铁皮石斛的组培快繁技术研究进展

陈 勇　刘和平 *　唐海尧　林剑波　张俊丽　李彤丰　关广胜

（阳江职业技术学院，广东　阳江　529566）

摘　要：铁皮石斛是我国名贵濒危药材，药效显著，但是传统种植方法繁殖率低，利用组织培养繁殖技术，扩大铁皮石斛产量，成为提高其经济价值的重要方式。本文参考多年来国内外铁皮石斛组织培养相关文献，对铁皮石斛的快速繁殖关键技术进行了总结。

关键词：铁皮石斛；组织培养；快速繁殖

DOI:10.14051/j.cnki.xdyy.2017.18.003

铁皮石斛（*DendrobiumcandidumWal1．exLind1*）是兰科石斛属多年生附生草本植物，主要分布于西南和江南各省，属于国家二级保护名贵濒危药材[1]。现代药理研究表明，铁皮石斛具有抗肿瘤、抗衰老、增强人体免疫力和扩张血管的功效[2]。但铁皮石斛的种子极小、无胚乳，在自然条件下，需与某些真菌共生才能萌发，故很难生产足够的实生苗用于栽培。而传统的分株、扦插等方式繁殖率极低，为了保护这一濒危的名贵中药，国内的学者开展了铁皮石斛的组培快繁、种子萌发及菌根方面的繁殖研究，取得了一定的进展。现将近年来铁皮石斛的快速繁殖关键技术进行总结。

1　铁皮石斛快速繁殖关键技术

1.1　外植体选取

铁皮石斛自然繁殖率低下，因此，利用组织培养技术来快速繁殖是解决铁皮石斛种苗的有效途径。目前，铁皮石斛外植体主要有种子、无菌苗幼苗茎段等。饶宝蓉[3]等研究表明，从无菌系建立效率来看，种子外植体优于茎段外植体，种子诱导感染率为 8%~13%，而茎段诱导感染率为 48%~62%。从生长整齐度来看，也是种子外植体优于茎段外植体。

2.2　初代培养基选择

在铁皮石斛的组织培养技术中，选择合适的培养基是尤为关键的环节，不同的物种、同一物种不同品种、同一植物不同位置的外植体材料，在不同培养阶段、不同培养目的，所对应的最适培养基也不同。

2.2.1 基本培养基。初代培养基时常用诱导或分化培养基，培养基中的生长素和细胞分裂素的配比和浓度最为重要，诱导不定芽时，需要较高的细胞分裂素。诱导愈伤组织形成，增加生长素的浓度，并补充一定浓度的细胞分裂素是十分必要的。铁皮石斛组织培养基包括 MS、1/2MS、改良 MS、B5、VW 等，主要由于外植体来源不同所致。

林江波[4]等研究得出，通过对各处理因子不同水平的 SSR 检验，MS 和 1/2MS 基本培养基的诱导率均值分别为 28.5 和 17.3，差异不显著，与 VW 诱导率均值 4.9 差异达到显著水平；杨立昌[5]等研究发现，铁皮石斛的愈伤组织在 1/2MS 培养基上的出芽率比 MS 培养基要好，说明在适当的激素浓度及其组合下，低盐培养基有利于不定芽的分化。

2.2.2 激素及添加物。铁皮石斛的愈伤组织培养常用的基本激素主要有 6-BA、2,4-D、NAA、IBA 等。常用的添加物主要为一些天然有机物，这些都能够为外植体提供一些必要的微量营养成分、生理活性物质和生长激素等，对铁皮石斛原球茎的增殖和分化有促进作用。王福喜[6]通过试验发现，添加 6-BA 4.0mg/L+NAA 0.5mg/L+IBA 0.3mg/L 的改良 MS 培养基培养，增值率 1∶5 以上，可见增值率高。蒋向辉[7]等在用赤霉素处理对幼叶成苗的试验中发现，成苗率明显较高，且最适浓度是 1.5mg/L。

2.3　继代培养基选择

铁皮石斛原球茎增殖是铁皮石斛组织培养过程中一个十分重要的环节，通过诱导石斛产生原球茎，可为之后的分化、壮苗生根奠定基础。培养基中，植物生长调节剂对植物细胞分裂、诱导器官形成和次生产物的合成都具有重要作用。但由于不同品种或不同增殖途径等原因，所研究得出的结果也不尽相同。

2.3.1 原球茎增殖与分化。唐桂香[8]等研究表明，不论是固体还是液体培养基，均以添加 6-BA 1.0mg/L 和 NAA 0.1mg/L 有利于原球茎诱导增殖，增殖系数分别达到 10.3 和 17.1。林江波[4]等研究表明，通过对各处理因子不同水平的 SSR 检验，原球茎增殖的最佳培养基为 MS9+蔗糖 30g/L；原球茎分化的最佳培养基为 1/2MS+蔗糖 10g/L+10%马铃薯泥；陈兆贵[9]等研究表明，原球茎增殖以 MS+NAA 1.0mg/L+6-BA 1.0mg/L+KT 1.0mg/L 培养增殖倍数达到 5 倍；原球茎分化以 MS+NAA 1.0mg/L+6-BA 3.0mg/L+KT 1.0mg/L 培养分化率达 84%。

谢启鑫等[10]研究得出，原球茎增殖的最佳培养基为 1/2MS+0.5mg/L 6-BA+0.5mg/L NAA+ 20%马铃薯提取液，每代增殖 16 倍，原球茎形态好、变异少；原球茎团于 1/2MS+2mg/L 6-BA+0.25mg/L NAA+20%马铃薯提取液的培养基上可诱导丛芽分化，于 MS+0.5mg/L NAA+20%香蕉汁 +活性炭 5g/L 的培养基上易于诱导不定根的形成，60d 后可形成健壮的完整小植株。

2.3.2 芽增殖。李宏博[11]等研究表明，在 B5+蔗糖 30 g/L+NAA 0.2mg/L＋香蕉汁 100mg/L＋琼脂 5.5g/L 培养，芽增殖效果较优。蔺红苹[12]等研究，以石斛兰幼芽得出较好的继代培养基为 MS+6-BA 0.5mg/L+2,4-D 0.5 mg/L+10%椰乳。在试验结果中可以看出，在适宜石斛兰生长的生长素和细胞分裂素浓度的范围内，生长素和细胞分裂素的比值越小，越有利于芽的生长。且在培养基中添加适量的活性碳，可以防止植

作者简介：陈勇（1986-），男，广东吴川人，助理实验师，从事园艺专业教学与科研工作。

* 通讯作者：刘和平（1976-），湖南衡阳人，博士，副教授，从事园林植物生物技术、园林植物栽培。

?1994-2017 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

“夏音玛斯卡特”葡萄的光合特性研究

郭凯斌　李 升　乔 光*

(贵州大学农业生物工程研究院 / 生命科学学院，山地植物资源保护与种质创新教育部重点实验室，贵州　贵阳　550025)

摘　要：以‘夏音玛斯卡特’葡萄为试材，利用 Li-6400 光合测定系统对其光合特性进行研究，探索‘夏音玛斯卡特’葡萄光合生产力，为其引种和栽培提供理论依据。结果表明：夏音玛斯卡特’葡萄光合速率（Pn）日变化为‘双峰’曲线，峰值分别出现在 11：30 和 15：30，为 5.14 μmoL/m²·s 和 3.71 μmoL/m²·s 且具有光合“午休”现象。Pn 对 PAR、CO_2 浓度响应均可用二次方程‘$y= ax^2+bx+c$’描述。供试葡萄的光补偿点（LCP）和光饱和点（LSP）分别为 101.55 μmoL/m²·s 和 1450 μmoL/m²·s。表光量子效率（AQY）为 0.014。CO_2 补偿点（CCP）为 134.15 μmoL/moL，CO_2 饱和点（CSP）为 1188 μmoL/moL。羧化效率（CE）为 0.030，光合能力（Pm）为 8.73 μmoL/m²·s。

关键词：葡萄；光合特性；日变化

DOI:10.14051/j.cnki.xdyy.2017.18.004

葡萄具有较强的适应性，是全世界栽培面积和产量第一的落叶果树[1]。贵州省自然条件优越，立体气候明显，拥有许多葡萄栽培适宜区，近年来葡萄种植面积不断扩大，但在生产过程中存在品种单一、管理粗放等问题[2]。夏音玛斯卡特葡萄又称“阳光玫瑰”，欧美杂交种，穗重 500～1000g，粒重 10～12g，该品种外形美观、果肉甜酸适口、有浓郁香味、抗病性和丰产性好等优点，深受消费者喜爱[3]，现已在广西[4]、上海[5]、浙江[6]、河南[7]、江苏[8]等省区引种成功。为了丰富贵州鲜食葡萄品种，延长葡萄供应期，特引进该品种在贵州葡萄宜栽区遵义县种植。

目前，关于夏音玛斯卡特葡萄在各栽植区引种表现及栽培技术的研究较多，有关光合特性的研究较少。刘帅等分别研究了不同砧木和选择性透光技术对夏音玛斯卡特葡萄幼苗叶片光合特性的影响，结果发现，不同砧木嫁接的夏音玛斯卡特葡萄幼苗叶片净光合速率日变化均呈双峰曲线，但气孔导度、蒸腾速率等差异较大[9]；红网、红膜处理对不同时期葡萄的净光合速率、气孔导度和蒸腾速率都有明显的促进作用，降低了胞间 CO_2 浓度，表明选择性透光技术可提高葡萄的光合能力[10]。本研究以“夏音玛斯卡特”葡萄为试材，从光合日变化、光强响应和 CO_2 浓度响应等方面对其光合特性进行研究，探索夏音玛斯卡特葡萄在贵州宜栽区的光合生产力，为其引种栽培、提高产量和品质提供理论依据。

1　材料与方法

1.1　材料

试验设在贵州省遵义县龙坪镇葡萄种植园中进行，试验地平均海拔 900m，年平均降雨量约 1200mm，年均温度 15.7℃，年均日照 1150h，无霜期 270 d。试材为大棚栽植“夏音玛斯卡特”葡萄，5 年生植株，株行距为 1.5m×2m，株高约 2m。

1.2　方法

于 2016 年 7 月中旬，选取生长势基本一致的植株 3 株，每株选择长势中等、完整健康的第 1 次梢枝条第 5～7 节位成熟叶片挂牌标记，采用美国 Li-COR 公司生产的 Li-6400 型便携式光合测定系统进行光合测定。

基金项目：黔科合农 NY 字 20143057 号

作者简介：郭凯斌，男，在读硕士，研究方向：植物生理生化。

* 通讯作者：TeL：13518504594，E-maiL：13518504594@163.com

物组织自身的酚类物质排泌和变褐老化，对形态发生和器官形成有良好作用，通常使用浓度为 0.5～10g/L。

在前人研究的结果中可以看出，不同的研究人员，在铁皮石斛培养的不同阶段，所得出的结果都有小的区别。这可能跟不同研究人员选取的铁皮石斛品种不同、外植体类型不同而造成。因此，在铁皮石斛组织培养的培养基配方选择上，要根据具体的品种、外植体类型等实际情况选择培养配方。

参考文献

1　自美发，黄敏.铁皮石斛组培技术研究[J].安徽农业科学，2008（36）

2　陆兵.铁皮石斛组织培养研究进展[J].黑龙江农业科学，2009（2）

3　饶宝蓉，陈泳和，江文清等. 铁皮石斛不同外植体组培快繁技术比较[J].安徽农业科技，2017（4）

4　林江波，王伟英，李海明等.铁皮石斛茎段原球茎的诱导、分化与植株再生[J].福建农业学报，2016（31）

5　杨立昌，乙引等.铁皮石斛快速繁殖体系研究[J].北方园艺，2010（22）

6　王福喜.铁皮石斛组织培养研究[J].阴山学刊，2011（1）

7　蒋向辉，余朝文等.不同激素浓度对铁皮石斛高效快速繁殖体系的影响[J].江苏农业科学，2010（1）

8　唐桂香，黄福灯，周伟军.铁皮石斛的种胚萌发及其离体繁殖研究[J].中国中药杂志，2005（20）

9　陈兆贵，谭俊.不同激素配比对铁皮石斛组织培养的影响研究[J].惠州学院学报，2006（3）

10　谢启鑫，宋小明，黄东华，等.铁皮石斛的种子培养[J].北方园艺，2010（8）

11　李宏博，张宏宇，朴钟云.铁皮石斛组织培养研究[A]．第九届全国药用植物及植物药学术研讨会论文集[C]，2010

12　蔺红苹.不同培养基成分对石斛兰继代和生根的影响[J].北方园艺，2010（4）

（责任编辑　王蔓）

?1994-2017 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net