

## 药用植物鹅毛玉凤花的组织培养与植株再生

陈娅娅<sup>1,2</sup>, 毛堂芬<sup>3</sup>, 李奇科<sup>1,2</sup>, 刘作易<sup>2,\*</sup>

<sup>1</sup>贵州大学生命科学学院, 贵阳 550025; <sup>2</sup>贵州省农业科学院<sup>2</sup>生物技术重点实验室, <sup>3</sup>生物技术研究所, 贵阳 550006

### Tissue Culture and Plantlet Regeneration of *Habenaria dentata* (Sw.) Schltr.

CHEN Ya-Ya<sup>1,2</sup>, MAO Tang-Fen<sup>3</sup>, LI Qi-Ke<sup>1,2</sup>, LIU Zuo-Yi<sup>2,\*</sup>

<sup>1</sup>College of Life Science, Guizhou University, Guiyang 550025, China; <sup>2</sup>Key Laboratory for Agricultural Biotechnology of Guizhou,

<sup>3</sup>Guizhou Biotechnology Institute, Guizhou Academy of Agricultural, Guiyang 550006, China

**1 植物名称** 鹅毛玉凤花 [*Habenaria dentata* (Sw.) Schltr.]。

**2 材料类别** 成熟种子。

**3 培养条件** 以 1/2MS 为基本培养基。(1)种子萌发培养基: 1/2MS+NAA 0.5 mg·L<sup>-1</sup> (单位下同)+0.2% 活性炭和 1/2MS+NAA 0.5; (2)增殖分化培养基: 1/2MS+ZT 5.0+NAA 0.2+0.2% 活性炭; (3)生根培养基: 1/2MS+NAA 0.1+6-BA 3.0+0.2% 活性炭。上述培养基均附加 3% 蔗糖和 0.8% 琼脂粉, pH 5.8~6.0。培养温度为(25±2) °C, 光照时间 12 h·d<sup>-1</sup>, 光照强度为 30~40 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>。

**4 生长及分化情况**

**4.1 种子的无菌播种及原球茎的获得** 将采集保存的野生鹅毛玉凤花未开裂蒴果先用 75% 的酒精进行表面消毒处理 20~30 s, 再用 0.1% 的升汞消毒灭菌 15 min 左右, 然后用无菌水冲洗 5~6 次, 用灭菌过的滤纸吸干表面水分; 用无菌的解剖刀将消毒处理好的蒴果纵向切开, 将其内部的细粉状种子均匀地撒播于培养基(1)上。培养 10 d 后, 在添加有活性炭的培养基上, 发育良好的种子开始膨大, 萌发形成白色的原球茎, 后逐渐长大, 表面出现白色的细绒毛; 而在没有活性炭的培养基中, 种子极少萌发, 萌发形成的原球茎表面无绒毛, 生长缓慢, 生长一段时间后产生死亡。种子的萌发是不同步的, 萌发形成的原球茎需要分步转接进行增殖。

**4.2 原球茎的增殖分化** 在原球茎未分化前将其转接到增殖培养基(2)上, 培养约 20 d, 白色原球茎分化出叶原基, 后长出叶片, 形成小苗; 培养 30 d 左右, 在小苗基部增殖新生成丛生原球茎, 后产生分化, 最后分化出丛生苗达 3~6 株; 随培养时间的延长丛生苗可达 10 株以上。

**4.3 苗的增殖生根** 将从生的小苗分成单株转接在固体培养基(3)上, 单株苗继续增殖成丛生苗; 同时发生根的不同步生长, 每株苗长有 1~3 条新根和 1~2 个椭圆形或长圆形的肉质块茎。后将丛生苗分株培养, 部分用于继代增殖, 部分用于炼苗种植。

**4.4 炼苗与移栽** 将长有新根和 2~3 片叶的小苗带培养瓶置室温条件炼苗 2~3 d, 然后揭开封口膜炼苗 2 d, 后用清水冲洗干净苗基部的培养基, 栽种到准备好的基质蛭石:腐殖土(2:1)上, 浇淋透水, 适当遮荫保湿 1 星期, 后按常规管理(喷药、浇水和营养液), 成活率达 80% 左右。

**5 意义与进展** 鹅毛玉凤花属兰科玉凤花属, 别名双肾参、双肾子、对对参等, 地生草本, 为国家二级重点保护野生植物, 主要分布于云南、四川、贵州、西藏、海南、广西等地区。以块茎入药, 具有补肺肾、利尿等功能, 主治肾虚腰痛、病后体虚、肾虚阳痿、疝气痛、胃痛、肺结核咳嗽、睾丸炎及尿路感染等。该植物生长缓慢, 对生态环境要求较为特殊; 主要以地下块茎进行繁殖, 1 株苗 1 个生长季只发生 1~2 个新的块茎, 1 个块茎仅萌发生长形成 1 棵植株, 繁殖系数极低; 在自然条件下, 植株开花结实率低, 且多数发育不良, 极难萌发成苗。长期以来民间均依靠采挖野生资源作为药用, 只挖不栽, 以致资源枯竭。采用组织培养技术可以周年培养鹅毛玉凤花无菌苗, 以供人工栽培, 本文结果对保护这一宝贵的中药材资源及其持续开发利用有一定的参考价值。鹅毛玉凤花的组织培养和植株再生尚未见报道。

收稿 2007-09-17 修订 2007-11-07

资助 贵州省优秀青年科技人才培养计划(200301)。

\* 通讯作者(E-mail: liuzuoyi@yahoo.com.cn; Tel: 0851-3761761)。