

铁皮石斛丛生芽增殖培养条件的优化

潘 梅, 王景飞, 姜殿强, 黄 赛, 吕德任, 戚华莎

(海南省农业科学院 园林花卉研究所, 海南 海口 571100)

摘 要:为筛选出铁皮石斛丛生芽继代增殖的最适培养基和培养条件,以 MS 为基本培养基,研究比较了活性炭、植物激素、有机添加物以及温度和光照等因素对铁皮石斛生长状况的影响。结果表明:丛生芽继代增殖的最佳配方为 MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L+香蕉 100 g/L+活性炭 0.5 g/L+蔗糖 30 g/L,丛生芽长势好,60 d 增殖系数达到 7.16;最适培养温度为 25℃,最佳的光照强度为 2 000 lx。

关键词:铁皮石斛;丛生芽;增殖培养;优化

中图分类号:S 567.23⁺9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)13-0128-03

铁皮石斛(*Dendrobium candidum* Wall. ex Lindl.)属兰科石斛属多年生草本植物,是我国传统名贵珍稀中药材和较好的室内观赏植物,在我国主要分布于浙江、云南、广西等地。铁皮石斛生态环境条件独特,自然繁殖率低,生长缓慢,加上人为的大肆采挖及自然环境的严重破坏,使得野生资源日渐枯竭。铁皮石斛具有免疫调节、延缓衰老等功效,具有很高的药用价值,素有“药界大熊猫”之美誉,近几年市场需求量猛增,远远大于供应量。利用组培快速技术繁殖种苗,对铁皮石斛的开发利用和野生资源的保护具有很高的经济价值和现实意义,近年来有关铁皮石斛的快速繁殖报道较多^[1-8]。现从影响组培苗增殖的活性炭、植物激素、有机添加物以及温度和光照等多个方面进行研究,以期筛选出最优的铁皮石斛丛生芽增殖培养基和最适的培养条件。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为云南铁皮石斛丛生芽。

1.2 试验方法

在基本培养基中添加不同浓度的活性炭、6-BA(6-苄基腺嘌呤)、NAA(萘乙酸)及有机添加物,所有培养基中添加蔗糖 30 g/L,卡拉胶 6.0 g/L,pH 5.8。取生长

状况一致小芽,以 2 个小芽为单位切分接种于各种培养基上,每种处理接种 10 袋,每袋接种 6 块,3 次重复,定期观察记录,60 d 后统计结果。材料接种后,在光照强度 1 500 lx 条件下培养,光照时间 9 h/d,温度(25±2)℃。

1.2.1 活性炭浓度对丛生芽增殖的影响 以 MS+6-BA 2.0 mg/L 为基本培养基,附加活性炭 0、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 mg/L 共 7 种处理。

1.2.2 不同激素组合对丛生芽增殖的影响 设置 6-BA 0.5、1.0、2.0、3.0 mg/L 与 NAA 0、0.2、0.5、0.8 mg/L 的配比,共 16 种处理,培养基中附加活性炭 0.5 g/L。

1.2.3 蔗糖浓度对丛生芽增殖的影响 以 MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L+活性炭 0.5 g/L 为基本培养基,设置蔗糖浓度 20、30、40 g/L 共 3 种处理。

1.2.4 有机附加物对丛生芽增殖的影响 以 MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L+活性炭 0.5 g/L 为基本培养基(对照),附加香蕉 100 g/L、马铃薯 100 g/L、蛋白胨 0.2 g/L、水解酪蛋白 0.2 g/L、水解乳蛋白 0.2 g/L 共 6 种处理。

1.2.5 温度对丛生芽增殖的影响 以 MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L+活性炭 0.5 g/L+香蕉 100 g/L 为基本培养基,在 1 500 lx 的光照强度下,设置 22、25、28、32℃ 共 4 种培养温度。

1.2.6 光照强度对丛生芽增殖的影响 MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L+活性炭 0.5 g/L+香蕉 100 g/L 为基本培养基,设置 500、1 500、2 000 lx 3 种光照强度,培养温度为 25℃。

1.3 数据分析

采用方差分析法,*F* 测验显著后用新复极差法进行多重比较,统计测验均为 99% 水平。

第一作者简介:潘梅(1962-),女,广西隆安人,本科,高级园艺师,现主要从事植物组织培养及开发利用等工作。E-mail:panmei200@sina.com。

责任作者:姜殿强(1975-),男,河南南乐人,硕士,助理研究员,研究方向为药用植物资源开发与利用。E-mail:dqjiang2004@163.com。

基金项目:2011 年海南省科学事业费资助项目(琼财预[2011]207 号);2011 年海南省科技引进集成与示范资助项目(YJJ2011003)。

收稿日期:2013-03-06

2 结果与分析

2.1 不同活性炭浓度对丛生芽增殖的影响

由表 1 可知,在不加活性炭的培养基中丛生芽的增殖系数最低,为 2.82,而且芽苗长势差,部分叶片枯黄,出现死苗。而在添加不同浓度活性炭的培养基中,丛生芽分化多,叶绿,增殖系数均高于不加活性炭的处理,达到 4 以上。方差分析表明,添加活性炭的各处理与不加活性炭处理间差异达到极显著水平,而活性炭浓度在 0.5~3.0 mg/L 间差异不显著。活性炭能促进铁皮石斛丛生芽的生长,主要是由于它可以吸附代谢过程中产生的废弃物。活性炭对物质的吸附没有选择性,既能吸附有害物质也能吸附有益物质^[9],因此,活性炭的使用浓度不宜过高,铁皮石斛丛生芽的继代增殖培养以选择低浓度的 0.5 g/L 为宜。

表 1 不同浓度活性炭对铁皮石斛丛生芽增殖的影响

Table 1 Effect of different activated carbon on clustered buds propagation

活性炭/g · L ⁻¹	增殖系数	生长状况
0	2.82B	长势差,苗不整齐,部分叶片枯黄,出现死苗
0.5	4.57A	长势好,苗整齐,叶绿
1.0	4.61A	长势较好,苗较整齐,叶绿
1.5	4.68A	长势较好,苗整齐,叶绿
2.0	4.78A	长势好,苗整齐,叶绿
2.5	4.60A	长势好,苗整齐,叶绿
3.0	4.70A	长势好,苗较整齐,叶绿

2.2 不同激素组合对丛生芽增殖的影响

小苗接入培养基中培养 15 d 后开始长出新芽,30 d 后芽增长明显。由表 2 可知,不同的 6-BA 和 NAA 对比对铁皮石斛丛生芽增殖和生长的影响不尽相同,其中以 6-BA 2.0 mg/L 和 NAA 0.2 mg/L 的组合增殖效果最好,增殖系数最高为 5.83,芽苗生长势好,叶色绿且较健壮。方差分析也表明,该组合的丛生芽增殖系数与其它 6-BA 和 NAA 的配比组合间差异极显著,因此,适合铁皮石斛丛生芽增殖的植物激素配比为 6-BA 2.0 mg/L, NAA 0.2 mg/L。

2.3 不同蔗糖浓度对丛生芽增殖的影响

由表 3 可知,丛生芽在含蔗糖 30 g/L 的培养基中增殖系数最大,为 5.83,含蔗糖 20 g/L 的处理增殖系数最低,为 4.19。方差分析表明,各处理间达到差异极显著水平,说明蔗糖浓度对铁皮石斛丛生芽的增殖影响较大,过高或过低的蔗糖均不利于丛生芽的增殖生长,因此在铁皮石斛丛生芽的增殖培养中,以 30 g/L 的蔗糖为宜,丛生芽的增殖效果最好,增殖快、长势好。

表 2 不同 6-BA 和 NAA 配比对铁皮石斛丛生芽增殖的影响

Table 2 Effect of different 6-BA and NAA ratio on clustered buds propagation

6-BA/mg · L ⁻¹	NAA/mg · L ⁻¹	增殖系数	生长情况
0.5	0	3.90FG	长势较好,芽苗整齐
0.5	0.2	4.46DE	长势较好,芽苗整齐
0.5	0.5	4.40DE	长势较好,芽苗较整齐
0.5	0.8	3.81G	长势一般,芽苗较整齐,根较多
1.0	0	3.78G	长势较好
1.0	0.2	3.89G	长势好,芽苗较壮,根较多
1.0	0.5	4.45DE	长势差,芽苗黄细弱,根较多
1.0	0.8	4.58CD	苗矮,叶短小,根多
2.0	0	4.39DE	长势较好,有少量根
2.0	0.2	5.83A	长势好,芽苗较壮
2.0	0.5	5.01B	长势好,芽苗较壮,根少
2.0	0.8	4.85BC	长势差,芽苗细弱
3.0	0	4.53CD	长势差,芽苗细弱
3.0	0.2	4.21EF	长势较好
3.0	0.5	4.55CDd	长势一般,苗矮小,根较多
3.0	0.8	4.39DE	长势较好,苗整齐节间明显,根多

表 3 不同蔗糖浓度对铁皮石斛丛生芽增殖的影响

Table 3 Effect of different sucrose on clustered buds propagation

蔗糖/g · L ⁻¹	增殖系数	生长状况
20	4.19C	芽苗长势较好,叶淡黄色
30	5.83A	芽苗长势好,整齐较壮
40	5.12B	长势较差,芽苗细小

2.4 不同有机附加物对丛生芽增殖的影响

由表 4 可知,培养基中添加有机附加物对铁皮石斛丛生芽分化有促进作用,培养 60 d 的增殖系数均大于对照,其中添加香蕉的处理对丛生芽的增殖效果最好,增殖系数最大,达到 7.16,芽苗长势好,芽苗粗壮。方差分析结果表明,添加香蕉的处理与其它处理间均达差异极显著水平,因此,铁皮石斛丛生芽的增殖培养以添加香蕉为宜。

表 4 不同有机附加物对丛生芽增殖的影响

Table 4 Effect of different organic additives on clustered buds propagation

有机添加物/g · L ⁻¹	增殖系数	生长状况
香蕉 100	7.16 A	长势好,芽苗粗壮
马铃薯 100	6.63 B	长势好,芽苗粗壮
蛋白胨 0.2	6.24BC	长势较好,愈伤和原球茎较多
水解酪蛋白 0.2	6.37BC	长势较好,原球茎较多
水解乳蛋白 0.2	6.15C	长势较好,原球茎少
对照	5.63D	长势好,原球茎少

2.5 不同温度对丛生芽增殖的影响

从表 5 可以看出,在 22、25 和 28℃ 的温度中培养,丛生芽的增殖系数均在 6 以上,3 个处理间差异不显著,而在 32℃ 下培养的丛生芽增殖系数最低,只有 4.14。据试验观察,在 32℃ 温度中培养 15 d 后,开始出现死苗,随培养时间的延长,死苗现象加重,因此铁皮石斛的增殖培养温度不宜过高。综合方差分析结果以及丛生芽的

生长情况,22~28℃为铁皮石斛丛生芽继代增殖培养的适宜温度区间,且以25℃最佳。

表5 不同温度对铁皮石斛丛生芽增殖的影响

Table 5 Effect of different temperature on clustered buds propagation

温度/℃	增殖系数	生长状况
22	6.60A	芽苗较整齐,叶绿
25	7.00A	芽苗整齐,叶绿
28	6.78 A	芽苗整齐,叶绿
32	4.14B	苗基部略膨大,节间短,出现死苗

2.6 不同光照强度对丛生芽增殖的影响

由表6可知,丛生芽在500 lx的弱光下培养,增殖系数低,芽苗细弱,叶淡黄色;在1500和2000 lx的光照强度下培养,丛生芽的增殖系数差异不显著,芽苗长势好,而较强的光照强度更利于丛生芽的生长,植株粗壮浓绿。由此可见,铁皮石斛丛生芽继代增殖培养的光照强度不应低于1500 lx,且以2000 lx为最佳。

表6 不同光照强度对铁皮石斛丛生芽增殖的影响

Table 6 Effect of different light intensity on clustered buds propagation

光照强度/lx	增殖系数	生长状况
500	5.08 B	芽苗细弱,叶淡黄色
1500	6.95A	芽苗整齐,叶绿色
2000	7.12 A	芽苗茎较粗、节间长,叶浓绿

3 结论

该试验结果表明,影响铁皮石斛丛生芽增殖的因素较多,活性炭和香蕉能极显著地促进铁皮石斛丛生芽的分化与生长。不同激素浓度及配比对丛生芽诱导的影

响差异显著,培养基中附加6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L较其它配比对丛生芽诱导有极显著影响。蔗糖浓度30 g/L对丛生芽的增殖效果最好。培养温度和光照强度对芽的诱导生长也有较大的影响。综合试验结果,筛选出的丛生芽继代增殖最佳培养基为MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L+香蕉100 g/L+活性炭0.5 g/L+蔗糖30 g/L,最适宜的培养温度为25℃,最佳光照强度为2000 lx,在此培养条件下,丛生芽的增殖效果最好,芽苗生长健壮,增殖快。

参考文献

- [1] 林丛发,钟爱清,林云斌,等.铁皮石斛类原球茎增殖和分化的研究[J].江西农业学报,2007,19(1):84-86.
- [2] 莫昭展,贝学军,韦江萍,等.不同培养条件对铁皮石斛原球茎增殖的影响[J].安徽农业科学,2007,35(22):6835-6836,7036.
- [3] 洪香娇,瑜晚之,熊正葵.铁皮石斛的组织培养与快速繁殖[J].现代园艺,2008(7):9-10,13.
- [4] 张书萍,白石,陈丽静.铁皮石斛的组织培养与快速繁殖[J].辽宁农业科学,2008(6):12-15.
- [5] 李进进.铁皮石斛茎段离体初代培养研究[J].作物杂志,2010(1):79-80.
- [6] 杨立昌,乙引,张宇斌.铁皮石斛快速繁殖体系研究[J].北方园艺,2010(2):136-138.
- [7] 戴小英,张淑霞,周莉莉,等.铁皮石斛不同外植体组培快繁技术比较研究[J].中国农学通报,2011,27(10):122-126.
- [8] 李莹,谭鹏鹏,彭方仁,等.铁皮石斛组培快繁技术[J].林业科技开发,2012,26(1):96-99.
- [9] 王玉英,高新一.植物组织培养技术手册[M].北京:金盾出版社,2006:46.

Clustered Buds Proliferation Optimization of Culture Conditions of *Dendrobium candidum*

PAN Mei, WANG Jing-fei, JIANG Dian-qiang, HUANG Sai, LV De-ren, QI Hua-sha
(Institute of Garden Flower, Hainan Academy of Agricultural Sciences, Haikou, Hainan 571100)

Abstract: In order to select optimal medium and culture conditions from clustered buds subculture proliferation of *Dendrobium candidum*, taking the MS as the basic medium, the effect of activated carbon, plant hormones, organic additives, temperature, light and other factors on growth of *Dendrobium candidum* were studied. The results showed that the best formula for clustered buds subculture proliferation was MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L+banana 100 g/L+activated carbon 0.5 g/L+sucrose 30 g/L, proliferation coefficient reached 7.16 in 60 days; optimal temperature was 25℃, with optimal light intensity for 2000 lx.

Key words: *Dendrobium candidum*; clustered buds; proliferation culture; optimization