

铁皮石斛人工种子制作流程及发芽研究

中国医学科学院药用植物研究所(北京 100094) 郭顺星* 曹文芬 张集慧 徐锦堂

摘要 以原球茎为材料,建立了铁皮石斛 *Dendrobium candidum* 人工种子的初步制作流程。以改良 1/2MS 培养基各种成分附加蔗糖为人工胚乳的人工种子存活率、发芽率、成苗最好,其发芽率可达 80% 以上。

关键词 铁皮石斛 人工种子 发芽

近年来利用植物体细胞胚制作人工种子的研究,已成为植物繁殖研究的一个重要领域。植物人工种子作为一项新兴的生物工程技术,在植物培养材料的快速繁殖、保藏、运输等方面,展示了广阔的应用前景。我国在植物人工种子的研究方面也取得了较大进展^[1~3],已在粮食、蔬菜及药用植物方面进行了研究和应用。铁皮石斛是兰科中名贵药用植物,自然条件下生长缓慢,试管无菌移栽成活率低。本试验以原球茎为材料,初步研究了经包埋制成人工种子流程及在半自然条件下的萌发特点,为铁皮石斛的快速繁殖、扩大生产提供参考。

1 材料和方法

铁皮石斛 *Dendrobium candidum* 系体细胞培养过程中形成的原球茎,选未形成苗、健壮、个体大小基本一致的原球茎为实验材料。

人工种子的种皮成分为 3% 海藻酸钠和 2% CaCl₂; 人工胚乳的组成为改良的 1/2MS 培养基各种成分加其它物质,根据要求具体设置以下处理:a) 仅用 3% 海藻酸钠包埋(对照); b) 改良的 1/2MS 培养基为基本培养基; c) 基本培养基 + 2mg/LGA₃; d) 基本培养基 + 3% 蔗糖; e) 基本培养基 + 3% 麦芽糖。

分别取实验各处理按 3% 比例加入海藻酸钠粉末,混合加热使成溶胶状态即包埋剂。灭菌冷却后,将生长一致的铁皮石斛原球茎

与包埋剂分别混合。然后用予制好的吸管分别取带原球茎的液滴(每滴 1 粒原球茎),滴入 2% CaCl₂ 溶液中,放置 15~20min 即可形成白色半透明的包埋丸。将包埋丸取出放入无菌水中浸洗 3~4 次(约 15min)。

将人工种子分别置于两种器皿中培养:一是铺有海绵的培养皿中,加适量无菌水,然后将适量包埋丸放入皿中海绵上,每处理重复 3 皿;二是将包埋丸适量置于含 1% 的琼脂胶三角瓶中,每处理重复 2 瓶。操作完后将上述 4 瓶置 25℃, 12h/d 光照下进行萌发试验。

2 结果

2.1 不同处理对人工种子成活率的影响:在同一水平上,即原球茎大小、健壮基本一致的情况下,铁皮石斛人工种子胚乳附加不同物质对种子存活率有较大影响。从表 1 可以看出,培养 34d 时存活率以基本培养基 + 蔗糖处理为最好,顺序为基本培养基 + 蔗糖(存活率 95.5%) > 基本培养基 + 麦芽糖(64%) > 对照(42%) > 基本培养基(22%)。除个别培养皿或瓶污染杂菌外,采用培养皿、瓶培养人工种子其成活率差异不大(表 1)。

2.2 不同处理对人工种子发芽率的影响:从表 2 可以看出,不加任何营养仅用海藻酸钠包埋的原球茎也可发芽,只要给予适当环境条件,铁皮石斛原球茎容易萌发,但进一步生

* Address: Guo Shunxing, Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing

表 1 不同处理对铁皮石斛人工种子存活率的影响

处理	播 种 数 (粒)	培养 10d		培养 16d		培养 27d		培养 34d		
		成活数 (粒)	成活率 (%)	成活数 (粒)	成活率 (%)	成活数 (粒)	成活率 (%)	成活数 (粒)	成活率 (%)	
对照	皿	53	40	75.5	34	64.2	18	34.0	16	30.2
	瓶	19	14	73.7	14	73.7	9	47.4	8	42.1
基本培养基+蔗糖	皿	44	42	95.5	43	97.7	42	95.5	42	95.5
	瓶	29	24	82.8	24	82.8	24	82.8	22	75.9
基本培养基+麦芽糖	皿	45	41	91.1	38	84.4	34	75.6	24	53.3
	瓶	39	33	84.6	30	76.9	29	74.4	25	64.1
基本培养基+GA ₃	皿	48	36	75.0	34	70.8	21	43.8	18	37.5
	瓶	27	19	70.4	17	63.0	7	26.0	6	22.2
基本培养基	皿	41	16	39.0	15	36.6	11	26.8	9	22.0
	瓶	22	16	72.7	13	59.1	11	50.0	4	18.2

注:人工种子以原球茎变黑褐色为死亡统计

表 2 不同处理对人工种子发芽率的影响

处理	播 种 数 (粒)	培养 10d		培养 16d		培养 27d		培养 34d		
		发芽数 (粒)	发芽率 (%)	发芽数 (粒)	发芽率 (%)	发芽数 (粒)	发芽率 (%)	发芽数 (粒)	发芽率 (%)	
对照	皿	53	11	20.8	16	30.2	16	30.2	16	30.2
	瓶	19	2	10.5	5	26.3	5	26.3	5	26.3
基本培养基	皿	41	1	2.4	1	2.4	4	9.8	5	12.2
	瓶	22	1	4.5	3	13.6	3	13.6	3	13.6
基本培养基+蔗糖	皿	44	16	36.4	27	61.4	35	79.5	36	81.9
	瓶	29	10	34.5	17	58.6	19	65.6	20	69.0
基本培养基+麦芽糖	皿	45	7	15.6	15	33.3	18	40.0	18	40.0
	瓶	39	7	18.0	11	28.2	11	28.2	14	35.9
基本培养基+GA ₃	皿	48	10	20.8	14	29.2	14	29.2	14	29.2
	瓶	27	4	14.8	6	22.2	6	22.2	6	22.2

长受到限制。随着培养时间的延长,基本培养基+蔗糖的人工种子发芽率逐渐增高,34d时可达80%以上。以基本培养基制成的人工种子发芽率最低在13%左右。从不同培养器皿对发芽率的影响分析,铺有海绵的培养皿有利于铁皮石斛人工种子的发芽,可能是水分和人工种子直接接触及空气充足的缘故。从GA₃对人工种子萌发的作用看,激素对种子萌发无促进作用,因为该处理的人工种子发芽率比无任何营养的对照种子发芽率还低。

2.3 不同处理的人工种子萌发形成苗的观察:铁皮石斛人工种子较易萌发,但不同处理对萌发后形成苗的影响较大。以叶片数和叶片长度为指标(表3),基本培养基+蔗糖处

理的人工种子,不但萌发率高,而且成苗整齐一致。培养10d左右,萌发的原球茎可形成1~2片叶;培养16d时,叶片数在3片以上,34d时叶片最长可达6mm以上。除上述处理以及基本培养基+麦芽糖制成的人工种子有1~2片叶形成外,其余处理均形成幼苗数少、叶片生长缓慢。

表 3 培养 34d 时不同处理的人工种子萌发后叶长观察

观察项目	对照	基本培养基	基本培养基+蔗糖	基本培养基+麦芽糖	基本培养基+GA ₃
叶长(mm)	2.0	1.5	5.3	3.5	2.3

注:叶长取各叶片长度的平均度

3 讨论

从实验结果分析,铁皮石斛人工种子制作简单、且较易萌发。但人工胚乳成分的差异

仍对其存活、萌发及幼苗生长有较大影响。从实验结果可以看出,蔗糖对铁皮石斛人工种子的发芽和成苗有利,这为较大规模培养及深入研究铁皮石斛人工种了打下了基础。如前所述本试验仅是对该种药用植物人工种子的初步探索,仍有许多问题需要深入研究,如获得同步生长的原球茎;防止含糖等营养物质的人工胚乳所引起人工种子污染杂菌;控

制人工种子内营养物质的流失;培养条件及发芽后的管理等。

参 考 文 献

- 1 郭仲琛,等. 植物学通报,1988,5(1):5
- 2 李修庆. 植物学报,1989,31(9):673
- 3 柯善强,等. 植物学通报,1989,6(1):16
- 4 郭顺星,等. 中草药,1990,21(8):29
- 5 郭顺星,等. 中国医学科学院学报,1991,13(1):46
(1994-08-15 收稿)

Studies on the Preparation Process and Germination of White *Dendrobium* (*Dendrobium candidum*) Artificial Seeds

Guo Shunxing, Cao Wenqin, Xu Jintang

Process for the preparation of artificial seeds of *Dendrobium candidum* was established by using the somatic embryos of this plant. Experimental result showed that 1/2MS medium supplemented with sucrose was suitable to induce germination and seedling of *D. candidum* artificial seeds. The germination rate was over 80%.

川 芎 间 种 作 物 试 验

四川中医药研究院药物种植研究所(南川 648408) 孟中贵* 谢德明 张兴翠
黄正方 韦会平

摘 要 介绍了川芎与大蒜、窝笋、小麦等作物进行间作的试验情况,认为川芎与大蒜间作效果最好,可使土地利用率高 26%~28%;川芎与窝笋间作也可使土地利用率高 20%~22.5%;川芎与小麦间作效果不理想。

关键词 川芎 间作 试验

川芎 *Ligusticum chuanxiong* Hort. 为伞形花科多年生草本植物,以地下块茎入药,能活血行气,祛风止痛、治头痛、胸肋痛、经闭腹痛、风湿痛、跌打损伤诸症,为川产道地药材,享誉国内外。它主产于四川都江堰市、崇庆县、新都县等地,常年栽培面积 $2.001 \times 10^5 \text{hm}^2$ 以上,是平坝地区栽培面积最大的药材之一。但传统的栽培方法(净作)土地利用率低、生产产值不高,限制了川芎生产发展。为解决这些问题。我们在 1990~1992 年按照间作栽培的原理和技术原则,开展了川芎间

作试验,结果如下。

1 试验设计

1.1 间种作物的选择:按照间作栽培的原理和要求我们先后选择的间种作物有秋黄豆(成豆 4 号)、大蒜(地方种)、窝笋(地方种)、小麦(绵阳系)等。

1.2 田间种植方式:按传统厢式栽培,厢面上按 2.5:1 和 3:1 模式分宽窄行,窄行内种川芎,宽行内间种作物。川芎种植密度按净作 2.5:1 和 3:1 模式种植密度不变,间种作物在宽行中单行窝播,株距为大蒜

* Address: Meng Zhonggui, Institute of Medicinal Plants Cultivation, Sichuan Provincial Institute of Traditional Chinese Medical and Materia Medica, Nanchuan