

# 铁皮石斛组织培养快繁方法专利技术分析

马彧博, 王忠鹏

(国家知识产权局专利局专利审查协作天津中心, 天津 300304)

摘要: 铁皮石斛是一种重要的药用植物, 是近些年来重点关注的药用石斛之一。目前, 铁皮石斛野生资源稀缺, 组织培养使其快速繁殖是最有效的途径。本文通过分析铁皮石斛的组织培养方法相关专利, 进一步明确铁皮石斛组织培养的常用方法及研究前景。

关键词: 铁皮石斛; 组织培养; 外植体; 芽; 愈伤

中图分类号: S567.23+9

文献标志码: A

文章编号: 1672-3872(2019)09-0068-01

## 1 铁皮石斛组织培养概述

铁皮石斛是近年来最受欢迎的药用石斛种类之一, 其研究和生产受到广泛的关注, 主要分布于广东、广西、云南、贵州、浙江等地, 大多生长在炎热潮湿的热带、亚热带的岩石缝隙、悬崖峭壁间, 繁殖率很低<sup>[1-2]</sup>。依靠自然条件在繁殖珍稀植物和经济价值较高的植物, 受地理环境和季节的限制, 很难达到快速、高效繁殖的目的。通过组织培养这一技术手段和方法则能满足这一要求<sup>[3-4]</sup>。铁皮石斛通过组织培养获得再生植株的主要途径有两种: 一是用成熟的种子通过消毒处理, 以无菌萌发的方式产生种苗或原球茎, 增殖分化后发育成植株。二是诱导适宜外植体(茎段、茎尖、幼芽、叶片等)形成类原球茎或丛生芽来实现快速繁殖, 从而获得大量再生植株。因此, 对于野生条件下难以大量繁殖的铁皮石斛来说, 采用植物组织培养是其实现产业化生产的根本。

## 2 专利技术研究路线分析

1) 外植体的选择。铁皮石斛的组织培养常用的外植体有种子、原球茎、茎段、芽、叶片、根等。培养途径主要分为芽途径和愈伤组织途径。在选择外植体后, 通常要先对其进行无菌消毒步骤。如公开号为 CN101180949A 的中国专利公开了一种铁皮石斛茎尖组培快速繁殖的育苗方法, 其采用茎尖或芽尖作为外植体经过 70% 的乙醇溶液消毒 30~60s, 浓度为 0.1% 的升汞浸泡 6~10min 消毒后接种于无菌诱导培养基中培养 55~65d, 即可形成圆球茎, 采用茎尖组培技术培育的石斛苗, 遗传性状稳定, 其多糖和石斛生物碱含量与野生铁皮石斛相近。

2) 诱导、增殖、分化步骤培养基的优化。在诱导、增殖、分化步骤因选择的外植体不同, 培养途径不同, 所选择的激素种类也不相同。单独采用生长素或细胞分裂素、细胞分裂素和生长素混合使用、多种激素联用、有机物质的添加等均会对培养体系产生影响。一般情况下, 在诱导及增殖分化步骤常采用细胞分裂素和生长素联用的形式进行培养。如公开号为 CN105284625 A 的中国申请公开了一种铁皮石斛的新型育苗方法, 其采用生长旺盛、无病害的铁皮石斛健康植株的一年生茎段为外植体, 进行消毒后建立无菌体系, 用得到的无菌体系进行原球茎的诱导培养 30d 后, 将增殖的充分成熟的较大原球茎块切割成直径 3~8mm 的小块, 接种在芽分化培养基上在无菌条件下进行分化培养 45d, 将原球茎分化出的幼苗接种于生根培养基上, 其中诱导是采用

MS+2% 活性炭 AC 的基本培养基和 MS+1.0mg/L6-BA+0.5mg/LNAA+2g/LAC 激素进行诱导, 增殖培养采用 2,4-D 和 6-BA 激素, 分化采用的培养基为 MS+6-BA1.2mg/L+IBA0.2mg/L+2g/LAC。

3) 生根步骤培养基的优化。在铁皮石斛的生根培养过程中, 主要是基础培养基配合生长素使用进行生根培养, 在一定情况下, 会降低生根培养基中基础培养基的大量元素含量以促进生根。如公开号为 CN105028213 A 的中国申请公开了一种铁皮石斛的组培快繁方法, 其中生根培养采用 1/2MS++NAA0.2mg/L+IBA0.2mg/L++ 马铃薯泥 5%+香蕉泥 10%+糖 7.5%, 通过实施本发明, 种子萌发率高, 芽苗生产快, 污染低, 商品组培苗粗壮, 叶面展开, 根系发达, 成活率高。

4) 培养条件优化。铁皮石斛培养过程中需要一定光照、温度、湿度。在生根后, 需要炼苗, 并且移栽至使其适应生长的基质中进行生长, 形成完整芽苗。如公开号为 CN101822211 A 的中国申请公开了一种云南铁皮石斛的组织培养方法, 其采用温度为 25℃±2, 光照时间为 12 小时, 光照强度为 1000~2000μMm-2s-1 的条件, 并且在不定根诱导后, 将获得的再生小苗在自然光照、温度条件下放置 5~8d 后, 从生根培养基中取出再生小苗, 用自来水洗去培养基。然后, 将小苗移栽至树皮和砖块(按 4:1 混合)基质上, 并将其转移至温室中炼苗, 前 3~5 天根据天气、温度、基质湿度情况, 制定合适的浇水方案, 保持温室的光照强度为 200μMm-2s-1, 气温为 20~28℃, 相对湿度为 70%~100%, 其具有生长周期短、生产成本低、品质好、可规模化生产种苗的特点。

## 3 结语

随着人们对健康的要求度愈来愈高, 具备治疗、保养、恢复等作用的中药需求也随之增加。对于本文中的铁皮石斛而言, 因其生长环境要求苛刻, 成苗困难, 导致繁殖率很低, 很难满足于人们的实际需求。传统的人工繁殖方法如分株、扦插等, 增殖速度和繁殖效率非常低。因此, 寻找一种时间短、收益高的培养方法非常关键, 而采用组织培养快繁方法来解决野生铁皮石斛难以生长的问题是可行的。

## 参考文献:

- [1] 宋顺, 许奕, 李敬阳, 等. 铁皮石斛的组织培养与快速繁殖研究进展[J]. 中国农学通报, 2013, 29(33): 286-290.
- [2] 袁颖丹, 李志, 胡冬南, 等. 铁皮石斛组织培养研究进展[J]. 湖北农业科学, 2016, 55(1): 9-12.
- [3] 胡选萍. 我国植物组织培养研究进展[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(10): 4095-4097.
- [4] 梁称福. 植物组织培养研究进展与应用概况[J]. 经济林研究, 2005, 23(4): 99-105.