

# 铁皮石斛组培苗生长的影响因素研究

魏梅娟<sup>1</sup>, 李雪<sup>2</sup>, 叶清梅<sup>2</sup>, 纪超群<sup>1</sup>, 詹启成<sup>2</sup>, 曾小爱<sup>2</sup>

(1. 阳光国际集团科奥生物技术研发中心, 福建 泉州 362012; 2. 泉州市泉美生物科技发展有限公司, 福建 泉州 362012)

**摘要:**以铁皮石斛组培苗为材料, 研究不同蔗糖浓度对铁皮石斛原球茎(PLB)生长的影响, 6-BA 用量对铁皮石斛增殖芽生长的影响, 不同糖源及添加物香蕉对铁皮石斛壮苗、生根的影响。结果表明:当蔗糖 30 g/L 最有利于铁皮石斛 PLB 增殖, 最适合 PLB 的培养基为 MS+NAA 0.1 mg/L+蔗糖 30 g/L。6-BA 对铁皮石斛丛生芽形态建成有着很重要的作用, 有利于促进芽的分化, 适合继代的培养基为 MS+BA 4 mg/L+NAA 0.1 mg/L+CW5%+蔗糖 30 g/L。香蕉对铁皮石斛组培苗的根系生长具有显著的促进作用, 以 50 g/L 葡萄糖为糖源更有利于铁皮石斛壮苗生长, 适合生根苗生长的培养基为 1/2MS+香蕉 70 g/L+活性炭 0.1%+葡萄糖 50 g/L。

**关键词:**铁皮石斛; 碳源; 6-BA

**中图分类号:**S 567.23<sup>+</sup>9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2011)02-0146-03

铁皮石斛(*Dendrobium officinale* Kimura et Migo) 俗称铁皮枫斗, 因其茎节处显褐色, 又名黑节草, 属多年生草本植物, 是一种分布在岩溶地区的珍贵中药材植物, 是《中国药典》2000 年版一部收录的 5 种药用石斛之一<sup>[1]</sup>。铁皮石斛名列中华“九大仙草”之首, 为石斛中之极品。其性味及功能主治滋阴清热, 生津止渴, 用于热病伤津、口渴舌燥、病后虚热、胃病、干呕、舌光少苔<sup>[2]</sup>。铁皮石斛中含有丰富的多糖成份, 这种多糖具有增长 T 细胞、B 细胞、NK 细胞和巨噬细胞功能的作用, 尤其对癌症病人具有明显增强 T 细胞免疫功能的作用, 通过提高人体的免疫力, 防御外界病原因子的侵袭和清除体内衰老死伤、突变细胞, 借以维持机体的生理稳定状态<sup>[3-5]</sup>。由于生长条件十分苛刻, 自然条件下繁殖率极低, 更因民间长期过度采挖, 致使野生资源濒临绝种。建立高效的组培快繁体系成为解决种苗问题, 推进铁皮石斛药源良性发展的有效途径。该试验旨在探讨某些因素对铁皮石斛原球茎(PLB)增殖, 以及芽分化、增殖、生根的影响。

**第一作者简介:**魏梅娟(1982-), 女, 福建泉州人, 硕士, 现从事花卉组培快繁及药用植物有效成分提取研究工作。E-mail: wmj\_1228@yahoo.com.cn。

**通讯作者:**李雪(1968-), 男, 重庆大足人, 硕士, 现从事园艺植物选育和快繁及产业化研究工作。E-mail: Snowthlee@yahoo.com.cn。

**基金项目:**福建省省院科技合作专项(农业)资助项目(2009N4008)。

**收稿日期:**2010-10-25

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

铁皮石斛组培材料由泉美生物科技发展有限公司提供。

### 1.2 试验方法<sup>[6-8]</sup>

1.2.1 不同培养基 铁皮石斛 PLBs 培养的培养基(表 1); 铁皮石斛继代培养基(表 2); 壮苗生根培养基(表 3)。以上培养基琼脂 6.5 g/L, pH 5.4。

**表 1 铁皮石斛 PLBs 生长培养基**

组别	培养基
1	MS+NAA 0.1 mg/L+蔗糖 20 g/L
2	MS+NAA 0.1 mg/L+蔗糖 30 g/L
3	MS+NAA 0.1 mg/L+蔗糖 45 g/L

**表 2 铁皮石斛继代培养基**

组别	培养基
1	MS+NAA 0.1 mg/L+CW 50 mL/L+蔗糖 30 g/L
2	MS+BA 2 mg/L+NAA 0.1 mg/L+CW 50 mL/L+蔗糖 30 g/L
3	MS+BA 3 mg/L+NAA 0.1 mg/L+CW 50 mL/L+蔗糖 30 g/L
4	MS+BA 4 mg/L+NAA 0.1 mg/L+CW 50 mL/L+蔗糖 30 g/L

**表 3 铁皮石斛壮苗生根培养基**

组别	培养基
1	1/2MS+AC 0.1 g/L+蔗糖 30 g/L
2	1/2MS+香蕉 50 g+AC 0.1 g/L+蔗糖 30 g/L
3	1/2MS+香蕉 70 g+AC 0.1 g/L+蔗糖 30 g/L
4	1/2MS+香蕉 100 g+AC 0.1 g/L+蔗糖 30 g/L
5	1/2MS+香蕉 70 g+AC 0.1 g/L+蔗糖 20 g/L
6	1/2MS+香蕉 70 g+AC 0.1 g/L+蔗糖 40 g/L
7	1/2MS+香蕉 70 g+AC 0.1 g/L+葡萄糖 50 g/L
8	1/2MS+香蕉 70 g+AC 0.1 g/L+葡萄糖 60 g/L

1.2.2 接种 选取等量的生长状况良好、无分化、色泽鲜绿的铁皮石斛 PLBs 分别接种于 3 个不同处理的 PLB 生长培养基中。每种培养基设 6 瓶重复。温度(26±

1)℃,光照 1 000~1 500 lx,12 h/d。培养周期 45 d。挑选生长状况良好的铁皮石斛增殖芽团(2~3 个芽/团)接种于 3 个不同处理的继代培养基中。每种培养基设置 6 瓶重复,每瓶 10 团(下同)。壮苗是选 2~3 个芽/芽丛,芽高度 2 cm 接种于 9 个不同处理的壮苗生根培养基中。增殖、壮苗条件是温度(26±1)℃,前 2 周 500~800 lx,2 周后光照 1 000~1 500 lx,12 h/d,增殖周期 45 d,壮苗 60 d。

2 结果与分析

2.1 蔗糖浓度对铁皮石斛 PLBs 培养的影响

第 1、2 组的 PLBs 生长速度快,呈鲜绿色,并大量增殖。第 3 组的 PLBs 生长速度缓慢,培养 15 d 时开始出现原球茎黄化死亡现象,45 d 后有 70% 以上的原球茎黄化死亡(图 1)。结果表明,随着蔗糖浓度的增加,PLB 增殖速度加快,当蔗糖 30 g/L 时 PLB 生长状态最好,而当蔗糖浓度达 40 g/L 时,原球茎的生长受到抑制,这可能与高蔗糖浓度制造的高渗透压生长环境有关。

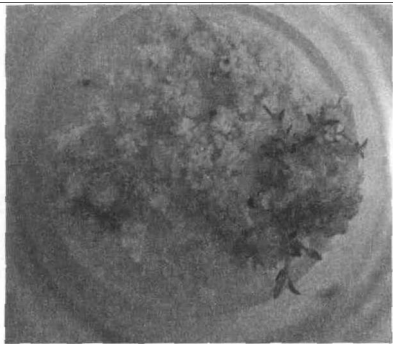


图 1 第 3 组铁皮石斛 PLBs 生长状况

2.2 6-BA 用量对铁皮石斛增殖苗继代培养的影响

铁皮石斛组培苗以“芽生芽”和 PLB 形式繁殖。增殖率随着 6-BA 用量的提升而增加(表 4),无添加 6-BA 时也有诱导大量 PLBs,该 PLB 分化成芽的能力低。添加 6-BA 后大大提高了 PLBs 分化成芽的能力,并且启动了“芽生芽”增殖方式的发生,这种现象随着 6-BA 用量的增加而增强。表明 6-BA 在铁皮石斛丛生芽形态建成方面起着很重要的作用(图 2)。



图 2 第 4 组铁皮石斛增殖芽生长状况



图 3 第 3 组铁皮石斛生根苗生长状况



图 4 第 7 组铁皮石斛生根苗生长状况

2.3 不同碳源及培养基添加物对铁皮石斛壮苗、生根的影响

以 20 g/L 蔗糖为碳源,铁皮石斛芽长势较慢,茎秆细,芽弱。随着蔗糖含量的增加,其芽茎秆加粗,茎节明显,生长速度较快。当蔗糖含量过高,则出现芽长势差异大,长小芽,个别芽壮,大多芽细弱。较适宜的蔗糖浓度为 30 g/L。50 g/L 葡萄糖为碳源时,铁皮石斛芽较矮壮,茎粗且茎节明显,培养 45 d 时已表现出母本性状,茎秆呈锈红色。可能由于葡萄糖易于被植物细胞直接吸收利用,促进了铁皮石斛多糖的积累,因此芽容易表现母本性状。同时可能糖分消耗过快,导致培养 60 d 时部分植株开始老化,老叶黄化。当葡萄糖 60 g/L 时,却抑制了芽的生长速度,培养 45 d 时部分老叶开始枯黄,培养 60 d 后大部分叶片枯黄。

表 4 铁皮石斛增殖芽生长状况

组别	6-BA/mg · L <sup>-1</sup>	增殖系数	生长情况
1	0	2.1	大量诱导 PLBs,分化芽少
2	2	3.2	PLBs 较多,分化出芽较少
3	3	8.5	小芽多,芽较弱,PLBs 少
4	4	9.3	芽多,芽较壮,PLBs 很少

在未加香蕉的培养基中培养 45 d 时开始长根,根稀少,培养 60 d 后平均每株 2 条根(表 5)。添加香蕉 50 g 以上的培养基中 15 d 时就开始长根,培养 60 d 后根系

发达,每株 4~6 条根。说明香蕉有利于促进铁皮石斛组培苗的根系生长。随着香蕉添加量的增加,铁皮石斛的生长速度加快。香蕉添加量过高,则易导致芽茎秆抽

细,提前老化,到后期出现老叶枯黄。因此,较适宜的香蕉添加量为 70 g/L。

表 5

铁皮石斛生根苗生长状况

组别	香蕉/g·L <sup>-1</sup>	糖源/g·L <sup>-1</sup>	生长情况			
			株高/cm	茎粗/cm	根/条	长势
1	0	蔗糖 30	3.3	0.15	1	生长缓慢,芽弱小
2	50	蔗糖 30	6.5	0.4	2	芽健壮,长势均匀
3	70	蔗糖 30	7.8	0.4	4	芽健壮,长势均匀
4	100	蔗糖 30	6.3	0.3	5	芽健壮,部分叶片枯黄
5	70	蔗糖 20	5.6	0.2	4	茎节不明显,部分叶片枯黄
6	70	蔗糖 40	5.7	0.25	4	长势差异大,部分叶片枯黄
7	70	葡萄糖 50	5.4	0.45	5	芽粗壮,茎秆锈红色,部分叶片枯黄
8	70	葡萄糖 60	4.5	0.3	4	长势不好,叶片枯黄

### 3 结论

蔗糖浓度的增加有利于加快原球茎的生长速度,蔗糖浓度 30 g/L 时原球茎生长状态最好。最适合的铁皮石斛 PLBs 增殖培养基:MS+NAA 0.1 mg/L+蔗糖 30 g/L。6-BA 对铁皮石斛 PLBs 形成丛生芽形态建成有着很重要的作用,有利于促进芽的分化。当 6-BA 的浓度达 4 mg/L 时增殖系数达 9.3。适合铁皮石斛组培苗继代的培养基为:MS+BA 4 mg/L+NAA 0.1 mg/L+CW5%+蔗糖 30 g/L。

蔗糖浓度的增加有利于加快铁皮石斛的生长速度,当蔗糖浓度达 30 g/L 时,组培苗的生长状态最好。以葡萄糖作为糖源,组培苗更易表现出母本性状,培养周期缩短,植株矮壮,有利于后期组培苗移栽。最适合葡萄糖浓度为 50 g/L。香蕉对铁皮石斛组培苗的根系生长具有显著的促进作用,并且可加快组培苗的生长速度,有利于壮苗。当香蕉添加量达 70 g/L 时,组培苗的生长状态最好。适合铁皮石斛组培苗壮苗生根培养基为:1/2MS+

香蕉 70 g+活性炭 0.1%+葡萄糖 50 g/L,其次为 1/2MS+香蕉 70 g+活性炭 0.1%+蔗糖 30 g/L。

### 参考文献

- [1] 国家药典委员会. 中国药典(一部) [S]. 北京:化学工业出版社,神农本草经出版社,2000:70.
- [2] 杨一令,来平凡,蒋士鹏,等. 铁皮石斛的研究进展[J]. 山东中医药大学学报,2008(1):82-85.
- [3] 张红玉,戴关海,马翠,等. 铁皮石斛多糖对 S180 肉瘤小鼠免疫功能的影响[J]. 浙江中医杂志,2009(5):380-381.
- [4] 黄民权,蔡体育. 铁皮石斛多糖对小白鼠白细胞数和淋巴细胞移动抑制因子的影响[J]. 天然产物研究与开发,1996(3):39-41.
- [5] 何铁光,杨丽涛,李杨瑞,等. 铁皮石斛原球茎多糖 DCPPl-1 的理化性质及抗肿瘤活性[J]. 天然产物研究与开发,2007(4):37-42.
- [6] 魏小勇. 铁皮石斛原球茎悬浮培养研究[J]. 现代中药研究与实践,2004,18(4):7-11.
- [7] 侯丕勇,郭顺星. 悬浮培养的铁皮石斛原球茎在固体培养基上生长和分化的研究[J]. 中国中药杂志,2005,30(10):729-732.
- [8] 邵世光,侯北伟,周琪,等. 基于正交实验法的铁皮石斛原球茎分化和生根条件研究[J]. 南京师范大学学报(自然科学版),2009,32(4):98-102.

## Effects of Some Factors on the Growth of Tissue Culture Seedlings of *Dendrobium*

WEI Mei-juan<sup>1</sup>, LI Xue<sup>2</sup>, YE Qing-mei<sup>2</sup>, JI Chao-qun<sup>1</sup>, ZHAN Qi-cheng<sup>1</sup>, ZHEN Xiao-ai<sup>1</sup>

(1. Sunshine Koau Biotechnology Research Center, Quanzhou, Fujian 362012; 2. Sunshine Horticulture Company Limited, Quanzhou, Fujian 362012)

**Abstract:** Tissue culture seedlings of *Dendrobium candidum* were used to study the effect of sucrose on PLBs growth, and the effect of 6-BA on shoot proliferation and growth, and the effect of carbon sources and banana on cultivating strong seedlings and rooting. The results showed that growth status of PLBs was best when the concentration of sucrose was 30 g/L. The most suitable medium for PLBs was MS+NAA 0.1 mg/L+sucrose 30 g/L. 6-BA plays a very important role in buds morphogenesis. The suitable medium for the seedlings subculture was MS+BA 4 mg/L+NAA 0.1 mg/L+CW 5%+sucrose 30 g/L. Banana promoted the root of *Dendrobium officinale* Kimura et Migo growth significantly. Medium plus 50 g/L glucose as carbon source was better for the growth of *Dendrobium candidum* plantlets. The suitable medium for growth and rooting was 1/2MS+banana 70 g/L+activated carbon 0.1%+glucose 50 g/L.

**Key words:** *Dendrobium officinale* Kimura et Migo; carbon source; 6-BA