

铁皮石斛组培快繁技术研究*

谌红辉¹ 冯昌林¹ 吴天贵² 罗敦² 蓝玉甜² 刘世勇²

(1. 中国林科院热带林业实验中心 广西 凭祥 532600; 2. 广西雅长林场)

[摘要] 通过试验研究,探索出以无菌种子苗原球茎做外植体进行组培快繁技术。铁皮石斛原球茎最适宜分化增殖培养基为 MS+6-BA 0.5 mg/L+KT1.0 mg/L+NAA0.5 mg/L,增殖系数达 4.3。生根培养基经正交试验筛选为 1/2MS+NAA2.0 mg/L+IBA2.0 mg/L+6-BA0.03 mg/L,生根率可达 87%。铁皮石斛组培苗移栽时应注意调节环境因子与组培苗的生长关系,才能确保成活率。

[关键词] 铁皮石斛 组培快繁 外植体 分化增殖培养 生根培养

铁皮石斛(*Dendrobium Candidum* Wall. ex lindl.)为兰科多年生草本,属附生兰类。明代李时珍的《本草纲目》中记载:石斛除痹下气、补五脏虚劳羸瘦,强阴益精。久服,厚肠胃,补内绝不足。来胃气,长肌肉,益智除惊,轻身延年。道教医学经典《道藏》中,铁皮石斛名列中华“九大仙草”之首。我国野生的铁皮石斛资源主要分布在皖、浙、云、贵、川等地高山峻岭的悬崖峭壁和岩石缝隙中^[1]。由于铁皮石斛生长条件的特殊性和分布的局限性,又经长期采挖,自然资源濒临枯竭,国内市场供应紧缺,国际市场每千克干品价已达 1 000 美元以上。1987 年国务院将铁皮石斛列为重点保护的中药材之一。植物组培快繁技术是解决植物优良无性系用苗的良好途径^[2-5],为了保护这一珍贵植物天然资源,推广人工培植技术,我们对其

组培快繁技术进行了研究。

1 试验材料与方法

1.1 试验材料

铁皮石斛的繁殖材料(无菌种子苗)由广西雅长林场提供。

1.2 试验方法

1.2.1 铁皮石斛原球茎的诱导分化与芽增殖 将无菌种子苗的原球茎接种在不同生长素与分裂素不同浓度的分化增殖培养基上,以筛选增殖分化效果最佳的培养基。培养温度为 25~28℃,光照条件为 6~8 h/d。分化增殖试验培养基的配制采用正交设计,设计因子与水平见表 1。

表 1 增殖正交试验设计因子与水平

因 子	水 平				
	1	2	3	4	
1 MS	MS	1/2MS	1/3MS	1/4MS	
2 6-BA(mg/L)	0.5	1.0	2.0	3.0	
3 KT(mg/L)	0	0.1	1.0	2.0	
4 NAA(mg/L)	0	0.1	0.5	1.0	

1.2.2 组培苗的生根培养 苗芽增殖到一定数量后进行生根培养,生长调节剂选用 NAA、IBA、6-BA。根的诱导培养基的筛选也采用正交设计方法,设计因子与水平见表 2。

表 2 生根正交试验设计因子与水平

因 子	水 平				
	1	2	3	4	
1 MS	2/3MS	1/2MS	1/3MS	1/4MS	
2 NAA(mg/L)	0.5	1.0	2.0	4.0	
3 IBA(mg/L)	0.5	1.0	2.0	4.0	
4 6-BA(mg/L)	0	0.03	0.1	0.5	

1.2.3 生根苗的移栽 生根苗培养至高 3~5 cm 时开始移栽。移栽

前将培养瓶放置室外炼苗 7~10 d,然后取出洗净培养基,移植在装有泥炭土与苔藓的营养杯中。先在保温、保湿、弱光的情况下培育 20~30 d,再逐步过度到大棚育苗条件下培育。

2 结果与分析

2.1 原球茎芽的分化与增殖

无菌种子苗的原球茎外植体接种在分化增殖培养基上进行球茎的分化与增殖培养试验。40 d 后进行统计分析。计算分化繁殖系数(见表 3)。

表 3 正交试验原球茎的分化增殖系数

因 子	水 平				
	1	2	3	4	极差
1 MS	2.4	2.3	2.0	2.0	0.4
2 6-BA(mg/L)	2.5	2.7	1.9	1.4	1.3
3 KT(mg/L)	1.7	2.0	2.5	2.3	0.8
4 NAA(mg/L)	1.7	2.7	2.4	2.0	1.0

根据统计结果分析可知:6-BA 与 NAA 两种因子的极差较大,证明原球茎分化增殖效果对该两种激素浓度水平的变化极为敏感。根据正交试验设计的分析可得出 4 种增殖效果较好的水平组合:A (MS+6-BA0.5 mg/L+KT1.0 mg/L+NAA0.1 mg/L)、B (MS+6-BA 0.5 mg/L+KT1.0 mg/L+NAA0.5 mg/L)、C (MS+6-BA1.0 mg/L+KT1.0 mg/L+NAA0.1 mg/L)、D (MS+6-BA 1.0 mg/L+KT1.0 mg/L+NAA0.5 mg/L)。由于生物激素间的交互作用异常复杂,还不能按正交设计的统计方法肯定最佳水平的组合对苗木的增殖效果也一定最佳。为此,我们按以上 4 种

* 科技部公益项目:广西雅长兰科种子基因库营造与可持续利用。项目编号:2005 DIB6J114。

组合配制培养基又做了一次验证试验,结果 A、B、C、D 4 种培养基的繁殖系数分别为 3.3、4.3、2.2、2.7。由此可证,明铁皮石斛兰原球茎的分化增殖效果最佳培养基 B:MS+6-BA 0.5 mg/L+KT 1.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L。

2.2 铁皮石斛兰组培苗生根培养

表 4 正交试验生根率统计

因子	水平				极差
	1	2	3	4	
1MS	0.38	0.41	0.39	0.34	0.07
2 NAA(mg/L)	0.36	0.40	0.44	0.31	0.13
3 IBA(mg/L)	0.31	0.42	0.51	0.33	0.20
4 6-BA(mg/L)	0.36	0.41	0.52	0.27	0.25

为了寻找生根率较高的激素种类与配比,我们采用了 NAA、IBA、6-BA 3 种激素进行正交试验设计配制培养基(见表 2)。将组培芽苗接种入试验培养基 30 d 后统计生根率。根据表 4 的统计结果表明:IBA 与 6-BA 两种激素的极差较大,证明该两种激素为主要调节因子。根据正交试验的设计的统计分析方法,我们可以总结出 4 种较好的水平组合:A(1/2MS+NAA 2.0 mg/L+IBA 1.0 mg/L+6-BA 0.03 mg/L)、B(1/2MS+NAA 2.0 mg/L+

IBA 1.0 mg/L+6-BA 0.1 mg/L)、C(1/2MS+NAA 2.0 mg/L+IBA 2.0 mg/L+6-BA 0.03 mg/L)、D(1/2MS+NAA 2.0 mg/L+IBA 2.0 mg/L+6-BA 0.1 mg/L)。

为了消除各生长调节剂交互作用带来的影响,我们重新配制了以上 4 种培养基进行生根对比试验,结果 4 种生根培养基的生根率分别为:61%、67%、87%、76%。因此,我们可以选取生根效果较好的培养基 C 即:1/2MS+NAA 2.0 mg/L+IBA 2.0 mg/L+6-BA 0.03 mg/L。

2.3 铁皮石斛生根苗的移栽

铁皮石斛试管苗的移栽为组培苗繁育的最后一道程序。组培苗从异养过度到自养状态,移栽管护难度较大。因此在移植后应尽量调节好环境因素与组培苗的生长关系。待组培苗生长到 3~5 cm 高时将瓶苗放置在光照较强的地方炼苗 7~10 d,然后将苗取出洗净培养基,栽入装有泥炭土与苔藓混合基质的营养杯中,先在保温、保湿、弱光下缓苗 10~15 d,再逐步过渡到大棚培育。此间要定期喷施肥料与防治病虫害药剂,待苗丛生长稳定后便可种植。

3 小结

铁皮石斛原球茎分化增殖效果最佳的培养基为:MS+6-BA 0.5 mg/L+KT 1.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L,增殖系数可达 4.3。生根效果较好的培养基为:1/2MS+NAA 2.0 mg/L+IBA 2.0 mg/L+6-BA 0.03 mg/L,生根率达 87%。铁皮石斛组培苗移栽时应注意调节环境因子,使之与组培苗的生长相适应,才能确保成活率。

参考文献:

- 1 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.
- 2 王怀智,等. 通过组织培养繁殖木本植物. 植物组织培养与植树造林 [M]. 北京:科学技术出版社,1998.
- 3 陈正华,等. 木本植物组织培养及利用 [M]. 北京:高等教育出版社,1986.
- 4 桂耀林,等. 松树的组织培养. 经济植物组织培养与快速繁殖 [M]. 北京:中国农业出版社,1985.
- 5 曹孜义,刘国民,等. 林木组织培养及试管快繁. 实用植物组织培养技术教程 [M]. 兰州:甘肃科学技术出版社,1996. ★

(栏目责任编辑 张作芳)

丹红杨、巨霸杨——两颗璀璨的速生杨之星

丹红杨、巨霸杨是中国林科院培育成功的新一代速生抗虫杨良种,享受国家新品种保护权,具有特速生、易成活、抗病虫、干形直、耐水湿等优良性状,可成为我国黄淮、江淮等地营造速生丰产林和河道防护林的首选树种。

丹红杨、巨霸杨在苏北、豫北选育试验,幼树胸径年生长量 5.8 cm 和 6.5 cm,超过 69 杨 38%,单株材积超过 69 杨 1 倍有余,且生根快,特抗桑天牛;在湖北潜江对比观察,5 年生丹红杨胸径 30 cm,高 23 m,单株材积 0.58 m³,超过与之对比的 895、2025、中潜 3 号、鲁山杨等当代众多著名良种 40% 至 1 倍以上,且抗粉锈病、黑斑病、溃疡病,发芽早,落叶迟,成活好,耐水湿,树冠较小,干形通直,综合性状特别优异;在湖北多处规模化造林,3 年生丹红杨、巨霸杨胸径可达 20 cm 左右,4 年生最大 31 cm,最大胸径年生长量超过 10 cm。当地其它杨树均望尘莫及。巨霸杨早期优势更为显著,且为雄株,不飞絮。

湖北省潜江市林业技术推广中心刘锦军等人长期从事速生杨、速生环保法桐、红叶杨等引种推广工作,率先从中国林科院及其它科研部门引进了丹红杨、巨霸杨等几十个杨树新品种,现许多品种仍在观察中,并优先获得了丹红杨、巨霸杨种苗生产销售权,苗木品种纯正,可大量供应。欢迎社会各界参观指导,合作推广,迅速把林业科技成果转化为生产力。

咨询电话:0728-6951929 13307228262 13349717599 13507229262