

广东石斛快速繁殖及种苗移栽技术

詹启成¹, 李雪^{1, 2}, 祁英¹, 杨双霞¹, 叶清梅¹, 简丽观¹

(1. 泉州市泉美生物科技发展有限公司 福建 泉州 362012; 2. 福建省特色花卉工程技术研究中心 福建 福州 350013)

摘要: 利用野生广东石斛种子, 经无菌播种在 MS+香蕉 70 g/L+AC 3 g/L+蔗糖 30 g/L, 琼脂 7.0 g/L, pH 5.4 种子萌发后形成大量 PLBS 需要 110 d 左右。这些 PLBS 在培养基 MS+BA 0.1 mg/L+NAA 0.2 mg/L 上繁殖系数为 6.0 以上。而 PLBS 在培养基 1/4MS+香蕉 70 g/L+AC 1 g/L 分化成细小植株后, 再经 1/2MS+香蕉 70 g/L+NAA 0.5 mg/L+AC 0.3 g/L 培养后形成完整植株。播种苗在温室中用水草种植其成活率 100%。

关键词: 广东石斛; 种子; 繁殖

中图分类号: S 567.1⁺5 **文献标识码:** B **文章编号:** 1001-0009(2010)16-0137-03

广东石斛(*Dendrobium wilsonii* Rolfe)又名白花铜皮石斛, 茎直立或斜立, 细圆柱形, 通常长 10~30 cm, 粗 4~6 mm, 不分枝, 节间长 1.5~2.5 cm。叶革质, 二列、

数枚, 互生于茎的上部, 狭长圆形, 叶鞘革质。总状花序 1~4 个, 从落了叶的老茎上部发出, 具 1~2 朵花; 长 4~7 mm, 花大, 8~9 cm, 乳白色, 开展; 中萼片长圆状披针形; 侧萼片三角状披针形, 与中萼片等长; 花瓣近椭圆形; 唇瓣卵状披针形, 比萼片稍短而宽得多, 唇盘中央具 1 个黄绿色的斑块, 密布短毛^[1, 2]。广东石斛全株入药, 有养气、化痰、镇静之功效, 常用以制作环草石斛、黄草石斛^[3, 4], 具有较高的药用价值, 由于原始资源的极度破坏, 导致野生广东石斛已经濒临灭绝。

第一作者简介: 詹启成(1963-), 男, 湖北麻城人, 本科, 农艺师, 现从事花卉育种及资源引进及鉴定工作。

通讯作者: 李雪(1968-), 男, 重庆大足人, 硕士, 现从事园艺植物选育快繁及产业化研究工作。E-mail: Snowthlee@yhoo.com.cn。

基金项目: 福建省省院科技合作专项(农业)资助项目(2009N4008)。

收稿日期: 2010-04-12

[3] CAO Ying, HU Shang-lian. Meropenem as an alternative antibiotic agent for suppression of *Agrobacterium* in genetic transformation of orchid [J]. *Agricultural Sciences in China* 2006, 5(11): 839-846.
[4] 王勇. 抗生素对桑树外植体生长与分化的影响[J]. *蚕业科学*, 1996 22(2): 72-76.
[5] 范国强, 赵振利, 曹艳春. 抗生素对悬铃木体外植株再生影响的研究[J]. *河南农业大学学报*, 2004, 38(3): 279-284.

[6] 王关林, 方宏筠. 植物基因工程原理与技术[M]. 北京: 科学出版社 1998.
[7] 朱海生, 潘东明, 林义章等. 根癌农杆菌介导草莓遗传转化研究[J]. *核农学报*, 2008, 22(1): 36-40.
(注: 该文作者还有杨静慧, 工作单位为天津农学院园艺系。)

The Effects of Carbenicillin on Growth and Differentiation of Three Berries

ZHANG Yan-ling¹, HUANG Jun-xuan², LI Jian-ke², LI Shuang-yue², LIU Yan-jun², YANG En-qin², YANG Jing-hui²

(1. Tianjin Biological Vocational Technical College Tianjin 300462; 2. Horticultural Department of Tianjin Agricultural University, Tianjin 300884)

Abstract: The research aimed to provide references for further study of gene transformation of blueberry, raspberry and cranberry in *Agrobacterium*-mediated transformation. Effects of carbenicillin on the growth and differentiation of various explants of three berries were studied and the inhibitive effects of carbenicillin upon *Agrobacterium tumefaciens* also were studied. The results showed that the optimum concentrations of carbenicillin on stage of differentiation of blueberry and raspberry was 200~300 mg/kg, and the time of subculture was 7 days; The optimum concentrations of carbenicillin on stage of differentiation of cranberry was 400 mg/kg and the time of subculture was 7~14 days; The optimum concentration of carbenicillin on stage of rooting of three berries was under 200 mg/kg.

Key words: blueberry; raspberry; cranberry; carbenicillin

1 材料与方法

1.1 试验材料

广东石斛的种子采自福建野生原始森林树上基本成熟的蒴果,蒴果青绿色,棒状形,长 3.7 cm,粗 1.3 cm 果柄长 1.3 cm,种子淡黄色粉末状。

1.2 试验方法

1.2.1 无菌播种 首先清除蒴果表面的脏物,然后用 75% 的酒精进行表面擦拭进行初步消毒,带入接种室,在超净工作台上用 2% 的次氯酸钠消毒 10~20 min,期间不断的摇动以达到消毒的最佳效果。最后用无菌水清洗 2~3 次,每次 1~3 min。在超净工作台上纵向切果荚一裂缝(图 1),把果荚用消毒过的镊子夹起将粉末状的种子散播 MS+AC 3 g/L+香蕉 70 g/L,蔗糖 30 g/L, pH 5.4, 琼脂 7.0 g/L 的培养基表面上。培养条件:温度 $(26 \pm 1)^\circ\text{C}$, 光照强度 300~500 lx, 光照时

间 12 h/d。

1.2.2 原球茎增殖培养及植株诱导形成 将种子萌发形成的 PLBS 分别于 MS+BA 0.2 mg/L+NAA 0.5 mg/L、蔗糖 25 g/L; MS+香蕉 70 g/L+AC 1 g/L、蔗糖 25 g/L、琼脂 4.5 g/L 及 1/4MS+香蕉 70 g/L+AC 1 g/L、蔗糖 25 g/L、琼脂 8.5 g, pH 5.4。培养条件:温度 $(26 \pm 1)^\circ\text{C}$ 光照强度 1 000~1 500 lx, 光照时间 14~16 h/d。

1.2.3 壮苗生根培养 采用培养基 1/2MS+香蕉 70+AC 3 g/L、蔗糖 30 g/L、琼脂 7.0 g/L, pH 5.4。培养条件:温度 $(26 \pm 1)^\circ\text{C}$ 、光照强度 1 000~1 500 lx、光照时间 14~16 h/d。

1.2.4 瓶苗移植 将瓶苗置于温室通风低光处练苗驯化 7~10 d 并逐渐增加光照从面适应温室环境。采用进口水草种植。



图 1 成熟蒴果

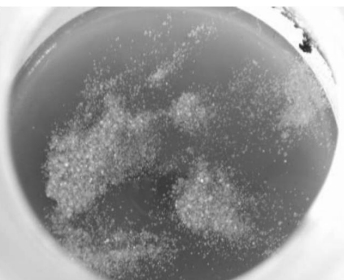


图 2 种子萌发



图 3 绿色原球茎



图 4 生根培养

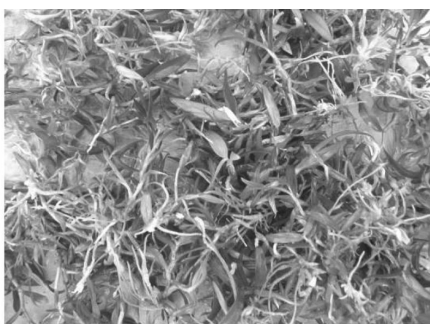


图 5 出瓶苗



图 6 种植

2 结果与分析

2.1 播种密度对种子萌发的影响

种子大致都能接触到培养基为准,太密会影响发芽率和以后的正常生长,太稀也会影响其发芽率。约 20 d 胚明显增大,由黄变绿(图 2),30 d 后种胚突破种皮,长成顶端有绿色叶原基(图 3),球体基部有丝状毛的原球茎。未成熟的部分种子在培养基上再播种后也可以萌发,但萌发率较成熟种子低,有败育现象,1 个月后第 1

枚叶片从原球茎顶部中间生出。40 d 后形成大量的 PLBS。

2.2 原球茎增殖及植株的形成

将大量米黄色的 PLBS 及时转入分化培养基,110 d 时出现原球茎伸长,诱导出 2~3 片并有 1~3 条根生成的大量植株,此时苗弱小,需要换壮苗培养。原球茎的对盐离子浓度较敏感,需低浓度的培养基。在 MS 中会出现大量的原球茎死亡现象,而 1/4MS 中则很少有死亡

现象。培养约 3 个多月时,形成的均芽高 25 ~ 35 mm; 叶片≥4 片,1 ~ 3 条根的小植株。这些小植株弱小,无法种植成活,需要再经过壮苗定瓶培养。

2.3 壮苗生根培养

将这些弱小植株定瓶后,为保证质量,每瓶放置量为 25 株为宜,1 个多月后有新根生成,约 4 个月后,瓶苗植株平均高度为 4.65 cm,平均根数达到 3.9 条,每个植株有 3 个节以上,达到出瓶移栽的标准(图 5)。

2.4 种苗的种植培养

用镊子小心将小苗从瓶中取出,用清水洗净根部附着的培养基,然后使用 1 000 倍甲基托布津浸泡 5 min,稍晾干。以纯水草基质,1.5 寸塑料软杯,每杯种植 2 株。移栽后 2 周内遮光 70 % ~ 50 %,逐渐增强光照。前期不浇水,只喷叶面水,种植后 3 ~ 5 d 喷 1 000 倍多菌灵预防病害。移栽 20 d 后用花多多 N : P : K 为 9 : 45 : 15 稀释 3 000 倍液进行叶面施肥 1 ~ 2 次促进生根,当出现新根后开始施肥,生长期施用 1 500 倍液的花多多 3 : 1 : 1 与 2 : 2 : 2 交替使用,每 10 ~ 15 d 喷 1 次,成活率达 100 %,种植 8 个月单株茎数 4.15 条,最长茎达 12.50 cm,茎粗 0.45 cm,节长 1.36 cm,叶长 5.32 cm,叶宽 1.2 cm,生长健壮(图 6)。

3 结论

石斛类的组培繁殖技术及移栽技术多见于报道^[5-8 10]。通过上述方法,成功获得大量的广东石斛的实生苗,并且采用进口水草种植,移栽成活 100 %。广东石斛分布于湖北、湖南、广东、广西、福建、四川、云南及贵州,但是从 20 世纪 80 年代后,很难见到此物种,如此多

的产地几乎绝迹^[9],濒临灭绝,因而在历史上一定早已被人们发现和利用,才造成野生资源的毁灭性破坏。采用野生蒴果种子繁殖,更有利于该物种遗传物质的多样性延续,同时使此物种的种群扩大和保存具有重大意义。广东石斛花白色,花大,花寿 10 ~ 15 d,有一定的观赏性;进一步对广东石斛物质成分的分析研究,更有利于此物种的药用价值的开发和利用。

参考文献

[1] 中国科学院北京植物研究所. 中国高等植物图鉴[M]. 5 册. 北京: 科学出版社, 1976: 696.
[2] 陈心启, 吉占和. 中国兰花全书[M]. 北京: 中国林业出版社, 1998: 170.
[3] 《全国中草药汇编》编写组. 全国中草药汇编[M]. 北京: 人民卫生出版社, 上册 1975: 248; 下册 1978: 85.
[4] 中国药学院药用植物资源开发研究所. 中药志[M]. 第 4 册. 北京: 人民卫生出版社, 1988: 230-242.
[5] 付志惠, 李洪林, 杨波. 广东石斛的组织培养[J]. 植物生理学通讯, 2005, 41(4): 83.
[6] 徐云鹃, 王力文, 霍山. 石斛种子试管苗的培养[J]. 植物生理通讯, 1984, 25(4): 35-36.
[7] 唐树梅, 漆智平. 石斛兰营养特征及施肥技术[J]. 园艺学报, 1996, 26(3): 184-187.
[8] 曾宋君, 程式君, 张京丽, 等. 五种石斛兰的胚培养及快速繁殖研究[J]. 园艺学报, 1998, 25(1): 75-80.
[9] 白音, 包英华, 金家兴, 等. 我国药用石斛资源调查研究[J]. 中草药, 2006, 36(9): 附 4-5.
[10] 蔺红苹, 房美玲. 不同培养基成份对石斛兰继代和生根的影响[J]. 北方园艺, 2010(4): 141-143.

(注: 该文作者还有黄敏玲, 单位为福建省特色花卉工程技术研究中心。)

The Rapid Propagation of *Dendrobium wilsonii* Rolfe and its Plantlet

ZHAN Qi-cheng¹, LI Xue^{1,2}, QI Ying¹, YANG Shuang-xia¹, YE Qing-mei¹, JIAN Li-guan¹

(1. Sunshine Horticulture Limited Company, Quanzhou, Fujian 362012; 2. Fujian Engineering Research Center for Characteristic Flower, Fuzhou, Fujian 350013)

Abstract: Using the seeds of *Dendrobium wilsonii* as explant. The seeds were germinated on MS with banana 70 g/L and AC 3 g/L, which were burgeon into PLBS with 110 days. The PLBS were rapid propagation on MS with 6-BA 0.2 mg/L and NAA 0.5 mg/L. PLBS can be growing to plant on 1/4MS media with banana 70 g/L and AC 1 g/L. The root was growing fully when the shoots were cultured on 1/2MS with banana 70 g/L and NAA 0.5 mg/L and AC 3 g/L. The rate of survival for 100 percent with peat moss in greenhouse.

Key words: *Dendrobium wilsonii* Rolfe; seeds; propagation