

组培条件下铁皮石斛幼芽分蘖和生根的影响因素研究

梁淑颖, 曾令杰

(广东药学院 中药学院, 广东 广州 510006)

摘 要:以铁皮石斛幼芽为外植体,研究比较了不同基本培养基、不同浓度 NAA 和不同天然添加物对铁皮石斛分蘖和生根的影响,以期探讨组培条件下影响铁皮石斛幼芽分蘖及生根的培养条件。结果表明:培养基类型、NAA 浓度及天然添加物的类型和浓度对铁皮石斛幼芽的分蘖和生根有显著的影响。1/2MS 培养基适合幼芽分蘖繁殖,2.0 mg/L 的 NAA 和 10% 香蕉泥可促进幼芽的分蘖与生根。

关键词:铁皮石斛;组织培养;分蘖;生根

中图分类号:S 567 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)14-0112-03

铁皮石斛(*Dendrobium officinale* Kimura et Migo) 属兰科石斛属多年生附生草本植物,又名环草石斛,是一种珍稀的药用植物,其用药历史悠久,药用价值高。野生铁皮石斛附生在高海拔悬崖峭壁或林内树木和岩石缝隙中^[1-2],喜阴凉、湿润的环境。铁皮石斛具有独特的生物学特性,生长环境独特,对小气候环境要求十分严格,繁殖率低,加之生态环境被破坏、过度采挖导致野生资源日渐枯竭。因此,发展铁皮石斛组织培养技术,建立铁皮石斛人工栽培基地迫在眉睫。

铁皮石斛幼苗在种植生长过程中,主要的繁殖方式为分蘖繁殖。企业在生产铁皮石斛组培苗时多采用种子诱导愈伤组织,并进行继代繁殖,但随着继代次数增加,繁殖的后代有可能产生变异。通过增强幼芽分蘖的方式,既可保留母体的优良性状,又可实现快速繁殖。关于石斛分蘖的研究较少,蒋向辉等^[3]研究发现,6-BA、NAA 和 PP₃₃₃ 均可增加有效分蘖数,但 GA₃ 处理抑制分蘖。该试验旨在探讨组培条件下影响幼苗分蘖的某些因素,并筛选出适合幼苗分蘖及生根的培养基。

1 材料与方法

1.1 试验材料

铁皮石斛幼芽等无菌材料是由该实验室培育。将色绿、无分化、呈桑葚状的原球茎接种于 MS+2.0 mg/L 6-BA+0.8 mg/L NAA 培养基^[3]中进行芽分化培养。

选取分化所得的长度 1.0~1.5 m、具有 2~3 片真叶的无根幼芽作试验材料。

1.2 试验方法

1.2.1 不同培养基类型对铁皮石斛幼芽分蘖及生根的影响 将分化芽分别转接于不同类型固体培养基(1/2MS、B₅、N₆)上,添加琼脂 7 g/L,蔗糖 30 g/L。每处理接 10 瓶,每瓶接种 5 个芽,培养室温度(25±2)℃,以日光灯为光源,光照强度 2 000 lx,每天光照 12 h。培养 60 d 后,测量和统计各处理中芽的平均分蘖数、生根率、株高和生长状况等指标。

1.2.2 不同浓度 NAA 对铁皮石斛幼芽分蘖及生根的影响 将分化芽先后分别转接于不同浓度 NAA(1.0、2.0、3.0 mg/L)的 1/2MS 培养基上,添加琼脂 7 g/L,蔗糖 30 g/L。每处理接 10 瓶,每瓶中接 5 个芽,培养室温度(25±2)℃,以日光灯为光源,光照强度 2 000 lx,每天光照 12 h。培养 60 d 后,测量和统计各处理中芽的平均分蘖数、平均生根数、株高和生长状况等指标。

1.2.3 不同天然添加物对铁皮石斛幼芽分蘖及生根的影响 将分化芽先后分别转接于含有不同浓度香蕉泥(10%、20%)或土豆泥(10%、20%)的 1/2MS+2.0 mg/L NAA 培养基上,添加琼脂 7 g/L,蔗糖 30 g/L。每处理接 10 瓶,每瓶中接 5 个芽,培养室温度(25±2)℃,以日光灯为光源,光照强度 2 000 lx,每天光照 12 h。培养 60 d 后,测量和统计平均分蘖数、平均生根数等指标。

1.3 项目测定

芽的平均分蘖数=测量芽总数/接种芽总数,生根率=生根芽的个数/接种数,平均生根数=长度大于 1 mm 根的总数/接种芽总数,株高用游标卡尺测量每处理中最高植株的基部到顶叶末端的距离。

第一作者简介:梁淑颖(1987-),女,广东佛山人,硕士,研究方向为中药质量评价。E-mail:lsy87714@yahoo.cn.

责任作者:曾令杰(1970-),男,博士,教授,研究方向为中草药 GAP 与品质评价。E-mail:zlj334477@yahoo.com.cn.

基金项目:广东省科技计划重点资助项目(2012A030100012)。

收稿日期:2013-03-07

2 结果与分析

2.1 培养基类型对铁皮石斛幼芽生长的影响

由表 1 可知,3 种基本培养基均可诱导幼芽分蘖,但不同类型培养基对幼芽分蘖的影响存在差异。在 1/2MS 培养基中,幼芽的分蘖数较多,平均每株可分蘖

出 2 个芽,生根诱导率高达 53.3%,明显优于其它处理。在 B₅ 培养基中,幼芽分蘖数和株高仅次于 1/2MS,生根率较低,但茎叶生长状态较好。在 N₆ 培养基中幼芽生根率低,茎细,茎叶生长迟缓,有黄叶和封顶现象。因此,铁皮石斛幼芽的分蘖培养优选 1/2MS 作为基本培养基。

表 1 培养基类型对铁皮石斛幼芽生长的影响

Table 1 The effects of medium types on the buldet growth of *Dendrobium officinale*by

培养基	接种芽总数/个	平均分蘖数/个	生根率/%	株高/cm	生长情况
1/2MS	50	2.17±0.12	53.3	2.33±0.16	茎较细,叶绿,生长较好,有黄叶无封顶
B ₅	50	1.92±0.07	26.7	2.12±0.21	茎较细,叶浅绿,生长较好,有黄叶无封顶
N ₆	50	1.48±0.05	20.0	1.87±0.19	茎细,叶浅绿,生长迟缓,有黄叶偶有封顶

2.2 不同浓度 NAA 对铁皮石斛幼芽生长的影响

从表 2 可以看出,NAA 对铁皮石斛幼芽的分蘖和生根影响较大。若不添加 NAA,幼芽的平均生根数只有 0.73 条,当加入 NAA 后,幼芽的平均分蘖数、生根数和根长随 NAA 浓度的增大呈现先升后降的趋势,并在浓度为 2.0 mg/L 时达最大值,分别为 3.81 个、4.45 条

和 3.15 cm。而株高随 NAA 浓度的增大一直呈上升趋势,在浓度为 3.0 mg/L 时取得最大值 3.02 cm。该试验结果表明,一定浓度的 NAA 可促进铁皮石斛幼芽的分蘖、生根和增高,但浓度过高时,对幼芽的分蘖与生根抑制作用明显。因此 2.0 mg/L NAA 最适合铁皮石斛幼芽的分蘖与生长。

表 2 不同浓度 NAA 对幼芽生长的影响

Table 2 The effects of different concentrations of NAA on the buldet growth of *Dendrobium officinale*by

编号	培养基	NAA 浓度 /mg·L ⁻¹	接种芽总数 /棵	平均分蘖数 /个	平均生根数 /条	平均根长 /cm	株高 /cm	生长情况
CK	1/2MS	0	50	2.17±0.12	0.73±0.10	0.63±0.04	2.33±0.21	茎较细,叶绿,生长较好,有黄叶无封顶
1	1/2MS	1.0	50	3.00±0.06	3.23±0.19	1.90±0.09	2.64±0.12	茎较粗,叶绿,生长较好,有黄叶无封顶
2	1/2MS	2.0	50	3.81±0.19	4.45±0.25	3.15±0.04	2.95±0.09	茎较粗,叶绿,生长较好,偶有黄叶无封顶
3	1/2MS	3.0	50	3.02±0.07	2.43±0.11	2.59±0.04	3.02±0.21	茎较粗,叶绿,生长较好,偶有黄叶偶有封顶

2.3 天然添加物对铁皮石斛幼芽生长的影响

由表 3 可知,不同天然添加物对铁皮石斛幼芽的生长存在较大的影响。培养基中添加 10% 香蕉泥时,幼芽分蘖多,分蘖数为 4.24 个;根诱导率高,达每株生根 5~6 条,平均根长为 5.31 cm;茎叶生长旺盛,茎粗,株高为 3.42 cm。添加 20% 香蕉泥的处理对铁皮石

斛芽的分蘖和生根能力不及添加 10% 香蕉泥,且偶有封顶现象发生。在添加 10% 或 20% 土豆泥的培养基中,幼芽的分蘖数和平均生根数均低于添加 10% 香蕉泥,偶有封顶现象。可见,香蕉泥对幼芽分蘖和生根的促进作用较土豆泥大。因此,10% 香蕉泥最适合铁皮石斛幼芽的生长。

表 3 不同天然添加物对幼芽生长的影响

Table 3 The effects of different natural additives on the buldet growth of *Dendrobium officinale*by

天然添加物	培养基	NAA 浓度 /mg·L ⁻¹	接种芽总数 /棵	平均分蘖数 /个	平均生根数 /条	平均根长 /cm	株高 /cm	生长情况
CK	1/2MS	2.0	50	3.81±0.19	4.45±0.25	3.15±0.04	2.95±0.09	茎较粗,叶绿,生长较好,偶有黄叶无封顶
10% 香蕉泥	1/2MS	2.0	50	4.24±0.13	5.49±0.18	5.31±0.10	3.42±0.15	茎粗,叶深绿,生长旺盛,无黄叶无封顶
20% 香蕉泥	1/2MS	2.0	50	3.60±0.15	4.13±0.13	4.91±0.13	3.26±0.17	茎粗,叶深绿,生长旺盛,无黄叶偶有封顶
10% 土豆泥	1/2MS	2.0	50	3.92±0.07	4.80±0.08	4.36±0.11	3.12±0.10	茎较粗,叶深绿,生长较好,无黄叶偶有封顶
20% 土豆泥	1/2MS	2.0	50	3.71±0.06	4.60±0.03	3.57±0.14	2.88±0.07	茎较粗,叶深绿,生长较好,无黄叶偶有封顶

3 讨论

在组织培养中,不同类型培养基所含的化学成分及

其浓度各异,不同植物及植物的不同生长阶段对营养成分的需求亦不相同,因此筛选合适类型的培养基是组织

培养的首要任务。该试验发现幼芽在 1/2MS 培养基中分蘖较多,生根诱导率高,茎叶生长旺盛。这与吴辉等^[4]研究得到 1/2 MS 培养基适合金钗石斛试管苗生根的结果相似。

香蕉泥和土豆泥都属于天然添加物,它们的某些成分对植物的生长起到促进或抑制的作用,蒋林等^[5]研究报道,香蕉泥对石斛芽的增殖和生根壮苗效果突出而土豆泥主要用于壮苗。该研究结果表明,香蕉泥对幼芽的分蘖与生根的促进作用明显优于土豆泥,并以浓度 10% 香蕉泥的促进作用最突出。

该试验中,铁皮石斛幼芽在添加 10% 香蕉泥的 1/2MS 培养基中生长较好,但谢寅峰等^[6]研究得到 MS 基本培养基添加 20% 香蕉泥时霍山石斛生根效果最好。石斛品种不同,所需营养成分的浓度存在差异,这可能是导致试验结果不同的原因。

植物体内的植物激素含量极低,但其对植物的生长起着重要的作用。组织培养中常用的植物激素有生长素和细胞分裂素等。NAA 作为一种生长素,在一定浓度范围内,对愈伤组织、离体根和芽的生长都有促进作用^[7]。在以往石斛的研究中,NAA 被广泛用于原球茎的分化、丛生芽增殖及生根壮苗等方面。该试验研究了不同浓度 NAA 对铁皮石斛幼芽生长的影响,发现芽的平均分蘖数及平均生根数随 NAA 浓度的增加呈先升后降的趋势,并得出浓度为 2.0 mg/L NAA 最适合铁皮石斛幼芽的生长。但廖俊杰等^[8]报道,NAA 与 6-BA 适当配合可促进石斛丛生芽的诱导与增殖,何涛等^[9]的试验研究成果也证实了此点。因此二者的配合使用是否更有利于幼芽的分蘖,以及二者浓度比的确立还有待进一步研究。

生根方面,石玮等^[10]、蒋林等^[5]对霍山石斛和流苏石斛试管苗生根的研究表明 NAA 和 IBA 对石斛试管苗生根率的影响显著。但不同浓度 IBA 对生根率的影响不同。潘虹虹等^[11]对春石斛试管苗的生根进行研究时指出,低浓度的 IBA 生根作用明显,生根率高达 97%,但浓度过高对根的生长起抑制作用。此结论也与黎建玲等^[12]的研究结果相同。因此,在铁皮石斛幼芽生根试验中,IBA 的添加及其浓度的控制还需作进一步研究。

参考文献

- [1] 王立安. 铁皮石斛生境小记[J]. 植物杂志, 1990(4): 29.
- [2] 付开聪, 连守臣, 冯德强, 等. 黑节草资源的应用与开发[J]. 中草药, 1999, 30(9): 708.
- [3] 蒋向辉, 余朝文, 王善粉, 等. 不同激素浓度对铁皮石斛高效快繁体系的影响[J]. 江苏农业科学, 2010(1): 76-78.
- [4] 吴辉, 赵俊, 宋锡全, 等. 四种不同培养壤对诱导金钗石斛幼苗生根的影响[J]. 贵州科学, 2007, 25(2): 65-67.
- [5] 蒋林, 卓宇, 莫昭展, 等. 流苏石斛丛生芽增殖和生根的研究[J]. 时珍国医国药, 2012, 23(9): 2310-2312.
- [6] 谢寅峰, 徐丽, 王莹, 等. 霍山石斛组培丛生芽诱导增殖及生根技术[J]. 林业科技开发, 2007, 21(6): 72-74.
- [7] 罗晓峰. 植物生长调节剂在葡萄生产上的应用[J]. 福建果树, 2007(3): 32-35.
- [8] 廖俊杰, 许继勇, 李进, 等. 铁皮石斛试管种苗产业化生产的技术因素分析[J]. 中药材, 2006(6): 533-535.
- [9] 何涛, 淳泽, 汪天杰, 等. 铁皮石斛腋芽的快速繁殖[J]. 中国野生植物资源, 2010, 29(1): 58-61.
- [10] 石玮, 罗建平, 黄秀彦, 等. 生长调节物质对霍山石斛试管苗生根的影响[J]. 中草药, 2003, 34(10): 954-957.
- [11] 潘虹虹, 孙丹, 廉美兰, 等. 几种外部因子对春石斛组培生根的影响[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(29): 12591-12592, 12594.
- [12] 黎建玲, 黄肇宇, 詹源庆, 等. 金钗石斛试管苗生根研究[J]. 广西科学院学报, 2006, 22(2): 87-89.

Study on the Factors Affecting Tillering and Rooting of Buldet of *Dendrobium officinale* Kimura et Migo in Culture Medium

LIANG Shu-ying, ZENG Ling-jie

(College of Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou, Guangdong 510006)

Abstract: With plumules of *Dendrobium officinale* as explants, the effect of different pure culture mediums, various concentrations of NAA and different natural medium supplements on tillering and rooting of buldet of tissue culture of *Dendrobium officinale* were studied, in order to screen the cultivation conditions of the tillering and rooting of buldet of *Dendrobium officinale*. The results showed that tillering and rooting of buldet were distinctly influenced by types of medium, NAA concentration, types and concentration of natural medium supplement in culture medium. Culture medium of 1/2MS was suitable for tillering propagation. 2.0 mg/L NAA and 10% mashed potato were good for tillering and rooting.

Key words: *Dendrobium officinale* Kimura et Migo; tissue culture; tillering; rooting