h/d、环境湿度60%~70%的条件下培养。12瓶为1组,每组3个重复,60 d为1个周期,观察并统计铁皮石斛幼苗壮苗的生根情况,筛选出适合铁皮石斛幼苗壮苗生根培养的培养基。

1.2.4 炼苗移栽 将生长良好、根系发达的铁皮石斛组培苗于常温下炼苗3~5 d后移栽至日光温室中。培养温度为(23±2)℃,环境湿度70%~80%。栽培基质为泥炭土、碎树皮,栽培容器为无纺布袋、塑料花盆。以50株苗为1组,每组3个重复,60 d为1个周期,筛选出适合铁皮石斛组培苗的栽培环境。

2 结果与分析

2.1 种子无菌萌发

2.1.1 基本培养基的筛选 由表1可以看出,铁皮石斛种子在4种基本培养基中均能萌发,但原球茎诱导效果存在差异。以1/2MS最好,1/4MS次之,MS的诱导效果最差;铁皮石斛种子在1/2MS培养基上的萌发时间较短,且萌发整齐,原球茎诱导率高达91.1%。实际观察发现,1/2MS培养基上的原球茎呈鲜绿色,且粒大。综合考虑原球茎的诱导率和生长势,1/2MS培养基是最适合铁皮石斛种子无菌萌发的基础培养基。

2.1.2 温度对种子萌发的影响 由表2可以看出,在15℃培养30 d后,铁皮石斛种子没有发生变化;在20℃条件下培

收稿日期:2014-05-08

基金项目:江苏农牧科技职业学院科研课题(编号:YB1212)。

作者简介:余 乐(1982—),男,湖南洪江人,硕士,主要从事兰花离体快繁技术研究。E-mail: yule19821106@163.com。

通信作者:姜宗庆,博士,副教授,主要从事园艺作物设施栽培方面的研究。E-mail: 19870869@qq.com。

表 1 不同培养基对铁皮石斛种子萌发的影响

培养基种类	接种数 (瓶)	原球茎诱导时间 (d)	原球茎诱导率 (%)
KC	12	19~30	74.7
1/2MS	12	14~19	91.1
1/4MS	12	17~23	80.3
MS	12	17~30	55.6

表 2 不同温度对铁皮石斛种子萌发的影响

温度 (℃)	接种数 (瓶)	原球茎诱导时间 (d)	原球茎诱导率 (%)	原球茎诱导情况
15	12	—	—	不萌发
20	12	20~30	53.1	萌发良好,原球茎嫩绿色,粒小
25	12	14~19	91.1	萌发整齐,原球茎呈绿色,粒大
30	12	14~21	73.1	多数萌发,原球茎嫩绿色,粒小
25/30	12	16~28	80.7	萌发良好,原球茎嫩绿色,粒大

养的种子,原球茎体积较小,呈嫩绿色,诱导时间比 25℃、30℃ 和 25/30℃ 变温培养条件的长;25℃ 条件下的种子萌

发整齐一致,原球茎呈绿色,且粒大。综合分析可知,25℃ 较适合铁皮石斛种子的无菌萌发。

2.2 原球茎增殖与分化

植物生长调节剂是培养基中的关键物质,在铁皮石斛组培快繁过程中作用明显。将种子萌发后诱导出的原球茎接入培养基中,60 d 后观察统计。表 3 结果表明,即使不添加任何激素,原球茎也能增殖,但增殖系数最低,增殖情况最差;适当浓度的激素配比有利于原球茎的增殖,以添加 1.0 mg/L 6-BA + 0.1 mg/L NAA 激素浓度组合的增殖效果最好,增殖系数达到 10.2,原球茎呈绿色,簇生,增殖趋势明显。

将已增殖的原球茎接入到诱导分化的培养基中,60 d 后观察。表 3 结果表明,以添加 2.0 mg/L 6-BA + 0.1 mg/L NAA 激素浓度组合的分化效果最好,分化出的幼苗已有细根,且仍有分化趋势,分化率可达 80.5%。

综合表 3 试验结果可知,0.1 mg/L NAA 对原球茎增殖的效果较好,当浓度升高到 0.5 mg/L 时,增殖效果会受到抑制;2.0 mg/L 6-BA 最有利于原球茎分化,当浓度升高或降低时,原球茎分化效果均受到抑制。

表 3 不同激素配比对铁皮石斛原球茎增殖与分化的影响

激素浓度与配比	增殖系数	增殖情况	分化率(%)	分化情况
0.0 mg/L 6-BA + 0.0 mg/L NAA	2.6	嫩绿色,松散,增殖少	13.1	苗小,少有细根
1.0 mg/L 6-BA + 0.1 mg/L NAA	10.2	绿色,簇生,仍有增殖趋势	71.7	大多数分化,增殖力强
1.0 mg/L 6-BA + 0.3 mg/L NAA	8.2	绿色,簇生,增殖较多	64.5	多数分化,苗有细根
1.0 mg/L 6-BA + 0.5 mg/L NAA	4.1	黄绿色,较松散,增殖少	57.3	部分分化,苗有细根
2.0 mg/L 6-BA + 0.1 mg/L NAA	8.7	绿色,簇生,增殖较多	80.5	仍在分化,苗有细根
2.0 mg/L 6-BA + 0.3 mg/L NAA	7.5	绿色,簇生,增殖较多	73.1	大多数分化,仍有增殖
2.0 mg/L 6-BA + 0.5 mg/L NAA	4.3	黄绿色,较松散,增殖少	60.2	部分分化,苗有细根
3.0 mg/L 6-BA + 0.1 mg/L NAA	6.7	绿色,簇生,增殖较多	75.0	大多数分化,少有增殖
3.0 mg/L 6-BA + 0.3 mg/L NAA	5.1	绿色,较松散,增殖较少	61.5	多数分化,苗有细根
3.0 mg/L 6-BA + 0.5 mg/L NAA	4.0	黄绿色,增殖少,有白化苗	47.1	部分分化,苗有细根

2.3 试管苗生根培养

由表 4 可以看出,添加不同浓度 NAA 对铁皮石斛试管苗生根影响较大:在不添加 NAA 的情况下,铁皮石斛苗生根率仅为 30.5%,平均根数 2.6 条,平均根长 1.9 cm,铁皮石斛苗长势一般;当 NAA 浓度为 0.5 mg/L 时,生根效果最好,生根率为 100%,平均根数 6.6 条,平均根长 4.9 cm,根系粗壮,根上伴有少许白色刚毛,苗长势快。总的结果表明:0.5 mg/L NAA 的生根效果要优于 0.1 mg/L 和 1.0 mg/L NAA 这 2 个处理,可见适当浓度的 NAA 有利于铁皮石斛苗的生根。

表 4 不同浓度 NAA 对铁皮石斛试管苗生根的影响

NAA 处理浓度 (mg/L)	接种数 (瓶)	平均根数 (条)	平均根长 (cm)	生根率 (%)
0.0	12	2.6	1.9	30.5
0.1	12	5.3	4.1	91.0
0.5	12	6.6	4.9	100.0
1.0	12	4.7	3.8	89.6

2.4 炼苗移栽

铁皮石斛属附生兰,根为气生根,对生境要求比较苛刻,因此栽培基质及栽培容器的选择对移栽成活与否至关重要。由表 5 可以看出,碎树皮 + 无纺布袋组合的试管苗移栽成活率最高,为 91.0%;其次为碎树皮 + 塑料花盆组合,成活率为 77.6%;而泥炭土 + 塑料花盆组合效果最差,成活率仅为

8.9%,且实际观察多有烂根现象。因此试验中较为理想的组合为碎树皮 + 无纺布袋,究其原因,是以碎树皮为基质、无纺布袋作为栽培容器时,通气且排水性良好,不会导致铁皮石斛烂根,因此生长状态最佳。

表 5 基质及栽培容器对铁皮石斛组培苗成活率的影响

基质	栽培容器	每瓶株数 (株/瓶)	成活率 (%)
碎树皮	无纺布袋	50	91.0
碎树皮	塑料花盆	50	77.6
泥炭土	无纺布袋	50	15.0
泥炭土	塑料花盆	50	8.9

3 讨论

铁皮石斛种子极为细小,蒴果内种子数以万计,但其种子多为败育,需与特定的真菌共生才能出芽,萌发率极低,一般低于 5%^[4]。研究表明:25℃ 是铁皮石斛的最适培养温度,最适合种子无菌萌发的培养基为 1/2MS 基础培养基;铁皮石斛原球茎诱导和幼苗分化的最适激素组合是 1/2MS + 2 mg/L 6-BA + 0.1 mg/L NAA,增殖系数为 8.7,分化率可达 80.5%;1/2MS + 0.5 mg/L NAA 培养基对铁皮石斛幼苗生根效果最好,根系发达,苗长势快,生根率达 100%;铁皮石斛苗

朱昌叁,陈 荣,黎素平,等. 截叶栝楼种子检验及种子萌发特性的研究 [J]. 江苏农业科学,2014,42(11):270-272.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2014.11.097

截叶栝楼种子检验及种子萌发特性的研究

朱昌叁,陈 荣,黎素平,安家成

(广西生态工程职业技术学院 广西柳州 545004)

摘要:截叶栝楼(*Trichosanthes truncata* C. B. Clarke.) 在华南地区为栝楼的习用品,而在广西靖西、德保、那坡等县为当地特色畅销蔬菜,采集幼嫩芽苗食用,具有较好的开发利用前景。建立截叶栝楼的种子质量标准 and 解决种子萌发问题是其规模化种植的先决条件,为此在本试验中笔者对截叶栝楼的种子进行了品质检验,并通过测定种子萌发过程中吸水率、发芽率、呼吸强度等指标,探讨了外种皮对截叶栝楼种子萌发的影响。试验结果表明,外种皮的机械阻碍是影响截叶栝楼种子萌发的主要因素,不但影响吸水率、呼吸强度,此外,机械性阻碍作用是引起发芽率、发芽势下降的主因;隔年陈种发芽率、发芽势均有下降。截叶栝楼优质种子质量标准为籽粒饱满,大小均匀,且发芽率 $\geq 95\%$,发芽势 $\geq 85\%$,千粒质量 ≥ 450 g,种子净度 $\geq 96\%$,含水量 $\leq 10.5\%$ 。

关键词:截叶栝楼;种子;吸水率;呼吸强度;发芽率;发芽势

中图分类号:S567.23+9.01 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2014)11-0270-03

截叶栝楼(*Trichosanthes truncata* C. B. Clarke.) 为葫芦科栝楼属多年生藤状草本植物,别称大子栝楼、广西大栝楼、大栝楼,在广西等华南地区习惯替代栝楼入药^[1]。据报道,栝楼属植物的药用价值很高,多具有润肺止咳、清热化痰之功效,而截叶栝楼还含有丰富的有机硒等微量元素和天花粉蛋白等,营养丰富^[2-3]。此外,截叶栝楼具有扩张冠状动脉、增加血流量、减慢心率、提高动物耐缺氧能力、抗急性心肌梗死和抑制血小板聚集等作用,用于心脑血管疾病的治疗,入

药时药理作用与栝楼相近,但具有毒性作用较栝楼低的优点^[4]。截叶栝楼除作为栝楼的习用品入药使用外,其籽粒还可炒制食用,在广西百色的靖西、德保、那坡等县,当地居民还有在春夏季采集野生截叶栝楼细嫩芽苗作为瓜苗菜食用的传统,在靖西县还有少量农户驯化栽培,春夏秋冬供应县城菜市场,为具有当地特色的畅销蔬菜,将其规模化栽培种植可作为农业产业结构调整的重要选项之一。

种子种苗是农业生产最基本的生产资料,获得优良的种子种苗是提高作物产量和质量的前提条件,种植前判别种子的优劣是保障种植后能否获得稳产、高产的关键。就目前截叶栝楼瓜苗菜的生产实践来看,采摘野生资源为主,供应量少且时间不长。已有少量当地农户零星栽培生产,延长了供应时间,但大田育苗及栽培时存在出芽不整齐、发芽率低、苗长势弱等问题。因此,开展截叶栝楼种子检验及萌发特性方面的研究,可以解决生产中出现的实际问题,将为该特色蔬菜资

收稿日期:2014-02-10

基金项目:广西“十二五”林业科技项目(编号:桂林科字[2012]第1号)。

作者简介:朱昌叁(1975—),男,广西岑溪人,硕士,高级工程师,从事植物生物技术研究。E-mail:17889874@qq.com。

通信作者:安家成,硕士,教授,从事植物分类与应用研究。E-mail:502553968@qq.com。

移栽宜用碎树皮作为基质,更接近其原生境;为确保铁皮石斛不烂根,以无纺布袋作为栽培容器,通气排水好,铁皮石斛苗生长健壮。铁皮石斛离体快繁技术体系的建立可以有效缓解石斛市场供需矛盾,为铁皮石斛种质资源保护与可持续利用提供了依据。

参考文献:

- [1] 吴 菊,严中琪,杨 飞,等. 铁皮石斛组培快繁关键技术研究 [J]. 浙江农业科学,2014(4):492-497.
- [2] 吴慧凤,宋希强,刘红霞. 铁皮石斛种子的室内共生萌发 [J]. 生态学报,2012,32(8):2491-2497.
- [3] 杨明志,顺庆生,中华石斛丛书编辑部. 中国药用石斛标准研究与应用 [M]. 成都:四川科学技术出版社,2012:3-15.
- [4] 张志勇. 铁皮石斛人工杂交育种快繁技术 [J]. 福建农业科技,2011,6(6):88-90.
- [5] 王亚妮,王丽琨,苗宗保,等. 兰科石斛属植物菌根真菌研究进展 [J]. 热带亚热带植物学报,2013,21(3):281-288.
- [6] 孙江山,张传博,乙 引,等. 石斛属植物内生真菌研究进展 [J]. 江苏农业科学,2012,40(6):348-351.
- [7] 蒙 平,张向军,蒋慧萍,等. 铁皮石斛组培苗规模化驯化技术 [J]. 农技服务,2009,26(1):120-122.
- [8] 邹 娜,喻苏琴,王春玲,等. 铁皮石斛组织培养及试管开花研究 [J]. 江苏农业科学,2013,41(12):42-44.
- [9] 徐忠传,倪歆晨,蔡国超,等. 不同光质条件下磁场处理对铁皮石斛原球茎生长的影响 [J]. 江苏农业科学,2013,41(12):254-256.
- [10] 潘 梅,吕德任,姜殿强,等. 铁皮石斛袋式组培快繁技术研究 [J]. 江苏农业科学,2013,41(10):37-40.
- [11] 何俊平,涂小云. 不同培养基配方对铁皮石斛生根培养的影响 [J]. 江苏农业科学,2013,41(2):57-59.
- [12] 林伟强,边红武,王君晖,等. 铁皮石斛类原球茎空气干燥法超低温保存中的脱水蛋白分析 [J]. 园艺学报,2004,31(1):64-68.