

# 铁皮石斛的种子培养

谢启鑫, 宋小明, 黄东华, 李宝光, 赵 萍

(江西省农业科学院 蔬菜花卉研究所, 江西 南昌 330200)

**摘 要:**以铁皮石斛成熟种子为外植体, 研究原球茎的诱导、增殖、分化和生根的最佳培养条件。结果表明: 1/2 MS 基础培养基最适合铁皮石斛的种子培养, 45 d 时原球茎诱导率达到 95%; 原球茎增殖的最佳培养基为 1/2 MS+ 6 BA 0.5 mg/L+ NAA 0.5 mg/L+ 20% 马铃薯提取液, 每代增殖 16 倍, 原球茎形态好、变异少; 原球茎团于 1/2 MS+ 6 BA 2 mg/L+ NAA 0.25 mg/L+ 20% 马铃薯提取液的培养基上可诱导丛芽分化, 于 MS+ NAA 0.5 mg/L+ 20% 香蕉汁+ 活性炭 5 g/L 的培养基上易于诱导不定根的形成, 60 d 后可形成健壮的完整小植株。

**关键词:**铁皮石斛; 种子; 组织培养; 原球茎

**中图分类号:** S 567.23<sup>+</sup> 9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001- 0009(2010)08- 0090- 02

铁皮石斛是我国的一种传统名贵中药, 具有滋阴清热、生津益胃、润肺止咳等功效, 药用价值和经济价值极高<sup>[1]</sup>。近年来, 由于人工过度采挖和自然生境的破坏, 野生石斛资源日益枯竭, 市场供应紧缺。铁皮石斛的种子非常细小, 自然条件下很难萌发, 而传统的分株繁殖方法速度慢, 难于满足市场需求<sup>[2]</sup>。采用植物组织培养技术是大量繁殖种苗的有效途径, 国内外已有一些报道<sup>[3-6]</sup>。该试验在参考前人<sup>[7,8]</sup>研究的基础上探讨了铁皮石斛种子无菌培养的方法和条件, 旨在为工厂化生产提供技术依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

铁皮石斛未开裂的成熟果荚。培养基均含蔗糖 25 g/L、琼脂粉 6 g/L, 调 pH 值至 5.4 后于 121 °C 灭菌 15 min。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 外植体消毒** 先用酒精棉球擦拭果荚表面, 于 0.1% 升汞处理 20 min, 无菌水冲洗数次, 然后浸入 70% 酒精中几秒钟, 酒精灯上灼烧一会, 置于接种盘中, 冷却后切开果荚, 取出种子均匀接种于基础培养基分别为 MS、1/2 MS、花宝 1 号 3 g/L 的无激素萌发培养基上, 光照培养。

**1.2.2 原球茎增殖** 选取直径为 1.0 mm 左右的原球茎, 接种于添加 20% 马铃薯提取液和不同 6 BA 与 NAA 浓度的 1/2 MS 培养基上, 共 8 个处理, 每个处理

接种 10 瓶, 每瓶均匀接种 20 个原球茎, 试验植物生长调节剂对比对原球茎增殖的影响。

**1.2.3 原球茎分化** 增殖后的原球茎团, 接种于 1/2 MS+ 6 BA 2 mg/L+ NAA 0.25 mg/L+ 20% 马铃薯提取液的培养基上诱导丛芽。

**1.2.4 生根与壮苗** 将诱导分化的丛芽切割分离成单芽, 接种于 MS+ NAA 0.5 mg/L+ 20% 香蕉汁+ 活性炭 5 g/L 的培养基上诱导不定根。

## 2 结果与分析

### 2.1 原球茎诱导

铁皮石斛种子接种后约 10 d 开始萌发, 种子逐渐膨大转绿; 培养约 25 d, 开始有少量原球茎形成; 继续培养至 45 d 时, 原球茎大量形成。这时, 统计种子在各种培养基中的萌发情况, 结果发现在 MS、1/2 MS、花宝 1 号 3 g/L 的无激素培养基中原球茎的诱导率分别为 50%、95%、70%, 形成的原球茎平均直径分别约为 0.5、1.0、0.8 mm。这说明铁皮石斛种子的培养需要较低的矿质元素含量, 特别是较低的氮元素含量。

### 2.2 原球茎增殖

原球茎在含不同 6 BA 与 NAA 浓度组合的 1/2 MS 培养基中的增殖情况见表 1。从表中可见, 组合 1 不含任何激素, 原球茎完全不增殖。NAA 浓度一定时, 原球茎团形成率和增殖倍数均随 6 BA 浓度的增加而提高, 但当 6 BA 浓度从 1 mg/L 增加到 2 mg/L 时, 原球茎团形成率反而有所下降; 增殖倍数虽然有所提高, 但出现一些水渍状、褐化的原球茎。6 BA 浓度相同时, NAA 0.5 mg/L 的原球茎团形成率和增殖倍数显著高于 NAA 0.25 mg/L。综合分析认为, 组合 7 即 6 BA 与 NAA 各 0.5 mg/L 的浓度组合能得到较高的原球茎团形成率和增殖倍数而又极少变异, 较适合

第一作者简介: 谢启鑫(1981-), 男, 硕士, 助理研究员, 现主要从事园艺植物分子遗传学研究工作。E-mail: biocrat@126.com。

收稿日期: 2009- 11- 24

铁皮石斛原球茎的增殖(见图 1A)。

2.3 原球茎分化

增殖后的原球茎团接种于分化培养基后,约 15 d 开始分化出丛芽,40 d 时芽高可达 1~ 2 cm,着生 2 片嫩叶,期间可增殖 1~ 2 倍,每丛有芽 30~ 50 个(见图 1B)。

表 1 不同浓度的 6-BA 与 NAA 组合对铁皮石斛原球茎增殖的影响

组合	6-BA /mg·L <sup>-1</sup>	NAA /mg·L <sup>-1</sup>	外植体数	原球茎团 形成率/%	增殖倍数
1	0	0	200	0	0
2	0.25	0.25	200	18	6.4
3	0.50	0.25	200	25	8.5
4	1.00	0.25	200	38	13.6
5	2.00	0.25	200	35	15.1
6	0.25	0.50	200	37	11.8
7	0.50	0.50	200	53	16.0
8	1.00	0.50	200	61	20.3
9	2.00	0.50	200	56	22.7

2.4 生根与壮苗

将丛芽切割成单芽后接种于生根壮苗培养基,约 20 d 开始发根,35 d 时生根率达到 100%,60 d 时平均每株有不定根 4.3 条,平均根长 2.1 cm,小苗平均株高 5.8 cm,植株叶色浓绿、生长健壮(见图 1C)。

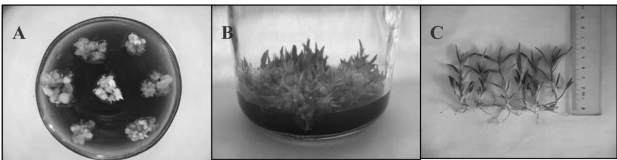


图 1 铁皮石斛的种子培养  
A: 原球茎的增殖; B: 丛芽的分化; C: 生根。

3 结论与讨论

铁皮石斛种子在自然条件下难于萌发,繁殖率极低。利用植物组织培养技术、在无菌状态下促使种子萌发是大量繁殖种苗的有效途径。MS 培养基是植物组织培养中应用最为广泛的一种基础培养基,而花宝 1 号是许多兰科植物的常用培养基,比较 MS、1/2MS、

花宝 1 号对铁皮石斛种子萌发的影响,发现三者存在很大差异,1/2 MS 萌发率最高,花宝 1 号其次,MS 最差,说明铁皮石斛种子的培养需要较低的矿质元素含量,特别是较低的氮元素含量。不同浓度组合的 6-BA 与 NAA 对原球茎的增殖试验表明,激素对于原球茎的增殖起着关键的作用。在不添加任何激素的 1/2 MS 培养基上,原球茎完全不增殖,而是朝着分化芽的方向发展,随着激素浓度的提高,原球茎的增殖倍数逐渐增加,但过高的激素浓度容易造成变异,导致原球茎质量下降,必须严格加以控制。

成熟种子接种于不含激素 1/2 MS 培养基上,45 d 后将诱导的原球茎接种于 1/2 MS+ 6-BA 0.5 mg/L+ NAA 0.5 mg/L+ 20% 马铃薯提取液的培养基上增殖,增殖数代后的原球茎团接种于 1/2 MS+ 6-BA 2 mg/L+ NAA 0.25 mg/L+ 20% 马铃薯提取液的培养基上诱导丛芽分化,最后于 MS+ NAA 0.5 mg/L+ 20% 香蕉汁+ 活性炭 5 g/L 的培养基上诱导不定根的形成,60 d 后可形成健壮的完整小植株,该研究结果为铁皮石斛的大规模工厂化生产提供了技术依据。

参考文献

[1] 邵华,张玲琪,李俊梅,等.铁皮石斛研究进展[J].中草药,2004,35(1):109-112.  
[2] 温明霞,聂振朋,林媚,等.铁皮石斛组织培养与快速繁殖研究进展[J].广西农业科学,2007,38(3):227-230.  
[3] 张治国,王黎.铁皮石斛原球茎分化适宜培养基研究[J].中国中药杂志,1993,18(1):16-19.  
[4] 蒋林,丁平,郑迎冬.添加剂对铁皮石斛组织培养和快速繁殖的影响[J].中药材,2003,26(8):539-541.  
[5] 周俊辉,钟雪锋,蔡丁稳.铁皮石斛的组织培养与快速繁殖研究[J].仲恺农业技术学院学报,2005,18(1):23-26.  
[6] 莫昭展,贝学军,覃贵毕,等.铁皮石斛丛生芽增殖研究[J].西北林学院学报,2008,23(6):104-107.  
[7] 罗吉凤,程治英,龙春林.铁皮石斛快速繁殖和离体种质保存的研究[J].广西植物,2006,26(1):69-73.  
[8] 唐桂香,黄福灯,周伟军.铁皮石斛的种胚萌发及其离体繁殖研究[J].中国中药杂志,2005,30(20):1583-1585.

Seeds Cluture of *Dendrobium candidum*

XIE Qi-xin, SONG Xiao-ming, HUANG Dong-hua, LI Bao-guang, ZHAO Ping  
(Institute of Vegetable and Flower, Jiangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanchang, Jiangxi 330200)

**Abstract:** The culture condition of protocorm induction, multiplication, differentiation and rooting from seeds of *Dendrobium candidum* was studied. The result showed that 1/2 MS with free plant growth regulator was the most optimum for seeds culture and the PLB percentage was 95%; 1/2 MS containing 0.5 mg/L 6-BA, 0.5 mg/L NAA and 20% tomato extract was best for PLBs' multiplication, with 16 times of explant. PLBs can differentiate in 1/2 MS medium containing 2 mg/L 6-BA, 0.25 mg/L NAA and 20% tomato extract. Buds can form plantlets after cultured for 60 days in MS medium containing 0.5 mg/L NAA, 20% banana juice and 5 g/L active carbon.

**Key words:** *Dendrobium candidum*; seed; tissue culture; protocorm