

DOI:10.11937/bfyy.201606026

不同激素配比对铁皮石斛组培丛生芽增殖的影响

杨平飞, 吴明开, 宋智琴, 张金霞, 李娟, 杨琳

(贵州省现代中药材研究所, 贵州 贵阳 550006)

摘要:以铁皮石斛为试材,以 MS 为基本培养基,研究了不同激素比对铁皮石斛组培丛生芽增殖的影响。结果表明:铁皮石斛丛生芽增殖的培养条件为 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L+土豆汁 100 g/L+蔗糖 30 g/L,90 d 增殖系数达 7.00,丛生芽芽高、茎径、含水量和叶绿素含量均高于其它处理。

关键词:铁皮石斛;丛生芽;增殖培养

中图分类号:S 682.31 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)06-0106-03

铁皮石斛(*Dendrobium officinale*)为多年生草本兰科珍稀药用植物,有滋阴益胃,清热生津,提高人体免疫功能、防治肿瘤和延年益寿等功效^[1],被广泛应用于临床和日常生活保健。铁皮石斛野生资源被采挖殆尽已濒临枯竭,被国家列为重点保护药用植物^[2]。铁皮石斛种子因无胚乳,在自然条件下繁殖率极低,采用传统的分株繁殖法繁殖速度慢^[3]。铁皮石斛采用种子无菌萌发、原球茎生长、丛生芽增殖、壮苗培养与练苗驯化获得

大量种苗技术比较成熟^[4-5]。铁皮石斛组织培养过程中,丛生芽的增殖非常关键,是降低铁皮石斛种苗生产成本、获得优质高产种苗的重要环节,目前尚鲜见相关研究^[6-8],现开展 6-BA 和 NAA 不同配比对铁皮石斛丛生芽增殖影响研究,筛选出丛生芽增殖的较佳培养条件,以期铁皮石斛规模化规范化育苗提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料铁皮石斛蒴果由安龙县欣蔓生物科技有限责任公司提供。

1.2 试验方法

试验在贵州省农业生物技术重点实验室组培室开展。以 MS 培养基作为基本培养基,添加不同浓度的 6-BA 和 NAA(表 1),琼脂添加量为 7.2 g/L,蔗糖添加量为 30 g/L,土豆添加量为 100 g/L。选取大小和长势一致的丛生芽接种到不同激素配比的培养基中,每处理 30 瓶,每瓶接 5 个芽,于光照强度 1 200 lx、光照时间为 12 h/d、温度为(25±2)℃、湿度为 30%~50%的组培室

第一作者简介:杨平飞(1988-),男,贵州长顺人,硕士,研究实习员,现主要从事中药材栽培生理等研究工作。E-mail:505092100.my@163.com.

责任作者:吴明开(1970-),男,安徽枞阳人,博士,研究员,现主要从事中药材资源多样性保护和利用及育种与栽培等研究工作。E-mail:bywmk1999@163.com.

基金项目:“贵州珍稀药材石斛、白及品种选育及其产业化”资助项目(黔农科院自主创新科研专项字(2014)017号);贵州省农业委员会资助项目(GZCYTX2014-0202);贵州省中药现代化科技专项资助项目(黔科合中药字[2013]5033号)。

收稿日期:2015-12-14

relationship was analyzed. The results showed that the full length genome of ASSVd BD-1 was 332 nt, which had been submitted to GenBank (accession number: KR264032). The isolate had close evolution relationship to the other 13 isolates with nucleotide similarity among 92%—99%. ASSVd BD-1 showed the highest identity (99%) with the isolate DAVd (GenBank accession number: X71599) from apple in Canada and only one nucleotide difference in 221st site. It showed the lowest identity with isolate ASSVd -Z7 (GenBank accession number: JX861259) from pears in Xinjiang. Phylogenetic analysis showed there was no correlation between the region and molecular variation of ASSVd. The isolates of pear, peach, apricot, apple in Xinjiang were not in the same cluster, which suggested that there was certain correlation between the host type and molecular variation of ASSVd. The result of secondary structure prediction showed that the sequences of the central conserved region and terminal conserved region were identical to the reported ASSVd reference sequence.

Keywords: apple skin scar viroid; Baoding; sequence analysis; secondary structure

表 1 不同激素配比培养基

Table 1 Medium of different hormone ratio mg/L

| 处理 Treatment | 6-BA | NAA |
|-----------------|------|-----|
| 1 | 0.1 | 0.1 |
| 2 | 0.1 | 0.5 |
| 3 | 0.1 | 1.0 |
| 4 | 0.5 | 0.1 |
| 5 | 0.5 | 0.5 |
| 6 | 0.5 | 1.0 |
| 7 | 1.0 | 0.1 |
| 8 | 1.0 | 0.5 |
| 9 | 1.0 | 1.0 |

里培养 90 d,每隔 30 d 测量和统计各个处理增殖倍数、芽高、茎径、含水量、叶绿素等指标。

2 结果与分析

2.1 不同激素配比培养基对铁皮石斛丛生芽增殖的影响

不同激素配比培养基均影响铁皮石斛丛生芽的增殖,丛生芽的增殖数和增殖系数随 6-BA 和 NAA 浓度的增加而增大。从表 2 可以看出,相同 6-BA 浓度下,0.5 mg/L NAA 浓度对增殖系数的影响高于 0.1 mg/L 和 1.0 mg/L 处理;处理 8 在接种 30 d 和 90 d 时的增殖数最大,且增殖系数也达到最大,分别为 2.60 和 7.00;处理 4 在接种 60 d 时的增殖数最大,且增殖系数达到最大 4.00。方差分析表明,各处理在接种 30 d 和 60 d 时对铁皮石斛增殖系数的影响不显著;在接种 90 d 时处理 8 明显高于处理 1、2、3。因此,6-BA 和 NAA 浓度分别为 1.0 mg/L 和 0.5 mg/L 时较利于铁皮石斛丛生芽的增殖。

表 3 不同激素配比培养基对铁皮石斛芽高和茎径的影响

Table 3 Effect of medium of different hormone on bud height and stems diameter of *Dendrobium officinale*

| 处理 Treatment | 芽高 Bud height/cm | | | | 茎径 Stem diameter/mm | | | |
|-----------------|------------------|--------------|-------------|--------------|---------------------|------------|------------|------------|
| | 0 d | 30 d | 60 d | 90 d | 0 d | 30 d | 60 d | 90 d |
| 1 | | 2.17±0.26d | 2.80±0.31c | 3.30±0.21d | | 1.10±0.21a | 1.32±0.08a | 1.77±0.10a |
| 2 | | 3.43±0.18abc | 3.63±0.29bc | 4.03±0.20bcd | | 1.21±0.26a | 1.54±0.22a | 1.82±0.09a |
| 3 | | 2.47±0.30cd | 3.00±0.10c | 3.57±0.52cd | | 1.14±0.15a | 1.36±0.06a | 1.79±0.14a |
| 4 | | 2.70±0.32cd | 3.20±0.23bc | 3.60±0.23cd | | 1.25±0.20a | 1.38±0.10a | 1.88±0.02a |
| 5 | 1.0 | 3.70±0.15ab | 4.10±0.47ab | 3.60±0.35cd | 0.91 | 1.22±0.14a | 1.35±0.11a | 1.89±0.24a |
| 6 | | 2.70±0.25cd | 3.00±0.46c | 3.40±0.23d | | 1.28±0.18a | 1.39±0.12a | 1.91±0.15a |
| 7 | | 3.67±0.46ab | 4.07±0.26ab | 4.67±0.38ab | | 1.31±0.05a | 1.40±0.04a | 1.93±0.18a |
| 8 | | 4.33±0.35a | 4.73±0.17a | 5.13±0.23a | | 1.44±0.04a | 1.52±0.05a | 2.12±0.05a |
| 9 | | 3.10±0.21bcd | 3.60±0.38bc | 3.90±0.23bcd | | 1.37±0.04a | 1.45±0.06a | 2.01±0.09a |

2.3 不同激素配比培养基对铁皮石斛组培苗含水量的影响

含水量反映了植株新陈代谢的速度,含水量越多,说明植株新陈代谢越旺盛,长势越好。从表 4 可以看

2.2 不同激素配比培养基对铁皮石斛芽高和茎径的影响

芽高和茎径大小可以反映丛生芽的生长势。从表 3 可以看出,各处理对芽高和茎径的影响存在差异,在培养 30、60、90 d 时,处理 8 的芽高和茎径较其它处理的高,分别为 4.33、4.73、5.13 cm 和 1.44、1.52、2.12 mm。说明处理 8 对芽高的影响处于稳定水平,每隔 30 d 保持 0.4 cm 芽长的增长速度;对茎径的增长速度影响则较大,在 60 d 时增长的仅为 0.08 mm,而在 90 d 时增长的达 0.60 mm,在茎径增长方面,6-BA 起到重要作用。方差分析表明,培养 90 d 时,1.0 mg/L 6-BA 处理的芽高高于其它处理;各处理茎径间差异性不显著。因此,6-BA 和 NAA 浓度分别为 1.0 mg/L 和 0.5 mg/L 时铁皮石斛的芽高和茎径较大。

表 2 不同激素配比培养基对铁皮石斛丛生芽增殖的影响

Table 2 Effect of medium of different hormone on *Dendrobium officinale* buds proliferation

| 处理 Treatment | 接种数 Number vaccination | 增殖数 Number proliferation | | | 增殖系数 Multiplication factor | | |
|-----------------|------------------------------|-----------------------------|----------|-------------|-------------------------------|------|------|
| | | 30 d | 60 d | 90 d | 30 d | 60 d | 90 d |
| 1 | 5 | 8±1.15a | 10±2.00a | 14±2.08d | 1.60 | 2.00 | 2.80 |
| 2 | 5 | 9±2.52a | 14±1.00a | 19±5.13bcd | 1.80 | 2.80 | 3.80 |
| 3 | 5 | 8±0.58a | 11±3.06a | 16±2.89cd | 1.60 | 2.20 | 3.20 |
| 4 | 5 | 10±1.00a | 20±1.53a | 28±1.73ab | 2.00 | 4.00 | 5.60 |
| 5 | 5 | 12±2.08a | 18±2.65a | 24±1.00abcd | 2.40 | 3.60 | 4.80 |
| 6 | 5 | 11±1.53a | 19±4.58a | 29±2.52ab | 2.20 | 3.80 | 5.80 |
| 7 | 5 | 11±2.65a | 19±1.53a | 26±1.53abc | 2.20 | 3.80 | 5.20 |
| 8 | 5 | 13±1.53a | 19±3.79a | 35±2.65a | 2.60 | 3.80 | 7.00 |
| 9 | 5 | 11±2.08a | 16±3.79a | 22±4.51abcd | 2.20 | 3.20 | 4.40 |

注:表中数据均为平均值±标准误差,不同小写字母表示 5%显著水平。下同。
Note: The data represent the mean±standard error in the table, and different lowercase letters indicate the 5% significance level. The same below.

出,处理 8 中的含水量高于其它处理,达到 89%。方差分析表明,各处理对铁皮石斛组培苗含水量的影响不显著。因此,6-BA 和 NAA 浓度分别为 1.0 mg/L 和 0.5 mg/L 时,含水量较大,铁皮石斛新陈代谢较旺盛。

表 4 不同激素配比培养基对铁皮石斛含水量的影响

Table 4 Effect of medium of different hormone on moisture content of *Dendrobium officinale*

| 处理 Treatment | 鲜重 Fresh weight/g | 干重 Dry weight/g | 含水量 Moisture/% |
|-----------------|----------------------|--------------------|-------------------|
| 1 | 0.07 | 0.02±0.02b | 68±0.10ab |
| 2 | 0.09 | 0.03±0.03ab | 66±0.05ab |
| 3 | 0.07 | 0.01±0.02b | 78±0.04ab |
| 4 | 0.07 | 0.02±0.02b | 73±0.09ab |
| 5 | 0.10 | 0.03±0.03ab | 71±0.02ab |
| 6 | 0.09 | 0.02±0.02b | 76±0.06ab |
| 7 | 0.18 | 0.03±0.03ab | 83±0.04ab |
| 8 | 0.33 | 0.04±0.04a | 89±0.02a |
| 9 | 0.10 | 0.02±0.02b | 84±0.01ab |

2.4 不同激素配比培养基对铁皮石斛组培苗叶绿素含量的影响

叶绿素含量反映光合作用强弱及有机物制造多少。从表 5 可以看出,各处理对叶绿素含量的影响存在差异,处理 8 的叶绿素含量高于其它处理,达 0.49 mg/g;处理 1

表 5 不同激素配比培养基对铁皮石斛叶绿素含量的影响

Table 5 Effect of medium of different hormone on chlorophyll content of *Dendrobium officinale*

| 处理 Treatment | 叶绿素含量 Chlorophyll content/(mg·g ⁻¹ FW) |
|-----------------|--|
| 1 | 0.22±0.03f |
| 2 | 0.30±0.02de |
| 3 | 0.34±0.01cd |
| 4 | 0.25±0.04ef |
| 5 | 0.33±0.04cd |
| 6 | 0.32±0.01cde |
| 7 | 0.39±0.02bc |
| 8 | 0.49±0.01a |
| 9 | 0.43±0.02ab |

的叶绿素含量低于其它处理,仅为 0.22 mg/g。方差分析表明,处理 8 与处理 9 的叶绿素含量差异不显著外,与其它各处理的存在显著差异。说明低浓度的 6-BA 和 NAA 组合不利于叶绿素含量的积累。因此,6-BA 和 NAA 浓度分别为 1.0 mg/L 和 0.5 mg/L 时叶绿素含量较大,铁皮石斛组培苗光合较为旺盛,制造的有机物较多。

3 结论

丛生芽的增殖与培养基中添加的激素浓度配比有关。试验表明,适宜浓度的激素 6-BA 和 NAA 直接影响丛生芽的增殖,以 MS 为基本培养基,添加的 6-BA 和 NAA 浓度分别为 1.0 mg/L 和 0.5 mg/L 时增殖系数、芽高、茎径、含水量和叶绿素含量等指标均高于其它处理,即对丛生芽的增殖影响效果最好。该研究主要通过丛生芽增殖培养基的筛选途径来建立铁皮石斛的快繁体系,以期为短时间内规模化生产种苗提供理论参考。

参考文献

- [1] 邵华,张玲琪,李俊梅,等.铁皮石斛研究进展[J].中草药,2004,35(1):109-112.
- [2] 林江波,戴艺民,邹晖,等.铁皮石斛组培快繁技术研究进展[J].福建农业科技,2010(1):25-27.
- [3] 蒋林,丁平,郑迎冬,等.添加剂对铁皮石斛组织培养和快速繁殖的影响[J].中药材,2003(8):539-540.
- [4] 汪红梅,罗鸣.铁皮石斛种子无菌萌发[J].安徽农业科学,2013,41(7):2850-2851.
- [5] 王丽斌,孔祥莹,戈振扬.铁皮石斛原球茎的增殖培养研究[J].贵州农业科学,2009,37(11):27-29.
- [6] 莫昭展,贝学军,覃贵毕,等.铁皮石斛丛生芽增殖研究[J].西北林学院学报,2008,23(6):104-107.
- [7] 宋顺,许奕,王必尊,等.不同培养基成分对铁皮石斛组织培养的影响[J].中国农学通报,2013,29(13):133-139.
- [8] 潘梅,王景飞,姜殿强,等.铁皮石斛丛生芽增殖培养条件的优化[J].北方园艺,2013(13):128-130.

Effect of Medium of Different Hormone on *Dendrobium officinale* Buds Proliferation

YANG Pingfei, WU Mingkai, SONG Zhiqin, ZHANG Jinxia, LI Juan, YANG Lin
(Institute of Modern Chinese Medical Materials of Guizhou Province, Guiyang, Guizhou 550006)

Abstract: Taking *Dendrobium officinale* as material, MS as basic media, the effect of different hormone ratio on bud proliferation of *Dendrobium officinale* was studied. The results showed that the most suitable medium of *Dendrobium officinale* buds proliferation was MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L+potatoes 100 g/L+sucrose 30 g/L, the proliferation coefficient was 7.00 after 90 days; bud height, stems diameter, moisture content and chlorophyll content were higher than other treatments.

Keywords: *Dendrobium officinale*; buds; proliferation culture