

# 不同浓度激素配比对重唇石斛组织培养的影响

王一诺, 李林轩, 韦莹, 李翠, 肖冬, 韦坤华

(广西壮族自治区药用植物园, 广西药用资源保护与遗传改良重点实验室, 广西南宁 530023)

**摘要:**以重唇石斛(*Dendrobium hercoglossum* Rchb. f.)成熟种子为外植体, MS为基本培养基, 研究了植物生长调节素种类及浓度对重唇石斛继代增殖和生根的影响。结果表明:重唇石斛最佳的启动培养基为MS+6-BA 1.5 mg·L<sup>-1</sup>+NAA 0.5 mg·L<sup>-1</sup>。利于继代增殖的培养基为MS+6-BA 2.0 mg·L<sup>-1</sup>+NAA 0.4 mg·L<sup>-1</sup>+KT 0.2 mg·L<sup>-1</sup>+AC 1.0 g·L<sup>-1</sup>, 最佳的生根壮苗培养基为MS+6-BA 0.5 mg·L<sup>-1</sup>+NAA 2.0 mg·L<sup>-1</sup>+AC 1.0 g·L<sup>-1</sup>, 平均根长3.12 cm, 生根率达到90%以上。

**关键词:**重唇石斛; 组织培养; 继代增殖; 生根培养

**中图分类号:**S 567.23<sup>+</sup>9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)10-0148-04

重唇石斛(*Dendrobium hercoglossum* Rchb. f.)属兰科石斛属多年生草本, 产自安徽、江西南部、湖南、广东西南部、海南、广西、贵州西南部、云南东南部, 生于海拔590~1 260 m的山地密林中的树干上和山谷湿润的岩石上<sup>[1]</sup>。目前, 药用石斛已发现约150余种, 作为名贵的中药材, 具有悠久的历史。在自然条件下, 石斛属的种子由于缺乏胚乳组织, 繁殖率极低, 通常采用分株繁殖的方式, 但由于该种方法的生长周期长且得到的有效苗数有限, 不能在短期内满足大量种苗的要求<sup>[2]</sup>。因此, 石斛的药材多来自野生资源, 而过度的采挖, 使石斛的野生资源受到严重的破坏, 加之繁育技术的不过关让石斛资源受到威胁。

重唇石斛不仅具有极高的观赏价值, 花色鲜艳, 气味芳香, 被喻为“四大观赏洋花之一”。同时也是一种名贵的中药材, 味甘、淡, 性微寒, 具有滋阴益胃、清热润肺的功效, 外用治跌打损伤, 内服治咽喉痒、咳嗽<sup>[3]</sup>。为更好的开发重唇石斛的观赏价值和中药材资源, 现通过对重唇石斛组织培养的技术研究, 筛选出不同优势的培养基, 探索有效的重唇石斛繁育技术, 以实行对其野生资源的保

护, 使其满足药材需求量的同时保护其生物的多样性, 更为重唇石斛进一步实现工厂化快速繁殖提供技术参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试重唇石斛(*Dendrobium hercoglossum* Rchb. f.)采自广西壮族自治区药用植物园科研基地内健壮无病害的植株, 选取其生长良好未开裂的成熟蒴果。

### 1.2 试验方法

1.2.1 外植体消毒 将采回的重唇石斛蒴果在流水下清洗表面的污垢, 并置于烧杯中用2%的洗洁精溶液浸泡5 min, 然后流水冲洗10 min。将材料移至超净工作台上, 用75%乙醇表面消毒10~15 s, 无菌水冲洗1~2次, 用0.1% HgCl<sub>2</sub>浸泡10~15 min进行消毒, 无菌水浸泡清洗3~4次, 每次约2~3 min, 将升汞溶液彻底的洗出。在无菌的器皿中用解剖刀将蒴果切开, 用镊子将胚撒播在诱导培养基中, 接种后摇动培养瓶, 使种子散布均匀。

1.2.2 继代增殖 取无菌的重唇石斛的芽接种于添加不同浓度6-BA、NAA、KT的MS基本培养基中, 培养基中添加30 g·L<sup>-1</sup>蔗糖、4.5 g·L<sup>-1</sup>琼脂、1 g·L<sup>-1</sup>活性炭, pH 5.8, 置于光照强度1 500~2 200 lx, 光照时间为12 h·d<sup>-1</sup>, 培养温度为22~28℃, 考察对重唇石斛继代的影响。

1.2.3 生根培养 选取继代增殖培养中健壮的无菌苗, 单切为茎段, 接种到添加不同浓度植物激素配比的6-BA、NAA的MS基本培养基中, 其中还添加30 g·L<sup>-1</sup>蔗糖、4.5 g·L<sup>-1</sup>琼脂, pH 5.8, 培养条件同上, 观察试验过程中不同培养基中重唇石斛的生根情况并记录试验结果。

**第一作者简介:**王一诺(1984-), 女, 广西梧州人, 硕士, 研究实习员, 现主要从事药用植物组织培养等研究工作。E-mail: yyzwyw-inuo@sina.com.

**责任作者:**韦坤华(1983-), 女, 博士, 副研究员, 现主要从事药用植物生物技术等研究工作。E-mail: divinekh@163.com.

**基金项目:**广西科学基金资助项目(桂科自0991025Z); 广西科学研究与技术开发计划资助项目(桂科合14125008-2-21); 广西医疗卫生重点科研课题资助项目(重200908); 广西科学研究与技术开发计划资助项目(桂科重1355001-3-4)。

**收稿日期:**2015-12-30

2 结果与分析

2.1 种子萌发诱导试验

在诱导培养基中接入重唇石斛的种子后,观察接入种子的微小变化,并记录试验结果。由表 1 可以看出,在 A1~A6 诱导培养基中,接入种子大概 20 d 后,胚明显的增大,且大部分固定在培养基上。35 d 左右,膨大的胚开始慢慢转绿,逐渐萌发为原球茎,随着培养时间的增加,原球茎的顶端产生叶原基突起。65 d 后在 A5 诱

导培养基中最先出现小苗的叶片,并于 80 d 统计种子的萌发情况。当 6-BA 的浓度不变,NAA 的浓度在 0.1~0.5 mg · L<sup>-1</sup> 范围时,随着 NAA 浓度的增加,有利于重唇石斛种子的萌发。当 NAA 的浓度不变时,6-BA 的浓度在 1.0~2.0 mg · L<sup>-1</sup>,随着浓度的增加有利于种子的诱导,但浓度过高则不利于萌发。MS+6-BA 1.5 mg · L<sup>-1</sup> + NAA 0.5 mg · L<sup>-1</sup> 配比组合时种子的诱导率最高,几乎全部萌发成苗,叶色翠绿,小苗健壮整齐(图 1)。

表 1 不同培养基对重唇石斛种子诱导的影响  
Table 1 Effects of different medium on seed inducing *Dendrobium hercoglossum* Rchb. f.

处理 Treatment	6-BA 浓度 Concentration of 6-BA/(mg · L <sup>-1</sup> )	NAA 浓度 Concentration of NAA/(mg · L <sup>-1</sup> )	接种瓶数 Number of vaccination bottles	每瓶平均种子萌发数 The average number of seed germination per bottle/个
A1	0.5	0.1	10	68
A2	0.5	0.2	10	80
A3	0.5	0.5	10	87
A4	1.0	0.5	10	102
A5	1.5	0.5	10	132
A6	2.0	0.5	10	114



图 1 重唇石斛种子诱导情况

Fig. 1 The seed inducing of *Dendrobium hercoglossum* Rchb. f.

2.2 继代增殖

将无菌的重唇石斛小苗接种于添加不同激素配比

的继代增殖培养基中,观察接入小苗的变化。接入 30 d 后,幼苗开始分化,一段时间后芽数开始慢慢增多。由表 2 可知,当 6-BA 的浓度在 1.0~3.0 mg · L<sup>-1</sup> 的范围,随着浓度的增加对重唇石斛的生长和叶的分化有利,但浓度过高时,芽苗生长过快使得茎较细,当 6-BA 的浓度超过 3.0 mg · L<sup>-1</sup> 之后芽苗的生长质量反而下降,有效的芽苗数量减少,因此 6-BA 的浓度 2.0 mg · L<sup>-1</sup> 效果优于 3.0 mg · L<sup>-1</sup>,在培养基中加入 KT 有利于苗的生长,添加 NAA 亦利于芽苗的生长,但同时也会促进根的生成。经过多次的试验重复发现,在 B5 培养基 (MS+6-BA 2.0 mg · L<sup>-1</sup> + NAA 0.4 mg · L<sup>-1</sup> + KT 0.2 mg · L<sup>-1</sup> + AC 1 g · L<sup>-1</sup>) 的激素配比利于重唇石斛的继代增殖,芽苗的生长情况良好,叶片颜色翠绿,苗茁壮,部分会出现幼根(图 2)。

表 2 不同培养基对重唇石斛继代的影响

Table 2 Effects of different medium on subculture *Dendrobium hercoglossum* Rchb. f.

处理 Treatment	6-BA 浓度 Concentration of 6-BA/(mg · L <sup>-1</sup> )	NAA 浓度 Concentration of NAA/(mg · L <sup>-1</sup> )	KT 浓度 Concentration of KT/(mg · L <sup>-1</sup> )	生长情况 Growth situation
B1	1.0	0.1	0.0	细,长势较慢
B2	1.0	0.2	0.2	粗,芽黄绿色
B3	1.0	0.4	0.5	粗,绿色
B4	2.0	0.2	0.0	粗,绿色
B5	2.0	0.4	0.2	粗壮,翠绿色
B6	2.0	0.1	0.5	粗,黄绿色
B7	3.0	0.4	0.0	粗,绿色
B8	3.0	0.1	0.2	细,绿色
B9	3.0	0.2	0.5	细

2.3 生根培养

为了寻找重唇石斛生根的最适培养基,设置不同的处理,以 MS 为基本培养基添加不同的浓度激素 6-BA、NAA,将在继代增殖中生长健壮的无根苗接入不同处理

的生根培养基中,培养 60 d 后统计生根情况。

由表 3 可知,重唇石斛在 MS+6-BA 0.5 mg · L<sup>-1</sup> + NAA 2.0 mg · L<sup>-1</sup> + AC 1.0 g · L<sup>-1</sup> 培养基中,生根效果最好,植株长势健壮,平均根长 3.12 cm,生根率达到



图2 重唇石斛继代情况

Fig. 2 The subculture of *Dendrobium hercoglossum* Rchb. f.

表3 不同培养基对重唇石斛生根的影响

Table 3 Effects of different medium on rooting *Dendrobium hercoglossum* Rchb. f.

处理编号 Treatment	6-BA 浓度 Concentration of 6-BA /(mg · L <sup>-1</sup> )	NAA 浓度 Concentration of NAA /(mg · L <sup>-1</sup> )	AC 浓度 Concentration of AC /(g · L <sup>-1</sup> )	接种数 Number of vaccination /个	生根数 Root number /个	平均根长 The average root length /cm
C1	0.1	0.0	0.0	50	0	0.00
C2	0.1	1.0	0.0	50	25	2.11
C3	0.1	1.0	1.0	50	31	2.49
C4	0.2	0.0	0.0	50	3	1.51
C5	0.2	1.5	0.0	50	29	2.31
C6	0.2	1.5	1.0	50	35	2.88
C7	0.5	0.0	0.0	50	4	1.67
C8	0.5	2.0	0.0	50	38	3.01
C9	0.5	2.0	1.0	50	45	3.12

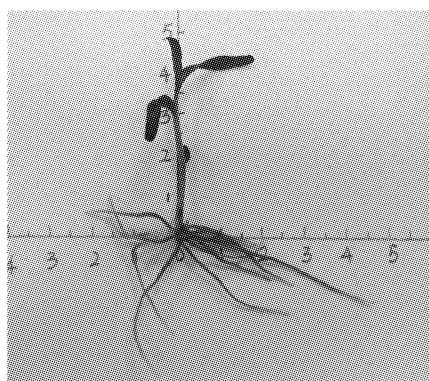


图3 重唇石斛生根情况

Fig. 3 The rooting of *Dendrobium hercoglossum* Rchb. f.

### 3 讨论

在组织培养过程中,培养基内激素浓度的配比常因研究对象的不同而出现较大的差异<sup>[4]</sup>,6-BA 是使用最广泛的一种细胞分裂素,在继代增殖的组织培养过程中组培苗的繁殖系数和质量在很大程度上受到细胞分裂素的影响<sup>[5]</sup>。若 6-BA 的浓度过高,会使组培苗新芽发生簇节,枝条拔节困难,伸长变慢,且芽数难已分清<sup>[6]</sup>。KT 作为外源性细胞分裂素在组织培养过程中能促进细胞的分裂和分化,使侧芽发生发育<sup>[7]</sup>,NAA 是一种具有促进细胞的分裂

90%,每株苗平均生根数有 4~6 根,根系主次分明,主根相对粗壮,叶片平展浓绿,利于试管苗的移栽。在生根培养基中 6-BA 影响苗的生长,当培养基中只加入 6-BA 时,重唇石斛基本不生根,只有极少量的芽苗有幼弱的根,但利于苗的长高。NAA 和 AC 都能促进生根,二者配合使用时,生根效果最优。

#### 2.4 再生苗的移栽

选取经壮苗生根后,根系发达的重唇石斛的生根苗移至 25 ℃ 的温室内放置,将瓶盖打开并保持瓶内的水分充足,练苗 3~5 d。取出生根苗,将根部的培养基洗净。于阴天傍晚移栽于栽培的基质中,小苗移栽后浇透水定根。基质以排水、透气良好,不易发霉为宜。培养条件为温度 23~30 ℃,光照为自然光,大棚上部覆盖一层遮阳网,遮光度为 15%~30%,相对湿度为 85%~90%。

和诱导不定根形成的植物生长调节素,但其也常常使组培材料容易发生老化,形成愈伤组织<sup>[8]</sup>。在组织培养快速繁育过程中,为了缩短培养时间,满足生产上的需要,会在培养基中添加不同种类、不同浓度的植物生长调节素,使其在各个培养基段中得到最佳的效果。该试验中,重唇石斛的诱导在 MS+6-BA 1.5 mg · L<sup>-1</sup>+NAA 0.5 mg · L<sup>-1</sup> 培养基中诱导率最高,几乎全部萌成苗,叶色翠绿,小苗健壮整齐。在重唇石斛继代增殖的过程中,6-BA 的浓度为 2.0 mg · L<sup>-1</sup> 时最优,在添加 6-BA 的同时,配合 NAA 和 KT 的使用,并使其达到合适的比例,才能达到较为理想的效果,NAA 和 KT 的联合使用对芽苗的增殖起到一定辅助作用。重唇石斛在 MS+6-BA 2.0 mg · L<sup>-1</sup>+NAA 0.4 mg · L<sup>-1</sup>+KT 0.2 mg · L<sup>-1</sup>+AC 1.0 g · L<sup>-1</sup> 的培养基中继代增殖的效果最好,芽苗的生长情况良好,叶片颜色翠绿,芽苗茁壮,有效苗芽数最多。植物生长调节素与重唇石斛的生根数和根的形态有密切的关系,在低浓度时,生根数较少、细;随着浓度增加,生根数亦随着增加;但浓度过高时,不利于生根和芽苗的生长。在培养基中添加活性炭(AC)存在生根效果较好的现象,这可能与重唇石斛喜欢生长在岩石上这一特质有关。重唇石斛在 MS+6-BA 0.5 mg · L<sup>-1</sup>+NAA 2.0 mg · L<sup>-1</sup>+AC 1.0 g · L<sup>-1</sup> 培养基中生根率达到 90%,主根相对粗壮,叶片平展浓绿,利于试管苗的移栽。

# 西瓜新品种“陕农 10 号”的选育

马建祥<sup>1</sup>, 张显<sup>1</sup>, 张勇<sup>1</sup>, 李好<sup>1</sup>, 相中信<sup>2</sup>, 杨瑞平<sup>1</sup>

(1. 西北农林科技大学 园艺学院, 陕西 杨凌 712100; 2. 陕西秦兴种苗有限公司, 陕西 西安 710016)

**摘要:**“陕农 10 号”是以自交系 11-4 为母本, 自交系 792 为父本选育而成的西瓜新品种一代杂交种。中熟、果实发育期 35 d, 全生育期 98 d; 易坐果, 果实椭圆形, 果形指数 1.4; 果皮绿色覆墨绿色中宽条带, 皮厚 1.2 cm, 硬韧, 耐贮运; 果肉红色, 肉质沙细, 汁多纤维少、口感佳、品质优, 中心可溶性固形物含量 11.8%, 中边糖梯度小; 抗病、抗逆性强; 单瓜质量 8.2 kg, 平均 667 m<sup>2</sup> 产量 4 567.5 kg。适宜陕西省西瓜种植区种植。

**关键词:**西瓜; “陕农 10 号”; 选育

**中图分类号:**S 651.603.3 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2016)10-0151-03

随着社会的发展, 人民生活水平的提高, 消费者对西瓜品质的要求也越来越高, 西瓜育种的发展趋势也更

**第一作者简介:**马建祥(1970-), 男, 硕士, 副研究员, 研究方向为西瓜育种及栽培技术。E-mail: majianxiang@126.com.cn.

**基金项目:**现代农业产业技术体系建设专项资金资助项目(nycytx-36-01-02-06); 陕西省科技统筹创新工程计划资助项目(2014KTCL02-02); 西北农林科技大学唐仲英育种基金资助项目(77); 西安市科技计划资助项目(NC1302(2))。

**收稿日期:**2015-02-14

加注重品质, 结合市场需求和育种发展趋势, 该试验以自交系 11-4 为母本, 自交系 792 为父本选育西瓜新品种, 以期达到优质、稳产、抗病的育种目标。

## 1 选育过程

母本 11-4: 由‘Charleston Gray’与“伊选”杂交, 经 7 代自交纯化选择。植株长势中等, 适应性广。坐瓜整齐, 全生育期约 97 d。果实生育期约 36 d, 主蔓第 7~8 节着生第 1 个雌花, 以后每隔 5~6 节现 1 个雌花。果实

## 参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社, 1979.
- [2] 徐红, 刘俊, 王峰涛, 等. 鼓槌石斛组织培养研究[J]. 中国中药杂志, 2001, 26(6): 378-381.
- [3] 贾敏如, 李星炜. 中国民族药志要[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2005.
- [4] 常俊, 丁小余, 宝曙琳, 等. 喇叭唇石斛组织培养的研究[J]. 中国中药杂志, 2004, 29(4): 313-317.

- [5] 李林轩, 韦坤华, 唐美琼, 等. 正交试验优化山豆根组织培养条件[J]. 中药材, 2012, 35(4): 514-517.
- [6] 赵玉辉, 郭印山. 巨玫瑰葡萄试管苗扩繁增殖试验[J]. 中外葡萄与葡萄酒, 2005(5): 42-43.
- [7] 张占江, 李翠, 吕惠珍, 等. 条叶唇柱苣苔组织培养研究[J]. 种子, 2013, 9(32): 19-22.
- [8] 邱运亮, 段鹏慧, 赵华. 植物组培快繁技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2010: 68-69.

## Effect of Different Concentration of Hormones on *Dendrobium hercoglossum* Rchb. f. Tissue Culture

WANG Yinuo, LI Linxuan, WEI Ying, LI Cui, XIAO Dong, WEI Kunhua

(Guangxi Botanical Garden of Medicinal Pant/Guangxi Key Laboratory of Medicinal Resources Protection and Genetic Improvement, Nanning, Guangxi 530023)

**Abstract:** *Dendrobium hercoglossum* Rchb. f. spore was used as the explants and the MS was used as the basic culture medium, the effects of different hormone combinations on subculture, root culture were investigated. The results indicated that the best initial medium was MS+6-BA 1.5 mg · L<sup>-1</sup>+NAA 0.5 mg · L<sup>-1</sup>. The most effective medium for cluster inducing and subculture was MS+6-BA 2.0 mg · L<sup>-1</sup>+NAA 0.4 mg · L<sup>-1</sup>+KT 0.2 mg · L<sup>-1</sup>+AC 1.0 g · L<sup>-1</sup>. And the best rooting medium was MS+6-BA 0.5 mg · L<sup>-1</sup>+NAA 2.0 mg · L<sup>-1</sup>+AC 1.0 g · L<sup>-1</sup>. The average root length was 3.12 cm, and rooting ratio was above 90%.

**Keywords:** *Dendrobium hercoglossum* Rchb. f.; tissue culture; subculture; rooting culture