

选鞘石斛快繁育育苗技术的研究

付开聪 张雪梅 张绍云

云南省普洱市民族传统医药研究所, 云南 思茅 665000

【摘要】目的: 寻找选鞘石斛快繁育育苗的有效途径。方法: 采用组织培养和野生自然栖息的选鞘石斛诱导高位腋芽萌发等途径进行探索。结果: 在组织培养中, 改良 1/2MS 培养基对原球茎形成效果最好, 调整不同浓度的 N、P、K 及外源激素对诱导选鞘石斛原球茎的增殖、生根、壮苗极为明显; 外源激素对诱导选鞘石斛的高位腋芽萌发效果不明显, 高位芽萌发与茎株生理年龄和营养状况有关。结论: 人工种植选鞘石斛采用现代生物技术组培和腋芽繁殖是目前快繁育育苗的最有效途径, 不仅育苗量大、周期短, 且生长快、成活率高, 两条途径对于选鞘石斛的产业化发展有重要意义。

【关键词】选鞘石斛 组织培养 快繁育育苗 外源激素 高位芽

【中图分类号】R282.71; R917 **【文献标识码】**A **【文章编号】**1007-8517 (2008) 09-0022-04

Studies on technology of rapid propagation and grow seedlings for *Dendrobium aurantiacum* var *denneanum* (kerr) .Z.H.Tsi

Fu Kai-cong Zhang Xie-mei

(YunNan Puer of National and Traditional Chinese Medicine. Puer Yunnan 665000, China)

key words : *Dendrobium aurantiacum* var.*denneanum* (keer) Z.H.Tsi; tissue culture; rapid propagation and grow seedlings; exo-hormones; high bud

选鞘石斛 (*Dendrobium chrysanthum wall.ex Lindl.*) 为兰科石斛属植物, 主要分布于云南、广西、贵州等省, 被我国傣族民间使用, 被《Ch P (中国药典) [S] .2005 ed..Vol I.》收载入药的石斛中药材之一^[1]。味淡、性微寒, 有滋阴养胃, 清热解毒的功效, 在临床上多用于治疗慢性咽喉炎、眼科疾病、血栓闭塞性疾病, 效果十分明显。因此, 成为脉络宁、通塞脉片等著名中成药的主要原料之一, 由于过量挖采, 野生资源已经濒临灭绝而成为稀缺药材^[2]。为探索选鞘石斛快速育苗的最佳途径, 我们从 2004 年起开始采用组织培养、野生自然栖息的种源诱导高位芽等方法进行探讨, 取得了满意的效果, 现将结果报告如下, 以供同行参考。

1 设备、药品及材料

1.1 设备 组织培养的各种设备、实验苗床。

1.2 药品 硝酸铵、磷酸二氢钾、氯化钾、NAA (萘乙酸)、6-BA (6-苄基嘌呤)、GA (赤霉素)、IBA (吲哚丁酸) 等。

1.3 材料 2004 年 11 月 18 日采用普洱市民族传

统医药研究所石斛品种园中人工栽培的选鞘石斛为实验材料, 果实采用其成熟果实; 河沙经清洗干净。

2 方法与结果

2.1 组织培养

2.1.1 原球茎的培养 2004 年 11 月我们采用无菌播种的方法, 用马铃薯提取液制作 MS、1/2MS 等 8 种培养基, 每种 30 瓶, 外加 BA0.2-0.5mg/L 和 NAA0.5-1mg/L。结果多种培养基都能使选鞘石斛种胚萌发形成原球茎, 但不同培养基影响选鞘石斛形成原球茎的时间不同。其中, 改良 1/2MS 60d 可行成原球茎, 1/2MS 需要是 75d, 最长的需要 100d 以上。见表 1

2.1.2 N、P、K 比例的变化对选鞘石斛形成小苗的影响 根据我们对原球茎培养基的选择比较, 改良后的 1/2MS 生长速度最快, 因此就以该培养基为基本培养基, 总离子浓度为 1.77/1000。本实验所用的 N 主要是硝酸铵, P 主要是磷酸二钾, K 主要是氯化钾; 苗为以上培养的原球茎 30 瓶。结果: 在组培中缺 N、P、K, 选鞘石斛组培苗都不

表 1 选鞘石斛种子对培养基的选择

Table 1 Selection of medium for *Dendrobium aurantiacum var.denneanum (keer)*

培养时间 培养基	15d	30d	45d	60d	75d	90d	105d
MS	不变色	吸水膨大	黄白色	黄绿色	绿色桑果状	绿色小圆球 体	圆球体长出芽点, 形成圆球茎
1/2MS	吸水膨大	黄绿色	绿色桑果状	绿色小圆球 体	圆球体变为 原球茎	少数形成无 根 1-2 叶 状茎	部分淡绿色的茎, 多数仍是球茎
Miller	吸水膨大	黄绿色	绿色	绿色桑果状	绿色小圆球 体	圆球体变为 原球茎	少数形成无根 1-2 叶状茎
Nitsch	不变色	吸水膨大	黄绿色	绿色	绿色桑果状	绿色小圆球 体	圆球体变为原球茎
White	不变色	吸水膨大	黄绿色	绿色	绿色桑果状	绿色小圆 球体	
B5	不变色	吸水膨大	黄白色	黄绿色	绿色	绿色桑果状	绿色圆球体
N6	不变色	吸水膨大	绿色	绿色桑果状	绿色小圆球 体	圆球体变为 原球茎	
改良 1/2MS	吸水膨胀	黄绿色桑果 状	绿色小圆球 体	圆球体变为 原球茎			

能正常生长, 而缺 N、K 更严重; N、P、K 的比例以 2: 1: 3 最好; 2: 2: 3 和 3: 2: 2 次之; 高 N 或高 K, 低 P 也不行; 高 P 低 N、K 最差。见表 2

2.1.3 外源激素对选鞘石斛组培苗生长的影响
2.1.3.1 6-BA 及 NAA 对选鞘石斛组培苗生长的影响 根据张明等研究^[3]认为 6-BA 可以产生大量的丛生芽和曾宋君等人^[4]认为 6-BA 浓度超过 1.0mg/l 时, 对胚发育和成苗均起抑制作用; 低浓度的 NAA 对胚发育和成苗有促进作用。为了确定

束花组培苗在各个培养期对 6-BA、NAA 的最佳需要量, 我们分别用了每个浓度 30 瓶的培养基特做以下表 3 的实验。结果: 在选鞘石斛的培养过程中, 随着 6-BA 浓度的增加选鞘石斛发芽数也随着增加, 但过多的增殖小苗影响组培苗的质量 (植株变得非常瘦小), 在不需要增殖的时候可以不用和少用, 6-BA 浓度正常不超过 2.0mg/l, 浓度为 1.5mg/l 时, 发芽、生根和壮苗效果最好。NAA 浓度小于 1mg/l 时, 根细而小, 苗出瓶后成活率低;

表 2 不同 N、P、K 比例对选鞘石斛形成小苗的影响

Table 2 Effect of different proportion of N、P、K on *Dendrobium aurantiacum var.denneanum (keer)* seedling forming

培养时间	15d			30 d			45d		
根、茎、叶 变化	根增长 cm	茎增长 cm	叶增 加片	根增长 cm	茎增长 cm	叶增 加片	根增长 cm	茎增长 cm	叶增 加片
缺 N	0	0	0	0	0	0	0	0	0
缺 P	0	0	0	0.2	0.5	1	0.8	0.7	2
缺 K	0	0	0	0	0	0	0	0	0
N、P、K1:2:3	0.2	0.3	1	0.4	0.5	1	1	0.9	2
N、P、K2:2:3	0.1	0.1	1	0.6	0.8	2	1.1	2	3
N、P、K2:1:3	0.4	0.5	1	0.5	0.8	2	1.2	2.3	3
N、P、K3:2:2	0.2	0.2	1	0.4	0.5	1	2	1.8	3
N、P、K3:2:1	0.1	0.2	0	0.4	0.5	1	1.6	0.6	1
N、P、K2:3:1	0.2	0.3	0	0.3	0.6	1	1	0.9	2

表3 在相同培养基中用不同浓度 NAA 和 6-BA 对幼苗生长的影响

Table 3 Effect of different concentration of NAA and 6-BA on *Dendrobium aurantiacum var. denneanum* (keer) seedling growing

项目	发芽数 (个)	株高 (cm)	根数 (条)	叶片数 (片)	备注
6-BA 浓度 (mg/l)					
CK	1.8	1.3	1.2	1.8	
0.1	2.1	1.17	4.2	1.2	
0.5	2.8	1.2	1.2	1.7	
1	2.91	1.2	1.45	1.1	
1.5	2.66	1.08	4.00	1.8	
2	3.00	1.37	3.4	1.1	
2.5	2.83	1.05	2.6	1.65	
3	3.2	1.3	1.4	1.14	
4	3.4	1.63	3.4	3.18	
4.5	5.2	1.74	5.6	2.5	
NAA 浓 (mg/l)					
CK	6.9	1.79	9.7	3.71	
0.1	6.47	1.97	16.9	4.12	
0.5	8.1	1.24	19.38	1.91	
1	11.00	2	21.33	1.65	
1.5	2.2	2.4	15.00	4.4	
2	3.00	1.38	9.5	4.5	
2.5	3.8	3.5	12	4.8	
3	6.3	2.9	18.4	4.8	
3.5	9.33	1.02	21.33	1.07	
4	5.6	2.04	12.6	3.79	

(注:表中各组发芽数以平均值记)

NAA 浓度大于 2mg/l 时,根过度粗壮,甚至出现肉质根;NAA 浓度等于 4mg/l 时,有少量愈伤组织出现;NAA 浓度正常在 1mg/l 至 2mg/l 之间,浓度为 1.5mg/l 时,发芽、生根和壮苗效果最好。见表 3

2.2 高位腋芽培养实验

2005 年 5 月 6 日~2006 年 1 月 6 日,我们利用选鞘石斛有隐腋芽存在,一定条件下可以萌发形成高位芽,并生长成根茎叶齐全的小植株的特性,从各角度做了以下实验,探索促进高芽萌发的基本方法。

2.2.1 根据选鞘石斛合轴生长的特性,分别选取 1~6 年生茎株各 10 株(不剪段),按年龄分为 6 组,置于沙床上,室温、60~90%空气湿度,经各种处理后,进行表 4 实验培养 120d。结果在同等条件下 3 年生的植株发芽效果最好;4 年生的次之;2 年生、5 年生和 6 年生的最差。

2.2.2 将 3 年生茎株每 3 个节剪为一段,10 段为一组置于沙床上,室温、60~90%空气湿度,进行表 4 实验培养 120d。结果剪断后发芽大大降低,外源激素处理后效果并不明显。

2.2.3 将野生自然栖息的种苗整丛(平均 7 根茎株为 1 丛)地置于沙床上,室温、60~90%空气湿度,进行表 4 实验培养 120d,结果整丛平均发芽数低于 3 年生植株高位芽发芽数,外源激素对野生种源的侧芽萌发无明显效果。见表 4

3 讨论

3.1 本实验从选鞘石斛组培育苗和野生自然栖息的植株高位芽增殖两条途径进行探索,结果在组织培养中,调整不同的 N、P、K 及外源激素对诱导选鞘石斛原球茎增殖、生根、壮苗效果极为明

表 4 不同年龄完整茎株、剪段培养和整簇培养对高位芽产生的影响

Table 4 Effect of different age of complete branch or branch segment and complete plant on high bud forming

项目	CK 组	0.1% NAA	0.5% 6-BA	0.25% GA	0.1% IBA
1 年生每株平均发芽数	0	0	0	0	0
2 年生每株平均发芽数	1.8	1.6	1.9	2	1.3
3 年生每株平均发芽数	4.5	4.1	4.5	4.7	4.4
4 年生每株平均发芽数	3.4	3.3	4	3.5	2.8
5 年生每株平均发芽数	1.1	1.5	1.3	1	1.2
6 年生每株平均发芽数	0.2	0.3	0.2	0.4	0.2
剪段每组总发芽数	11	15	13	10	12
每段平均发芽数	1.1	1.5	1.3	1.0	1.2
整簇总发芽数	20	19	21	18	18
每株平均发芽数	2.8	2.7	3	2.6	2.6

民间药用 4 种胡枝子的花粉形态研究

红霞¹ 音扎布² 高艳春² 王振兴²

1. 内蒙古食品药品检验所, 内蒙古 呼和浩特 010020;

2. 内蒙古师范大学生命科学与技术学院, 内蒙古 呼和浩特 010010

【摘要】目的: 为胡枝子属药用植物的鉴定提供孢粉学依据。方法: 对胡枝子、达乌里胡枝子、多花胡枝子和尖叶胡枝子的花粉进行了光学显微镜 (LM) 和扫描电子显微镜 (SEM) 的观察。结果: 花粉粒大小、萌发孔特征等方面 4 种之间具有明显差别。结论: 4 个药用植物可通过以上研究结果加以鉴别。

【关键词】民间药用 胡枝子 花粉形态

【中图分类号】R282.71; R284.1

【文献标识码】A

【文章编号】1007-8517 (2008) 09-0025-03

胡枝子属 (*Lespedeza Michx.*) 隶属于豆科 (*Leguminosae*), 全世界约有 60 余种, 分布区域较广, 横跨太平洋形成东亚-北美洲间断分布, 向北可达亚寒带, 寒带边缘, 向南可到澳大利亚^[1]。现知我国有 26 种 (不包括种下等级), 南北均产^[2]。对于胡枝子属植物的药用价值, 人们早有认识, 在民间广为应用^[3]。从本属植物中已分离鉴定的化学成分包括黄酮、生物碱、三萜、甾醇类等有机物质^[4]。研究资料表明, 胡枝子 (*L. bicolor*) 叶中的总黄酮对肾功能不全具显著疗效; 胡枝子 (*L. bicolor*) 叶的总黄酮提取物对致炎剂角叉菜胶、琼脂、右旋糖酐、甲醛等引起的炎症有对抗作用;

还有, 采用热板法研究表明, 胡枝子 (*L. bicolor*) 和尖叶胡枝子 (*L. juncea*)^[5] 地上部分总黄酮具有止痛作用; 多花胡枝子 (*L. floribunda*) 根入药, 味涩, 性凉, 消积, 健脾, 补虚。达乌里胡枝子 (*L. daurica*) 全草入药, 味辛, 性温, 益肝明目, 解毒散寒, 止咳。笔者对上述 4 种植物的花粉进行了光学显微镜 (LM) 和扫描电子显微镜 (SEM) 的观察, 旨在为胡枝子属药用植物的生药鉴别提供孢粉学方面的依据。

1 实验材料与方法

1.1 花粉材料取自内蒙古各大院校标本室的腊叶标本和中国农科院草原研究所标本室的腊叶标本,

显; 外源激素对诱导选鞘石斛的高位芽萌发效果不明显。

3.2 组培快繁是选鞘石斛快速育苗的重要途径, 具有速度快, 数量大的优点, 但组培成本高, 技术复杂, 组培苗移栽后生长周期长, 推广难度大。实验证明, 当外源激素 6-BA、NAA 浓度不超过 2.0mg/l 时, 对选鞘石斛的胚发育和成苗有促进作用, 浓度为 1.5mg/l 时, 对发芽、生根和壮苗效果最佳, 激素浓度比有关文献的报道略高, 可能是束花组培的特点; N、P、K 为选鞘石斛形成小苗不可缺少, 比例为 2: 1: 3 时效果最好。

3.3 利用选鞘石斛茎株上具有隐腋芽的特性, 进行了高位芽培植实验, 该法操作简单, 并且大大缩短了育苗周期, 降低了成本。实验结果发现在同等条件下 3 年生的枝条发芽效果最好; 4 年生的次之; 2 年生、5 年生和 6 年生的最差。而剪断后

发芽率比例比整丛培养更差。

3.4 组培和腋芽繁殖都是选鞘石斛快繁育苗的有效途径, 各有优缺点, 本文只做了初步的探索, 大量的工作还有待进一步完善。根据实际情况, 合理应用组培和高位芽培植两条途径快繁育苗, 对于选鞘石斛人工产业化发展有重要意义。

参考文献

- [1] Ch P 中国药典 [S]. 2005 ed., Vol 1.
- [2] Xu H, Wang Z G, Ding J Y, et al. General aspect of biotechnology about medical *Dendrobium* [J]. *Chin Wild Plant Resour* [J]. 中国野生植物资源. 2001, (1): 1-4.
- [3] Zhang M, Xia H X. Advances in research of tissue culture for *Dendrobium* China J Chin Mater Med [J]. 中国中药杂志, 2000, 25 (6): 325.
- [4] Zeng S J. Embryo culture and propagation of *Dendrobium* in vitro. *Acta Horticulture Sinica* [J]. 园艺学报. 1998, 25 (1): 77.

(收稿日期: 2008.7.10)