

不同激素配比对铁皮石斛组织培养的影响研究

陈兆贵, 谭俊

(惠州学院 生命科学系, 广东 惠州 516007)

摘要:在铁皮石斛组织培养过程中, 通过筛选适宜铁皮石斛原球茎增殖、分化、壮苗和生根的培养基, 以提高增殖系数和试管苗的质量。结果表明: 原球茎增殖以 MS + NAA1.0 mg/L + 6-BA1.0 mg/L + KT1.0 mg/L 为最佳; 原球茎分化以 MS + NAA1.0 mg/L + 6-BA3.0mg/L + KT1.0 mg/L 为最佳; 壮苗生根以 1/2MS + IBA2.0 mg/L + 水解酪蛋白 500mg/L + 10%香蕉提取液为最佳, 45 天生根率达 92%。

关键词:铁皮石斛; 组织培养; 激素; 原球茎

中图分类号:Q942 **文献标识码:**A **文章编号:**1671-5934(2006)03-0011-04

铁皮石斛为多年生附生草本植物, 是极其珍贵的中药材, 由于长期采挖, 使得野生铁皮石斛资源面临枯竭, 供应紧张; 加上铁皮石斛繁殖系数低, 远不能满足生产上的需要^[1]。为保护这一珍贵中药品种, 许多学者对铁皮石斛种子和茎尖培养技术进行了研究, 但大多数试管苗增殖系数低、试管苗茎细小、细弱、移栽成活率不高, 影响了铁皮石斛试管苗快繁和大规模的工厂生产^[2-5]。本研究在前人研究的基础上, 以铁皮石斛为研究材料, 系统地研究不同激素对石斛原球茎增殖、分化及试管苗壮苗、生根等影响, 为工厂化育苗提供技术支撑。

1 材料和方法

1.1 材料

选取在铁皮石斛试管苗培养过程中诱导的原球茎进行增殖和分化, 原球茎呈小圆锥状, 每一团原球茎包含多个原球茎, 原球茎顶端有鳞片状的叶原基突起, 呈淡绿色、尚未分化出真叶; 将已分化出真叶的丛生芽用于壮苗和诱导生根。

1.2 试验方法

以 MS 或 1/2 MS 为基本培养基, 根据不同的培养目的, 添加不同浓度的激素、蔗糖和附加物等, 调节培养基 pH 值 5.8, 光照培养室温度保持在 28℃左右, 光照强度 2000lx, 每天光照 12 小时。

1.2.1 原球茎增殖的激素配比试验

选取相同条件下生长良好的原球茎, 切成 1.5cm 直径的团块, 分别接种到 7 种不同的培养基 (表 1)。每种培养基接种 5 瓶, 每瓶接种 3 个原球茎团, 35 天后统计结果。

1.2.2 原球茎分化的激素配比试验

选取相同条件下生长良好的原球茎, 切成 1.5cm 直径的团块, 分别接种到 7 种不同的培养基 (表 2)。每种培养基接种 5 瓶, 每瓶接种 3 个原球茎团, 45 天后统计结果。

1.2.3 试管苗的壮苗和生根

选取株高为 1-2cm 左右, 具有 1-2 片真叶的无根丛生苗, 分别接种到不同的培养基中。每种培养

收稿日期: 2006-02-12

基金项目: 惠州学院科研项目 (C203. 0204) 和惠州学院博士启动基金项目 (C502. 0201)

作者简介: 陈兆贵 (1973-), 男, 广西蒙山人, 惠州学院生命科学系副教授, 主要从事遗传学的教学和研究工作。

基接种5瓶,每瓶接种5株小苗,45天后统计结果。

2 结果与分析

2.1 石斛原球茎的增殖

在石斛组织培养过程中,石斛原球茎增殖是一个十分关键的环节,通过诱导石斛产生原球茎,将所得的原球茎进行分化形成丛生芽,再将丛生芽培养成小苗,从而达到快速繁殖的目的。影响石斛原球茎增殖中一个关键因素是培养基中激素浓度的配比。为研究激素对比对石斛原球茎增殖的影响,以MS为基本培养基,附加NAA、6-BA和KT等激素进行配比试验,结果表明:(1)6-BA或KT与NAA配合使用有利于原球茎的增殖,原球茎生长状况良好,原球茎簇生、较为松散、黄绿色;(2)处理⑥原球茎增殖效果最好,原球茎增殖倍数达到5倍,说明适宜的NAA、6-BA和KT浓度对原球茎的增殖起到促进作用(表1,图1)。

表1 不同激素对石斛原球茎增殖的影响

激素浓度:mg/L

编号	NAA	6-BA	KT	接种数	增殖程度	原球茎生长状况
①	-	-	-	15	-	未增殖、原球茎变黄
②	0.5	0	-	15	+	簇生、较为致密、黄绿
③	1.0	0.5	-	15	++	簇生、较为松散、黄绿
④	1.0	-	0.5	15	++	簇生、较为致密、黄绿
⑤	1.0	0.5	0.5	15	+++	簇生、较为致密、绿
⑥	1.0	1.0	1.0	15	++++	簇生、松散、深绿
⑦	1.5	0.5	0.5	15	+++	簇生、松散、绿

注:由于原球茎较小,难以计算其数量,只能以原球茎团的大小表示其增殖,以“+”表示增殖程度的大小。

2.2 石斛原球茎的分化

为研究不同培养基对石斛原球茎分化的影响,以MS为基本培养基,附加NAA、6-BA和KT等进行激素配比试验。培养45天后统计原球茎分化的情况,结果表明,(1)单独使用NAA对原球茎的健壮度、整齐度有促进作用,但分化率不高;而只加入6-BA和KT的培养基虽然能促进原球茎的分化,但会影响原球茎的健壮度、整齐度;(2)NAA、6-BA和KT配合使用能有效地促进原球茎的分化,且分化效果较好,过高或过低浓度的激素均不利于铁皮石斛原球茎的分化。根据本实验结果,较为理想的激素浓度为6-BA 2.0-3.0 mg/L, NAA 0.5-1.0 mg/L, KT 1.0 mg/L(表2,图2)。

表2 不同激素对铁皮石斛原球茎分化的影响

激素浓度:mg/L

编号	NAA	6-BA	KT	分化芽数	健壮度	整齐度	分化率
①	-	-	-	31	++	++	42%
②	-	0.5	-	37	+	++	35%
③	0.5	-	-	26	+++	+	50%
④	-	-	0.5	44	+	++	59%
⑤	-	1.0	1.0	49	+++		66%
⑥	1.0	2.0	1.0	52	+++		70%
⑦	1.0	3.0	1.0	63	+++	+++	84%
⑧	1.0	4.0	1.0	65	++	++	87%

2.3 试管苗的壮苗和生根

为研究不同添加物对石斛试管苗壮苗和生根的影响,以1/2MS为基本培养基,分别附加NAA、IBA、

水解酪蛋白、香蕉提取液,培养45天后统计试管苗壮苗和生根的情况。壮苗研究结果表明:(1)在培养基中只加入NAA或IBA,铁皮石斛生长不理想,植株长势差,健壮度低;(2)在培养基中加入水解酪蛋白和香蕉提取液可使植株长势良好,提高植株健壮度(表3,图3)。

表3 不同添加剂对铁皮石斛试管苗壮苗的影响

激素浓度:mg/L

编号	NAA	IBA	水解酪蛋白	香蕉提取液	平均株高 (cm)	叶长 (cm)	植株长势	健壮度
①	1.0	-	-	-	3.0	1.0	叶淡绿	+
②	2.0	-	-	-	3.3	1.4	叶淡绿	+
③	-	1.0	-	-	3.3	1.3	叶淡绿	+
④	-	2.0	-	-	3.5	1.6	叶淡绿	+
⑤	-	2.0	500	-	3.8	2.1	叶深绿	++
⑥	-	2.0	-	10%	4.0	2.3	叶深绿	++
⑦	-	2.0	500	10%	4.3	2.6	叶深绿	+++

生根研究结果表明:(1)只加入NAA或IBA,生根情况不理想,生根率低,植株长势差,健壮度低;(2)加入适量的水解酪蛋白和香蕉提取液可使植株长势良好,加入香蕉提取液可明显提高生根率和植株健壮度,由于根的分化形成,加快了植株对营养的吸收,促进了茎叶的生长,达到了壮苗生根的目的(表4,图4)。

表4 不同添加剂对铁皮石斛试管苗生根的影响

激素浓度:mg/L

编号	NAA	IBA	水解酪蛋白	香蕉提取液	平均根长 (cm)	生根数	生根率	植株长势
①	1.0	-	-	-	3.0	1.0	20%	叶淡绿,根细长
②	2.0	-	-	-	3.3	1.4	28%	叶淡绿,根细长
③	-	1.0	-	-	3.3	1.3	25%	叶淡绿,根细长
④	-	2.0	-	-	3.5	1.6	30%	叶淡绿,根细长
⑤	-	2.0	500	-	3.8	2.1	56%	叶深绿,根细长
⑥	-	2.0	-	10%	4.0	2.3	80%	叶深绿,根粗壮
⑦	-	2.0	500	10%	4.3	2.6	92%	叶深绿,根粗壮

3 结论与讨论

影响铁皮石斛组织培养的因素主要有基本培养基、激素配比、有机添加物及培养条件等。前人研究表明,激素配比对于铁皮石斛原球茎的诱导、增殖、分化及生根壮苗均有重要的影响^[5-7]。

本试验对铁皮石斛原球茎增殖、分化、壮苗生根的激素配比进行研究,结果表明:(1)增殖最佳激素配比为MS+NAA1.0mg/L+6-BA1.0mg/L+KT1.0mg/L,35天增殖倍数达到5倍;(2)分化最佳激素配比为MS+NAA1.0mg/L+6-BA3.0mg/L+KT1.0mg/L,45天原球茎分化率达84%;(3)壮苗生根最佳培养基为1/2MS+IBA2.0mg/L+水解酪蛋白500mg/L+10%香蕉提取液。对于原球茎增殖和分化最佳激素种类和浓度配比,不同学者研究结果有差异,周俊辉等的研究认为原球茎增殖需要较低的NAA浓度NAA1.0mg/L,王春认为使用6-BA2.0mg/L有利于原球茎增殖,蒋波等认为1/2MS添加BA2.0mg/L+NAA0.5mg/L或BA3.0mg/L+NAA0.5mg/L有利于原球茎增殖,1/2MS添加BA2.0-3.0mg/L+NAA0.2mg/L有利于原球茎分化。综合本试验与前人研究结果,认为铁皮石斛原球茎增殖较为合适激素配比:6-BA0.5-1.0mg/L+NAA1.0mg/L+KT1.0mg/L;分化较为理想的激素配比:6-BA2.0-3.0mg/L+NAA0.5-1.0mg/L+KT1.0mg/L。

蒋林和李小军等研究认为附加物中含有各种天然营养成分及各种植物生长调节物质,对于石斛试管苗的生根壮苗较为有利,本试验结果也证实了这一点,但本试验在使用附加物的种类和浓度与前人有所不同^[7,9]。

参考文献:

- [1]陈瑞蕊,林先贵,施亚琴.药用石斛及其组培技术研究概要[J].江苏农业科学,2002,(5):65-66.
- [2]张明,夏鸿西,张玉进等.石斛组织培养研究进展[J].中国中药杂志,2000,25(6):323-326.
- [3]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,2005,30(20):1583-1586.
- [4]朱艳,秦民坚.铁皮石斛茎段诱导丛生芽的研究[J].中国野生植物资源,2003,22(2):56-57.
- [5]蒋波,杨存亮,黄捷,等.铁皮石斛原球茎生长分化及生根壮苗研究[J].玉林师范学院学报:自然科学版,2005,26(3):66-69.
- [6]蒋林,丁平,郑迎冬.添加剂对铁皮石斛组织培养和快速繁殖的影响[J].中药材,2003,26(8):539-540.
- [7]周俊辉,钟雪锋,蔡丁稳.铁皮石斛的组织培养与快速繁殖研究[J].仲恺农业技术学院学报,2005,18(1):23-26.
- [8]王春.石斛兰组织培养及快繁技术研究[J].浙江林业科技,2002,2:38-40.
- [9]李小军,刘石泉,潘维陵,等.香蕉提取物对霍山石斛试管苗壮苗的影响[J].江苏大学学报:自然科学版,2004,25(6):469-472.

【责任编辑:王国莉】

Effects of Different Hormone Proportions on Tissue Culture of *Dendrobium Officinale*

CHEN Zhao-gui, TAN Jun

(Department of Life Science, Huizhou University, Huizhou 516007, Guangdong China)

Abstract: The study was aimed at selecting the optimum culture media for protocorm multiplication, differentiation, rooting and seedling strengthening of *dendrobium officinale* to raise the coefficient of succesivertansfer multiplication and the quality of plant. The result showed that MS plus (NAA 1.0 mg/L + 6-BA 3.0 mg/L + KT 1.0 mg/L) is the best media for protocorm multiplication. MS adding (NAA 1.0 mg/L + 6-BA 3.0 mg/L + KT 1.0 mg/L) is the best media for protocorm differentiation. 1/2 MS plus IBA 2.0 mg/L + 10% banana juice + casein hydroly - sate is the best media for rooting and seedling strengthening, and the growth rate reached 92% after 45 days.

Key words: *dendrobium officinale*; tissue culture; hormone; protocorm

附



图1 原球茎增殖



图2 原球茎分化



图3 试管苗壮苗



图4 试管苗生根