

玫瑰石斛的组织培养及快速繁殖

白音^{1,2} 包英华^{1,*} 王文全² 阎玉凝²

¹韶关学院英东生物工程学院, 广东韶关 512005; ²北京中医药大学中药学院, 北京 100102

Tissue Culture and Rapid Propagation of *Dendrobium crepidatum* Lindl. ex Paxt.

BAI Yin^{1,2}, BAO Ying-Hua^{1,*}, WANG Wen-Quan², YAN Yu-Ning²

¹Yingdong College of Bioengineering, Shaoguan College, Shaoguan, Guangdong 512005, China; ²School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100102, China

1 植物名称 玫瑰石斛 (*Dendrobium crepidatum* Lindl. ex Paxt.)。

2 材料类别 无菌萌发的种胚苗茎节或茎段。

3 培养条件 种胚诱导培养基: (1) MS+NAA 0.5 mg·L⁻¹ (单位下同); (2) 1/2MS+马铃薯提取物20%。茎节或茎段分化培养基: (3) MS; (4) 1/2MS。生根和壮苗培养基: (5) 1/2MS+IBA 0.2~0.4+活性炭 0.1%; (6) MS+NAA 1+6-BA 0.5; (7) MS+NAA 2+6-BA 1。以上培养基均加入 30 g·L⁻¹ 蔗糖、8 g·L⁻¹ 琼脂粉, pH 5.8, 高压灭菌锅中 121℃ 下灭菌 20 min。培养温度 (25±1)℃, 光强 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 先用软刷蘸肥皂液轻轻刷洗玫瑰石斛果实, 流水冲洗干净, 然后 70% 酒精浸泡 1 min, 无菌水冲洗 3 次, 再用 0.1% 升汞表面消毒 10 min, 无菌水冲洗 6 次后, 把果实放在无菌滤纸上, 吸干表面水分, 用无菌解剖刀将蒴果剖成两半后, 用镊子捏住果皮, 轻轻抖动, 把种子散落到干的无菌滤纸上, 用药勺将种子播入种胚诱导培养基 (1) 和 (2) 上, 播种后稍加摇动培养瓶, 使种子散布均匀。培养 28 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。培养基 (2) 上种子萌发率多于培养基 (1) 上的萌发率, 表明低盐和马铃薯提取物对玫瑰石斛种子萌发有促进作用。

4.2 芽的分化 取无根种胚苗的茎节或茎段 (长度小于 0.5 cm, 采用无菌种胚苗的茎节或茎段作为外植体进行组织培养试验, 可以减少培养材料的污染率), 接种在培养基 (3) 和 (4) 上, 诱导芽。培养过程中发现, 茎节或茎段颜色变浅黄色, 并浮腫和抽长, 培养 60 d 后, 茎节处或茎段顶部侧

面抽出小芽, 长度可达 0.5 cm 左右。

4.3 生根和壮苗 将长成大约 1 cm 的小芽从茎节或茎段上切下来, 转接在培养基 (5) 上, 进行生根培养, 玫瑰石斛在离体培养过程中都体现良好的生根特点, 在生根培养基上都能直接生根, 生根率可达 100%。根有 4~8 条时, 再继续代在培养基 (6) 或 (7) 上, 进行壮苗培养。

4.4 炼苗及移栽 组培苗长出 5~8 片小叶片时, 将具有试管苗的培养瓶移至室内散射光处, 打开瓶盖 5~6 d, 进行初次炼苗。然后将小苗取出培养瓶, 用自来水轻轻洗净苗根部粘连的培养基, 使根系不受损伤, 移栽到已铺好基质的炼苗盘上, 基质一般采用树皮块和少量苔藓, 上面喷浇 MS 培养液和 0.2% 多菌灵液。炼苗盘放在温度为 (25±1)℃、湿度为 70%~85% 的炼苗大棚内, 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 90% 以上。

5 意义与进展 玫瑰石斛是兰科石斛属多年生草本植物, 含吡啶联啶类生物碱, 是具有滋阴益胃和生津除烦等功效的中药材。其花大而鲜艳, 可供观花和观叶。但由于长期过渡采收, 目前野生玫瑰石斛资源急剧减少, 甚至在有些地区已到濒临灭绝的境地。近年来, 国内学者对铁皮石斛、美花石斛和霍山石斛等多种石斛属植物进行了组培快繁方面的研究, 以期保护野生药用石斛资源, 满足日益增加的市场需求。但尚未见到玫瑰石斛组织培养及快速繁殖的报道。

收稿 2006-03-08 修订 2006-05-17

资助 韶关市科技计划项目 (韶科 2005-10) 和韶关学院科研项目 (2004)。

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