

细茎石斛的快速繁殖和试管开花诱导

王再花^{1,2,*} 涂红艳³ 叶庆生^{1,**}

¹华南师范大学生命科学院, 广州 510631; ²广东省农业科学院花卉研究所, 广州 510640; ³广东教育学院生物系, 广州 510303

Rapid Propagation and *in vitro* Flowering of *Dendrobium moniliforme* (L.)

Sw.

WANG Zai-Hua^{1,2,*}, TU Hong-Yan³, YE Qing-Sheng^{1,**}

¹College of Life Science, South China Normal University, Guangzhou 510631, China; ²Floricultural Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640, China; ³Department of Biology, Guangdong Institute of Education, Guangzhou 510303, China

1 植物名称 细茎石斛 [*Dendrobium moniliforme* (L.) Sw.]。

2 材料类别 野生植株的成熟种子。

3 培养条件 种子萌发培养基: (1) 1/2MS+NAA 0.5 mg·L⁻¹ (单位下同); 增殖分化培养基: (2) 1/2MS+NAA 0.4; 生根壮苗培养基: (3) 1/2MS+NAA 0.2+6-BA 2.0; 试管开花预处理培养基: (4) 1/2MS+TDZ 0.05, (5) 1/2MS+PP₃₃₃ 0.40+ABA 1.0, 预处理 90 d; 试管开花培养基: (6) MS (1/6N, 2P, 2K)+PP₃₃₃ 1.0+TDZ 0.1。每个处理 20 株, 重复 3 次, 150 d 内统计花芽诱导率(花芽数/植株数)和正常花开放率(正常花开放数/植株数)。以上培养基均附加 4% 蔗糖、10% (W/V) 香蕉汁、8 g·L⁻¹ 琼脂、0.1 g·L⁻¹ 活性炭, pH 5.6。培养温度为(25±2)℃, 光照强度 50~60 μmol·m⁻²·s⁻¹, 光照时间 12 h·d⁻¹。

4 生长与分化情况

4.1 实生苗的获得 成熟未开裂的荚果经自来水冲洗干净, 用 75% 乙醇表面消毒 30 s, 再用 0.1% 的升汞溶液浸泡 8~10 min, 并经常摇动, 最后用无菌水多次冲洗(曾宋君等 2006)。吸干水分, 切开荚果, 将粉末状的种子均匀撒在培养基(1)表面。培养 7~10 d 后, 种子开始由黄变绿, 逐渐膨大; 20~30 d 后, 种胚突破种皮, 长成顶端有绿色叶原基的原球茎(图 1), 原球茎保持阶段十分短暂, 极易分化, 种子萌发率约 95%; 将原球茎接种到培养基(2)上, 20~30 d 后, 形成大量的丛生芽; 继续培养, 30 d 后, 形成具有 1~2 片叶、株高 0.5~1.0 cm 的小苗, 小苗丛生堆叠在一起, 一些小苗的基部产生少许黄绿色的原球茎。将上

述小苗接种到培养基(3)上, 原球茎增殖受到抑制, 分化加快, 60~90 d 后, 长成具 4~5 片叶、3~4 条粗壮根的实生苗(图 2)。

4.2 实生苗的试管开花

4.2.1 TDZ 预处理对 PP₃₃₃+TDZ 诱导试管开花的效应 将培养 60~90 d 的实生苗接种到培养基(4)上预处理 90 d, 基部分孽出 5~6 个丛生芽。再将丛生芽转入培养基(6)中, 约 30 d, 开始出现花芽; 约 90 d, 花芽形成达到高峰期。花芽诱导率和正常花开放率分别为 93.3% 和 45.4%, 丛生芽基部分孽出的新芽大部分能产生花芽。大多数花芽从花梗抽出, 顶生 2~6 朵, 部分能正常开放(图 3-a), 但比正常花小, 花期长 1~3 个月。此外, 提高 TDZ 预处理浓度, 花芽诱导率和正常花开放率下降, 畸形花增多, 根部褐化加剧。

4.2.2 PP₃₃₃+ABA 预处理对 PP₃₃₃+TDZ 诱导试管开花的效应 将培养 60~90 d 的实生苗接种到培养基(5)上预处理 90 d, 基部分孽出 3~4 个丛生芽。再转入培养基(6)中, 约 30 d, 开始出现花芽; 约 90 d, 花芽形成达到高峰期。PP₃₃₃+ABA 预处理的效果明显优于 TDZ 预处理, 花芽诱导率和正常花开放率分别达 93.3% 和 80.0%。花芽大小不等, 一般多朵顶生, 少数 1~2 朵顶生, 大部分开花正

收稿 2006-09-04 修定 2006-11-17

资助 广东省高新技术成果转化项目(98FF32)、广东省重大科技专项(2003A2010401)、广东省自然科学基金(05005913)。

*E-mail: wangzaihua@163.com, Tel: 020-87593429

** 通讯作者(E-mail: ye-lab@scnu.edu.cn, Tel: 020-85212021)。

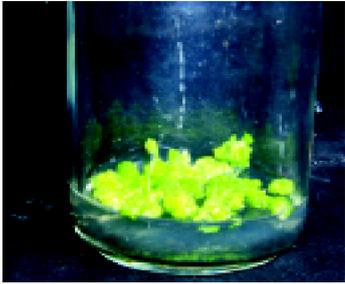


图1 细茎石斛的原球茎增殖



图2 细茎石斛的实生苗

常, 花期长达2~4个月(图3-b)。绝大部分从生芽基部的芽都有花芽, 花朵次第绽放, 呈浅绿色或白色。

5 意义与进展 细茎石斛不仅是名贵的中药材, 而且其花淡雅美观, 清香宜人。但由于过度开采, 再加上种子无胚乳, 自然条件下萌发率极低, 已濒临灭绝。文中采用的细茎石斛种子离体快速繁



图3 细茎石斛的试管开花

殖和试管开花方法, 种子萌发率高, 2~3个月苗龄的实生苗即可诱导开花, 有利于缩短从无性生殖向有性生殖的繁殖过程和杂交育种周期。另外, 已有的试管开花报道多以1种植物生长调节剂处理, 形成的花芽多数不能正常开放。再者, TDZ和PP₃₃₃促进试管开花亦未见报道。本文采用的多种植物生长调节剂并通过提高C/N比和P、K协同处理的方法也为试管开花诱导开辟了一条新的途径。细茎石斛组织培养有人(Choi和Lee 1989)曾以茎段为外植体进行过人工繁殖, 而从种子无菌播种到开花的整个生理过程的报道还未见。

参考文献

- 曾宋君, 陈之林, 段俊(2006). 带叶兜兰的无菌播种和离体快速繁殖. 植物生理学通讯, 42 (2): 247
- Choi SK, Lee DK (1989). The study on the artificial propagation of *Dendrobium moniliforme* in wild medicinal herb. The Research Reports of the Rural Development Administration, 31 (3): 52~56