

紫皮石斛兰组织培养体系的建立

刘会清, 张爱香, 常美花, 李倩, 抗艳红

(河北北方学院 农林科技学院农业科学系 河北 张家口 075131)

摘要: 紫皮石斛兰在组织培养的过程中, 其原球茎的增殖和分化是关键, 试验证明不同培养基配方、激素种类和浓度对紫皮石斛兰原球茎的增殖倍数以及分化率是不同的, MS 培养基对紫皮石斛的增殖效果最好, 6-BA 0.2 mg/L + NAA 1.5 mg/L 的激素浓度使原球茎的分化率达到 87.5%。

关键词: 组织培养; 激素浓度; 增殖倍数; 分化率

中图分类号: S 682.31; S 603.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2007)10-0192-02

石斛属(*Dendrobium* Sw.)为兰科最大属之一, 共有 1 500 多种, 广泛分布于亚洲、欧洲及大洋洲等热带及亚热带地区^[1]。我国约有 80 多种, 能够药用的有 20 多种, 可分为铁皮、紫皮、金钗、霍山、流苏、束花、鼓槌、美花、细茎、金叶等品种, 主要分布于西南、华东及华南地区。在我国传统医学中, 石斛为常用贵重药材, 其中铁皮石斛最为珍贵, 紫皮石斛次之^[2], 它具有滋阴清热、益胃生津、润肺止咳等功效, 常用于热病伤津、口干烦渴、病后虚热等多种病症^[3]。现代药理研究证明石斛具有抗衰老、抗肿瘤、降低血糖等作用, 在治疗胃肠道疾病、白内障、关节炎、血栓闭塞性脉管炎及慢性咽炎等疾病有很好的疗效^[3]。

我国从 20 世纪 70 年代中期开始对石斛的组织培养进行深入研究, 进展很快。据报道, 目前已在霍山石斛^[4]、金钗石斛^[5]、铁皮石斛^[6]等 9 种石斛属植物成功诱导出无性繁殖系和离体种子苗, 并已进入规模生产阶段, 而紫皮石斛的组织培养还未见报道。现应用紫皮石斛的离体种子无菌苗, 对其原球茎进行增殖, 通过分化后, 接入生长培养基, 获得了完整的紫皮石斛兰植株, 经移栽已经成活。现将结果总结如下。

1 材料与方法

1.1 材料

紫皮石斛兰的种子无菌苗由中国林科院提供。

1.2 方法

将紫皮石斛兰无菌苗的原球茎接入增殖培养基中, 30 d 后调查增殖系数, 繁殖到一定量时接入分化培养基上, 40 d 后调查分化率, 分化出的小苗接种于生长培养基上。培养基的 pH 值为 5.4, 添加 20~30 g/L 的蔗糖, 5 g/L 的活性碳, 以 7 g/L 的琼脂固化, 培养室温度为

24~26℃, 每天光照 13 h, 光照强度为 3 000 lx。

2 结果与分析

2.1 紫皮石斛兰原球茎增殖培养基的选择

将紫皮石斛兰无菌苗的原球茎接种于不含任何激素的 MS、1/2MS、KC 培养基上, 1 个月后调查增殖系数。结果表明, MS 培养基对紫皮石斛的增殖效果最好, 增殖倍数为 9.5 倍; 1/2MS 次之, 增殖倍数为 6.8; KC 最差, 增殖倍数为 3.2。

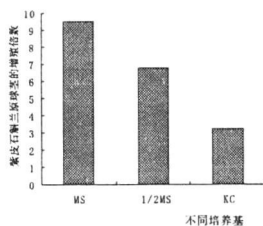
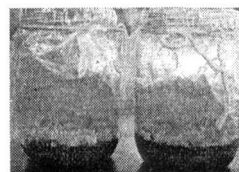


图 1 不同培养基对紫皮石斛兰原球茎增殖的倍数



紫皮石斛原球茎的增殖

2.2 紫皮石斛兰原球茎分化培养基的选择

将增殖后的紫皮石斛兰原球茎接种于分化培养基上, 40 d 后调查分化率(见表 1)。由表 1 可以看出, 培养基 II 对紫皮石斛兰的分化效果最好, 分化率达到 74%。同培养基 I、II 比较说明, 添加 6-BA 后的培养基明显好于添加 KT 的培养基。

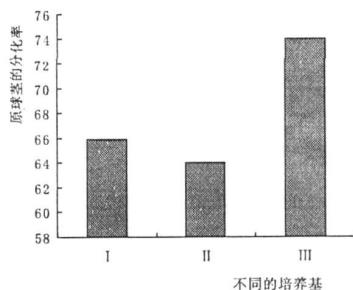


图 2 紫皮石斛兰在不同培养基上的分化率

第一作者简介: 刘会清(1965-), 男, 副教授, 主要从事作物栽培及药用植物组织培养研究。

基金项目: 河北省科技厅资助项目(052201122)。

收稿日期: 2007-07-05

表 1 紫皮石斛兰在不同培养基上的分化效果

培养基	接种块数	分化数	分化率
I :MS	97	64	65.9
II :MS+ NAA 1mg /L+ KT 1.5 mg/L	100	64	64
III :MS+ 6-BA 0.2 mg /L+ 1 NAA 1 mg/L	75	63	74

2.3 NAA 的浓度对紫皮石斛兰原球茎分化的影响

表 2 不同 NAA 浓度对紫皮石斛兰原球茎分化效果

培养基	接种块数	分化数	分化率 /%
I :MS+ 6-BA 0.2mg /L+ 1NAA 1mg/L	75	63	74
II :MS+ 6-BA 0.2mg /L+ NAA 1.5mg/L	72	63	87.5
III :MS+ 6-BA 0.2mg /L+ NAA 2mg/L	78	52	67

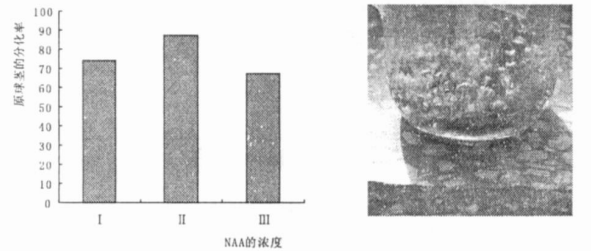


图 3 NAA 的浓度对原球茎分化率的影响 紫皮石斛兰的原球茎分化成苗

由表 2 可以看出,不同浓度的 NAA 对紫皮石斛兰原球茎的分化率是不同的,以 1.5 mg/L 的 NAA 浓度分化率最高,达到 87.5%。

2.4 紫皮石斛兰生长培养基的选择



紫皮石斛兰生长成苗

将分化好的紫皮石斛兰小苗接种于 MS(自配:按照 MS 培养基配方自行配制、MS 脱水培养基;河北科技大学生产,40g /L),1 个月 后调查植株生长情况,结果发

现,MS 脱水培养基明显好于 MS 自配培养基,其上生长的紫皮石斛兰苗粗壮,根系发达,叶片紫绿,长势比较好,而 MS 自配培养基长出的苗发干,发黄。

2.5 移栽

将组培所得的紫皮石斛兰苗移入温室 练苗 3 d 后移栽。移栽前先洗净组培苗根部培养基,用 50%的多菌灵可湿性粉剂 1 000 倍液浸泡 10 min,然后移入苔藓基质中,其移栽成活率为 32%。

3 讨论

在紫皮石斛兰的组织培养过程中,组织培养体系建立比较容易,但移栽成活比较难,原因可能是缺乏共生菌。潘超美等^[1]从野生剑兰和墨兰根中分离、纯化培养收获 4 种菌株,发现其真菌对诱导石斛组织培养物(愈伤组织、拟原球茎以及不定芽)的生长均有不同程度的促进作用。郭顺星等^[12]从野生铁皮石斛兰和金钗石斛根中分离获得内生真菌 25 种,其中 5 种真菌可促进石斛种子萌发;7 种真菌可与石斛幼苗形成共生关系。因此,分离和筛选促进紫皮石斛兰生长发育的菌根真菌,可能是提高试管苗移栽成活率,解决北方紫皮石斛兰生产的关键所在。

参考文献

[1] 魏小勇. 石斛属植物生物碱研究进展[J]. 中国药业, 2005, 7.
[2] 中华人民共和国药典委员会. 中国药典(一部)[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1985: 75.
[3] 林萍, 毕志明, 徐红, 等. 石斛属植物药理活性研究进展[J]. 中草药 2003(11).
[4] 傅玉兰, 谷凤, 胡传明, 等. 霍山石斛组培快繁技术研究[J]. 安徽农业科学 2004(3): 522-523.
[5] 孙廷, 杨玉珍, 胡如善, 等. 金钗石斛的组织培养和快繁技术[J]. 西北农业学报. 2004(4).
[6] 周俊辉, 钟雪峰, 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(1): 23-26.
[7] 潘超美, 贺红, 林群英, 等. 真菌诱导子对铁皮石斛组培物生长的影响[J]. 中医药学报 2004 22(1): 54-55.
[8] 郭顺星, 曹文岑, 高微微. 铁皮石斛及金钗石斛菌根真菌的分离及其生物活性测定[J]. 中国中药杂志, 2000 25(6): 338-341.

Study on Tissue Culture of the Purple Skin Dendrobe

LIU Hui-qing ZHANG Ai-xiang CHANG Mei-hua LI Qian, KANG Yan-hong
(Agricultural Department, Hebei North University, Zhangjiakou, Hebei 075131, China)

Abstract: The protocorm multiplication and differentiation is the factor in the tissue culture process of the purple skin Dendrobe. Experiments indicated that with the differert culture medium formula , hormone type and density , the proto-corn multiplication multiple and the differentiation rate of purple skin Dendrobe was different. The best culture medium to the purple skin Dendrobe multiplication was MS, the protocorm differentiation rate could be achieve to 87.5% with the 6-BA 0.2 mg/L+NAA 1.5 mg/L hormone density.

Key words: Tissue culture; Medium homoned density; Multiplication multiple ;Differentiation rate