

龚建英,王华新,陈宝玲,等. 3 种观赏石斛蒴果特征及无菌播种萌发的影响因素[J]. 江苏农业科学,2015,43(1):184-186.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.01.065

# 3 种观赏石斛蒴果特征及无菌播种萌发的影响因素

龚建英<sup>1</sup>, 王华新<sup>1</sup>, 陈宝玲<sup>1</sup>, 陈 尔<sup>1</sup>, 李永霞<sup>1</sup>, 王珠娜<sup>2</sup>

(1. 广西壮族自治区林业科学研究院,广西南宁 530002; 2. 河南省郑州市林业局,河南郑州 450015)

**摘要:**针对大苞鞘石斛、肿节石斛、报春石斛在引种地进行人工辅助授粉,蒴果存在假膨现象、种子量少、种胚发育不良、无菌萌发率低等问题,对这 3 种石斛蒴果特征及无菌播种萌发影响因素进行研究。结果表明,大苞鞘石斛、肿节石斛、报春石斛 3 种观赏原茎颜色为绿色或深绿色,石斛蒴果适宜的采摘时间为 150 d;采用 MS 培养基,添加浓度为 0.05~0.40 mg/L 6-BA 和有机添加物椰汁有利于提高种子的萌发率,萌发率最高达 90%,种子萌发时间缩短为 8~14 d。

**关键词:**观赏石斛;蒴果特征;无菌播种;萌发因素

**中图分类号:** S682.310.4 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)01-0184-03

石斛是我国兰科植物石斛属(*Dendrobium*)植物的总称,全世界有 1 500~1 600 个原生种,我国正式发表和鉴定的石斛兰种类有 81 种<sup>[1]</sup>。石斛是传统的名贵中药,也是重要的花卉植物,在石斛属植物野生种中约有 1/4 可供观赏,石斛兰是兰科植物中观赏价值较高的四大名兰之一。大苞鞘石斛(*Dendrobium wardianum* Warner)花径大,唇盘具紫黑色斑眼;肿节石斛(*Dendrobium pendulum* Roxb)节肿大,呈优美的算珠状;报春石斛(*Dendrobium primulinum* Lindl)花瓣浅紫色,具有飘逸美感,均是观赏价值很高的石斛种类<sup>[2]</sup>。然而,由于长期采挖,多种石斛原生种已濒临灭绝。目前,针对这 3 种观赏石斛的研究主要集中在组织培养和快速繁殖,如陈娜等对大苞鞘石斛种子离体萌发培养及萌发过程的形态变化进行研究<sup>[2-3]</sup>,霍丽丽等对肿节石斛的无菌播种和快速繁殖技术进行试验<sup>[4]</sup>,李媛等以肿节石斛和报春石斛茎段为外植体,进

行组培和离体快繁技术研究<sup>[5-6]</sup>。有关 3 种观赏石斛在引种地种胚发育不良、无菌播种萌发率低的影响因素缺乏系统研究。

笔者早期研究表明,大苞鞘石斛、肿节石斛、报春石斛在引种地经人工辅助自交授粉能坐果,但存在假膨现象,种胚发育不良,种子含水率高、呈团粘连,无菌播种萌发率低,甚至不萌发。为更好地保护和利用野生石斛资源,笔者从广西、云南、海南等地引进大苞鞘石斛、肿节石斛、报春石斛原生种进行迁地保护,并进行人工辅助自交授粉,对观赏石斛蒴果特征及无菌播种萌发的影响因素进行研究,以期利用种子进行无菌播种、扩大繁殖,获得大量的观赏石斛遗传材料和种苗。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

将大苞鞘石斛、肿节石斛、报春石斛采集引种至广西壮族自治区林业科学研究所园林花卉研究所种质创新试验区,经人工辅助自交授粉,获得蒴果。

### 1.2 方法

1.2.1 蒴果测量 以直尺测定蒴果纵径,以游标卡尺测定蒴果横径,膨大率按蒴果横径与纵径的比值计算。

1.2.2 蒴果灭菌 选取 3 种观赏石斛蒴果,去除宿存花被;

理,养分越集中,越有利于芽的萌发和果枝的形成及新梢的生长,所以夏黑葡萄适宜短梢修剪,即二芽修剪。

### 参考文献:

- [1] 陶建敏. 葡萄新品种及高效生产新技术[M]. 南京:江苏人民出版社,2006:59.
- [2] Girard B, Fukumoto L, Mazza G, et al. Volatile terpene constituents in maturing Gewurztraminer grapes from British Columbia[J]. J Enol Vitic, 2002, 53(2): 99-109.
- [3] 杨晓盆, 翟秋喜, 张国强, 等. 不同架式温室葡萄冠位叶片及叶绿体结构的变化[J]. 中国农学通报, 2007, 23(3): 332-335.
- [4] 王振平, 王文举, 罗权雄. 设施葡萄单古约特(L 形绑缚)改良型整枝技术[J]. 北方园艺, 2007(5): 100-101.

收稿日期:2014-03-11

基金项目:广西自然科学基金(编号:2011GXNSFB018039);广西林业科技专项(编号:桂林科字[2010]第一号);广西林业科学院基本科研业务费专项(编号:林科 201425 号)。

作者简介:龚建英(1978—),女,广西三江人,硕士,工程师,主要从事园林花卉研究。E-mail:282305221@qq.com。

病主要使用 25% 嘧菌酯悬乳剂 1 500 倍液、50% 烯酰吗啉可湿性粉剂 2 000 倍液防治。

## 11 实施效果

本栽培方式对夏黑葡萄茎干增粗及花芽分化作用比常规棚架栽培方式明显,成熟期较常规栽培方式提前 1 周,单果质量也明显提高,可溶性固形物含量、花青苷含量显著提高,可滴定酸含量有所下降,说明葡萄果实品质优于常规棚架栽培方式。

二芽修剪后,萌芽率达 86.2%,果枝率达 78.7%,其萌芽率、果枝率及新梢的平均长度和粗度均显著大于常规中长梢修剪,这是由于留芽数越少,越能充分利用养分就近供应原

用 75% 乙醇擦拭表面,2% HgCl<sub>2</sub> 消毒 5 min,无菌水冲洗 5 ~ 6 次,备用。

1.2.3  无菌播种  无菌条件下,用镊子将种胚均匀撒播(或点播)于各种培养基上,在光照强度为 2 000 ~ 3 000 lx、温度为(24 ± 1) ℃、光照时间为 10 ~ 12 h/d 条件下,离体培养 60 d,统计种胚萌发率。萌发率按萌发面积占培养面积的百分比计算。

1.2.4  试验设计  研究不同培养基(MS、1/2MS、花宝 1 号、花宝 2 号、N<sub>6</sub>)、激素种类和浓度(0.2 mg/L NAA,0.05、0.10、0.20、0.40、0.80 mg/L 6 - BA)、不同有机添加物(马铃薯、苹果、香蕉、椰汁)、果龄(90、150、270、360、390 d)对 3 种石斛种

胚萌发的影响。

2  结果与分析

2.1 3 种观赏石斛成熟蒴果及种子特征

由表 1 可见,大苞鞘石斛蒴果最长,果皮灰绿色,棱不明显,种子呈灰白色,量少,极少数分散,多数发育不良呈海绵状粘连;肿节石斛蒴果膨大率最高,果实饱满,果皮绿色,具明显的三棱,种子呈白色,量少,极少数分散,多数发育不良呈海绵状粘连;报春石斛膨大率最低,果皮深绿色,棱不明显,种子呈黄色,量极多,含水量大,呈团状粘连。

表 1  3 种观赏石斛成熟蒴果及种子特征

品种名称	蒴果						种子		
	形状	颜色	棱特征	横径(cm)	纵径(cm)	膨大率	颜色	数量	特征
大苞鞘石斛	长椭圆形	灰绿色	不明显	2.10	5.4	0.39	灰白色	少	呈海绵状粘连
肿节石斛	椭圆形	绿色	具三棱	2.23	4.0	0.56	白色	少	呈海绵状粘连
报春石斛	长椭圆形	深绿色	不明显	1.42	4.5	0.32	黄色	多	呈团状粘连

2.2 3 种观赏石斛无菌播种萌发的影响因素

2.2.1  基本培养基对 3 种石斛种胚萌发的影响  由表 2 可见,大苞鞘石斛、肿节石斛、报春石斛种子在 MS、1/2MS、花宝 1 号、花宝 2 号及 N<sub>6</sub> 培养基上均能萌发,MS 培养基萌发效果最好,种子萌动时间为 8 ~ 12 d,萌发率为 65% ~ 85%,原球

茎颜色为深绿色;1/2MS 和花宝 2 号次之,种子萌动时间为 12 ~ 14 d,萌发率为 60% ~ 80%,原球茎颜色为绿色至深绿色;花宝 1 号和 N<sub>6</sub> 培养基稍差,种子萌动时间为 15 ~ 20 d,萌发率为 50% ~ 65%,原球茎颜色为浅绿色至绿色。

表 2  基本培养基对 3 种观赏石斛种胚萌发的影响

基本培养基	大苞鞘石斛			肿节石斛			报春石斛		
	原球茎颜色	种子萌动时间(d)	萌发率(%)	原球茎颜色	种子萌动时间(d)	萌发率(%)	原球茎颜色	种子萌动时间(d)	萌发率(%)
MS	深绿色	12	75	深绿色	12	65	深绿色	8	85
1/2MS	深绿色	14	70	绿色	14	60	深绿色	12	80
花宝 1 号	绿色	18	60	浅绿色	20	50	绿色	15	60
花宝 2 号	绿色	14	70	绿色	14	60	绿色	12	75
N <sub>6</sub>	绿色	18	65	浅绿色	20	55	绿色	15	65

注:培养基中共同添加 0.5 g/L 活性炭、2.0 g/L 蛋白胨、25 g/L 蔗糖、4.2 g/L 琼脂粉、100 g/L 马铃薯、0.2mg/L 6 - BA。

2.2.2  激素种类和浓度对 3 种石斛种胚萌发的影响  由表 3 可见,与对照相比,MS 培养基中添加适宜浓度的激素可明显提高 3 种观赏石斛种胚的萌发率,缩短种子萌动时间;添加 0.05 ~ 0.40 mg/L 6 - BA 效果最佳,10 ~ 14 d 种子萌发变绿,种子萌发率最高可达 88%;6 - BA 使用浓度增加至 0.8 mg/L,种

子萌发率最高为 92%,但原球茎颜色变为黄绿色;添加生长素 NAA 对种胚萌发促进效果不明显,种子萌动时间长,需 20 ~ 25 d,种子萌发率为 40% ~ 60%,原球茎颜色为黄绿色;不添加任何激素的培养基配方,种胚萌发率低至 20% ~ 50%,甚至不萌发(肿节石斛)。

表 3  激素种类和浓度对 3 种观赏石斛种胚萌发的影响

激素名称	浓度(mg/L)	大苞鞘石斛			肿节石斛			报春石斛		
		原球茎颜色	种子萌动时间(d)	萌发率(%)	原球茎颜色	种子萌动时间(d)	萌发率(%)	原球茎颜色	种子萌动时间(d)	萌发率(%)
NAA	0.20	黄绿色	25	50	黄绿色	25	40	黄绿色	21	60
6 - BA	0.05	深绿色	14	70	绿色	14	65	深绿色	12	85
6 - BA	0.10	深绿色	14	75	深绿色	14	65	深绿色	12	85
6 - BA	0.20	深绿色	12	80	深绿色	12	70	深绿色	10	88
6 - BA	0.40	绿色	12	80	绿色	12	75	绿色	10	88
6 - BA	0.80	黄绿色	10	85	黄绿色	10	75	黄绿色	8	92
CK	0	浅绿色	30	20	—	—	—	绿色	21	50

注:在 MS 培养基中共同添加 0.5 g/L 活性炭、2.0 g/L 蛋白胨、25 g/L 蔗糖、4.2 g/L 琼脂粉、100 g/L 马铃薯。

2.2.3 不同有机添加物对 3 种石斛种胚萌发的影响 由表 4 可见,不同的有机添加物对 3 种观赏石斛种胚萌发效果影响明显,以椰汁的萌发效果最佳,种子萌动时间短,为 7 ~ 10 d,萌发率高,为 80% ~ 90%,原球茎颜色为绿色;马铃薯和

香蕉次之,种子萌动时间为 10 ~ 15 d,萌发率为 65% ~ 85%,原球茎颜色为绿色至深绿色;苹果对种子萌发效果最差,萌发率低,为 20% ~ 70%,萌发所需时间长,为 18 ~ 21 d,原球茎颜色为淡黄色。

表 4 不同有机添加物对 3 种观赏石斛种胚萌发的影响

有机添加物	大苞鞘石斛			肿节石斛			报春石斛		
	原球茎颜色	种子萌动时间(d)	萌发率(%)	原球茎颜色	种子萌动时间(d)	萌发率(%)	原球茎颜色	种子萌动时间(d)	萌发率(%)
马铃薯	深绿色	12	80	深绿色	14	70	深绿色	10	85
苹果	淡黄色	21	40	淡黄色	21	20	淡黄色	18	70
香蕉	绿色	15	70	绿色	14	65	绿色	12	85
椰汁	绿色	10	85	绿色	10	80	绿色	7	90

注:MS 培养基中共同添加 0.5 g/L 活性炭、2.0 g/L 蛋白胨、25 g/L 蔗糖、4.2 g/L 琼脂粉、0.2 mg/L 6-BA。

2.2.4 果龄对 3 种石斛种胚萌发的影响 分别于人工授粉后 90、150、270、360、390 d 采集 3 种观赏石斛种子进行无菌播种。由表 5 可见,在果龄 90 d 时,3 种石斛种胚无菌培养 20 d 后开始褐化,不能萌发;150 d 至 390 d 果龄的种子均能

正常萌发;果龄 150 d 时,大苞鞘石斛、肿节石斛、报春石斛的萌发率分别为 80%、75%、88%,较果龄 270 d 时种子萌发率略低;果龄在 270 d 至 390 d,3 种石斛种子萌发率较高,萌发率为 80% ~ 90%。

表 5 果龄对 3 种观赏石斛种胚萌发的影响

果龄(d)	大苞鞘石斛			肿节石斛			报春石斛		
	原球茎颜色	种子萌动时间(d)	萌发率(%)	原球茎颜色	种子萌动时间(d)	萌发率(%)	原球茎颜色	种子萌动时间(d)	萌发率(%)
90	—	—	0	—	—	0	—	—	0
150	绿色	14	80	绿色	14	75	深绿色	12	88
270	绿色	14	85	绿色	14	80	深绿色	12	90
360	绿色	14	85	绿色	14	80	深绿色	12	90
390	绿色	14	85	绿色	14	80	深绿色	12	90

注:培养基配方均为 MS+0.5 g/L 活性炭+2.0 g/L 蛋白胨+25 g/L 蔗糖+4.2 g/L 琼脂粉+0.2 mg/L 6-BA。

3 结论

大苞鞘石斛和肿节石斛在种子达到成熟期后,均呈白色、量少,种子聚集成团,极少数分散,与胎座等组织紧密贴生,多数发育不良,呈海绵状粘连,比报春石斛的种胚发育差,萌发率低,萌发时间长;报春石斛种子呈黄色,量多,无明显的胎座等组织,但种子含水量高,呈团状粘连,其种胚发育相对较好,萌发率高,萌发时间相对较短。

石斛种子内部生理对其种胚萌发具有重要的影响<sup>[7]</sup>。3 种观赏石斛不同果龄的种胚处于不同发育期,对种胚萌发产生明显的影响,人工授粉 90 d 种子,无菌播种 20 d,种胚褐化,不能萌发,这说明种胚尚未成熟;果龄 150 ~ 390 d 时,提供适宜的培养基,种子均能正常萌发,这时可采摘蒴果进行无菌播种。目前,石斛蒴果贮藏存在保存时间短、容易腐烂霉变、种子干燥操作繁琐、灭菌困难等问题。本试验研究发现,3 种观赏石斛在授粉后 390 d 内,蒴果未开裂,且具有较高的萌发率。因此,根据无菌播种和育苗时间需要,采摘蒴果时间可延迟至授粉后 390 d。

石斛种胚萌发还受培养条件的影响。采用 MS 培养基,3 种观赏石斛种子萌发效果最佳,这可能与 MS 培养基营养元素比较全面有关;添加天然椰汁对石斛种子的萌发效果最好,但由于椰汁价格较贵,且不易就地取材,添加有机物马铃薯对

石斛种子萌发效果与椰汁差异不大,且价格便宜、容易获取,因此可以使用马铃薯代替椰汁进行石斛规模化种苗繁育,有利于降低生产成本;浓度为 0.05 ~ 0.40 mg/L 6-BA 有利于观赏石斛种胚的萌发,萌发率最高达 88%,萌发时间缩短为 10 ~ 14 d,原球茎颜色为绿色或深绿色,但如果 6-BA 使用浓度继续提高,石斛种子萌发率虽然有所上升,但原球茎质量变差,颜色变为黄绿色。

参考文献:

[1] 龚建英,王华新,孙利娜,等. 九种引种石斛生物学特性及栽培适应性研究[J]. 北方园艺,2013(20):75-78.  
[2] 陈娜,方炎明,程磊. 大苞鞘石斛种子萌发过程中形态变化研究[J]. 安徽农业科学,2013,41(3):1038-1040.  
[3] 王伟,靳晓翠,金荷仙,等. 大苞鞘石斛种子离体萌发培养[J]. 种子,2011,30(4):45-49.  
[4] 霍丽丽,潘会堂,张启翔. 肿节石斛的无菌播种和快速繁殖[J]. 植物生理学通讯,2010,46(12):1269-1270.  
[5] 李媛,朱丹红,潘会堂,等. 3 种石斛兰以茎段为外植体的离体快繁技术[J]. 东北林业大学学报,2013,41(8):77-81.  
[6] 张莹,王雁,李振坚. 报春石斛的组织培养与快速繁殖[J]. 植物生理学通讯,2007,43(4):749-750.  
[7] 张毓,张启翔,赵世伟,等. 大花杓兰种子形态特征与生活力测定[J]. 北京林业大学学报,2010,32(1):69-73.