

细叶石斛原球茎和丛生芽增殖的研究

□莫昭展¹, 林凤华², 韦江萍³

(1. 玉林师范学院 化学与生物系 副教授 博士, 广西 玉林 537000)

(2. 玉林师范学院 化学与生物系 本科生, 广西 玉林 537000)

(3. 玉林师范学院 化学与生物系 本科生, 广西 玉林 537000)

【摘要】为了筛选出适合细叶石斛原球茎增殖、丛生芽增殖的培养基配方, 把相同发育阶段的原球茎接种于含不同激素浓度的培养基中生长; 把丛生芽接种于激素浓度不同的培养基中生长. 研究结果初步表明在 $MS+0.05mg \cdot L^{-1}NAA+0.15 mg \cdot L^{-1} 6-BA$ 培养基比较适合原球茎的增殖, $MS+0.6mg \cdot L^{-1} NAA+1.0 mg \cdot L^{-1} 6-BA$ 培养基对丛生芽的增殖效果较好.

【关键词】细叶石斛; 组织培养; 原球茎; 丛生芽

【中图分类号】Q94**【文献标识码】**A**【文章编号】**1004-4671(2007)03-0061-04

Studies on Multiplication of *Dendrobium Hancockii* Rofle protocorm and bud

MO Zhao-zhan¹, LIN Feng-hua², WEI Jiang-ping³

(1. Ph.D Associate Professor, Department of Chemistry and Biology, Yulin Normal University, Yulin, Guangxi 537000)

(2. Undergraduate, Department of Chemistry and Biology, Yulin Normal University, Yulin, Guangxi 537000)

(3. Undergraduate, Department of Chemistry and Biology, Yulin Normal University, Yulin, Guangxi 537000)

Abstract: In order to select suitable culture media for multiplication of *Dendrobium hancockii* Rofle protocorm and buds, the same growth stage of protocorm were cultured in the medium with different density hormone comparison in the culture condition; the fascicular buds were cultured in the media with different hormone density. The results showed that $MS+0.05mg \cdot L^{-1}NAA+0.15 mg \cdot L^{-1} 6-BA$ was best medium for multiplication of protocorm, $MS+0.6mg \cdot L^{-1}NAA+1.0 mg \cdot L^{-1} 6-BA$ was best medium for multiplication of bud.

Key words: *Dendrobium hancockii* Rofle; Issue Cultivation; Protocorm; Fascicular bud

在

本草纲目及现今的《中华人民共和国药典》均记载石斛具有生津养胃、清音明目、消炎止咳、益精壮骨等功效^[1], 历来为我国传统名贵药材, 其中尤以铁皮石斛((*Dendrobium officinale* Kimura et Migo) 和细茎石斛[D. *Moniliforme*(L.) Sw.]等加工成的枫斗最受市场欢迎, 由于资源稀缺, 价格高昂. 为了进一步开发石斛药用植物资源, 本试验研究不同激素及浓度组合对细叶石斛(*Dendrobium hancockii* Rolfe)原球茎增殖、分化的影响. 旨在筛选出适合细叶石斛原球茎增殖、丛生芽增殖的培养基配方, 为细叶石斛的工厂化生产提供理论依据和技术支持, 并为进一步研究外源激素对原球茎发生发育作用的生理生化机制奠定基础.

1 材料和方法

1.1 材料 本试验所用的原球茎是细叶石斛的种子离体培养产生, 种子于 2003 年采自云南腾冲, 经中国科学院昆明植物研究所昆明植物园孙卫邦研究员鉴定, 凭证标本存放于玉林师范学院化生系植物标本室. 细叶石斛试管苗在培养的过程中分化出的原球茎, 每个原球茎呈小圆锥状, 多个原球茎聚生在一起, 呈桑椹状. 原球茎顶端有鳞片状的叶原基突起, 呈淡绿色, 未有真叶分化; 丛生芽由原球茎分化而来, 无根, 簇生, 未能单独分离成株.

1.2 方法

1.2.1 原球茎增殖 选取生长旺盛的原球茎, 按约 $1 \sim 2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度, 分散接种于 MS 及 1/2MS 基本培养基上, 每种培养基, 分别添加不同浓度的 6-BA 和 NAA, 蔗糖 $25 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 琼脂 $7.2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$; 每种

不同激素浓度配比的培养基上分别接种 40 瓶, 培养温度 $26 \pm 1^\circ\text{C}$, 光照 $10 \sim 12 \text{ h/d}$, 光照强度为 $1500 \sim 1600 \text{ lux}$, 40d 后统一进行统计.

1.2.3 丛生芽增殖 将原球茎增殖产生的生长良好, 大小一致的丛生芽从根部切下, 接种于 MS 基本培养基上, 每瓶接种 5 丛, 分别添加不同浓度的 6-BA 和 NAA, 蔗糖 25 g/L , 琼脂 7.2 g/L , 培养温度 $26 \pm 1^\circ\text{C}$, 光照 $10 \sim 12 \text{ h/d}$, 光照强度为 $1500 \sim 1600 \text{ lux}$. 60d 后, 统一进行统计

2 结果与分析

2.1 40d 后对原球茎增殖统一检测(见表 1), 其中 1 号 ($1/2\text{MS}+0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}\text{NAA}+0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}6\text{-BA}$)培养基增殖最快, 2 号($1/2\text{MS}+0.10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}\text{NAA}+0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}6\text{-BA}$)和 3 号($1/2\text{MS}+0.15 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}\text{NAA}+0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}6\text{-BA}$)培养基次之, 最慢是 6 号($\text{MS}+0.15 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}\text{NAA}+0.15 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}6\text{-BA}$)培养基. 原球茎在增殖过程中会产生芽分化, 其中 3 号培养基分化最快, 2 号培养基次之, 6 号培养基没有出现分化. 由表一可以看出培养基类型对原球茎的增殖有较大影响, 在 1/2MS 培养基上原球茎增殖较快, 但原球茎水渍状明显, 有玻璃化倾向, 同时分化也较快. 而在 MS 培养基上原球茎增殖要慢一些, 但颗粒明显, 呈黄绿, 形态较正常, 尤其是 4 号($\text{MS}+0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}\text{NAA}+0.15 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}6\text{-BA}$)培养基的原球茎增殖速度较快, 分化少, 颗粒明显, 呈黄绿, 形态正常. 因此 4 号培养基是一种比较适合的原球茎增殖配方. 由表一可以看出 NAA 的加入对分化原球茎有一定的促进作用.

表 1 不同激素浓度的培养基对原球茎增殖的影响

编号 No.	基本培养基	激素浓度 / $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$		原球茎增殖	分化情况	特点
		NAA	6-BA			
1	1/2MS	0.05	0.2	++++	+	水渍状明显
2	1/2MS	0.10	0.2	+++	++	下层水渍状明显
3	1/2MS	0.15	0.2	+++	+++	水渍状明显
4	MS	0.05	0.15	++	+	颗粒明显, 黄绿
5	MS	0.10	0.15	+	++	颗粒明显, 黄绿, 有水渍状
6	MS	0.15	0.15	+		颗粒明显, 黄绿

注: (1)原球茎增殖一列中“+”表示增殖倍数高于 2 倍; 原球茎分化一列中用“+”表示 25% 以上原球茎出芽.



图1 4号培养基中的原球茎增殖



图2 3号培养基中丛生芽的增殖

2.2 丛生芽增殖

由表2可以看出,同一种培养基类型中,不同的激素浓度对丛生芽的增殖效果差异较大,其中MS+0.6mg·L⁻¹NAA+1.0 mg·L⁻¹ 6-BA 的增殖速度最快,苗健壮、整齐(见图2),而MS+0.3mg·L⁻¹NAA+1.0 mg·L⁻¹ 6-BA 增殖速度最慢,苗弱而不整齐,所以选择不同的激素浓度对丛生芽增殖影响较大。

3 结论与讨论

目前,对细叶石斛研究比较少,仅对植物的资源分布做了一些工作^[2-4]。黎明^[5]等对细叶石斛根、茎、叶的解剖构造进行了初步研究,希望为石斛属植物的分类、商品药材鉴定提供解剖学依据。陈云龙^[6]等对细叶石斛茎上部、茎中部、茎下部和根中的多糖、生物碱和矿质元素含量进行了分析,并研究了其水溶性提取物对SD大鼠胸主动脉血管的舒张效应。华允芬等^[7]研究了细茎石斛、细叶石斛和铁皮石斛三种药用植物石斛在多糖质量分数、分布、组成以及分子相对质量大小上的差异。但对细叶石斛组织培养的研究未见报道,本研究对细叶石斛的快速繁殖具有重要意义。

3.1 培养基类型对原球茎的增殖有较大影响,在1/2MS培养基上原球茎增殖较快,但原球茎水渍状明显,有玻璃化倾向,同时分化也较快。而在MS培养基上原球茎增殖要慢一些,但颗粒明显,呈黄绿,形态较正常,初步可以看出MS+0.05mg·L⁻¹NAA+0.15 mg·L⁻¹ 6-BA 培养基比较适合原球茎的增殖,NAA的加入对原球茎的分化有一定的促进作用。

3.2 同一种培养基类型中,不同的激素浓度对丛生芽的增殖效果差异较大。

3.3 本次研究由于时间所限,对原球茎的增殖仅考虑了MS及1/2MS培养基,对其他的基本培养基的研究今后再深入;对不同激素浓度的组合没有采用正交设计方法,为了筛选更适合原球茎增殖的激素浓度的组合,还需要进一步实验。

表2 不同激素浓度对丛生芽增殖和生长的影响

编号 No.	基本培 养基	激素浓度 /mg·L ⁻¹		增殖系数	特点
		NAA	6-BA		
1	MS	0.3	1.0	2.1	苗弱,不整齐
2	MS	0.5	1.0	3.50	苗弱,不整齐
3	MS	0.6	1.0	5.25	苗壮,整齐
4	MS	1.0	1.0	3.65	苗弱

3.4 丛生芽增殖中仅考虑了 NAA 的浓度变化,为了筛选更适合的丛生芽增殖的激素浓度组合,需要进一步实验。

【参考文献】

- [1] 包雪声,顺庆生,陈立钻.中国药用石斛彩色图谱[M].上海:上海医科大学出版社,2001,6~12.
- [2] 卢炯林,高立献.河南石斛属植物的调查研究[J].武汉植物学研究,1991,9(2):148~152.
- [3] 沙文兰,罗金裕.中药石斛鉴定研究[J].药物医学报,1980,15(6):351~357.

- [4] 吉占和.中国石斛属的初步研究[J].植物分类学报,1980,18(4):472.
- [5] 黎明等.细叶石斛营养器官的解剖学研究[J].河南农业科学,2005(5):58~62.
- [6] 陈云龙等.细叶石斛有效成分分析及其水溶性提取物的血管舒张活性[J].植物资源与环境学报,2003,12(1):6~9.
- [7] 华允芬,陈云龙,张铭.三种药用石斛多糖成分的比较研究[J].浙江大学学报(工学版),2004,38(2):249~252.

【收稿日期 2007-01-18】

【责任编辑 谢文海】

(上接第 60 页)

肠胃、滋阴补血、抗癌保健的作用,在医药上有很高的利用价值,由于人工培养的红菇菌丝还未取得良好的效益,研究其特殊的生活条件就成为培养的关键问题。本实验通过设计两个阶段的实验对比,筛选出红菇菌丝生长的最佳温度在 23℃~25℃,最佳的菌丝保藏温度在 4℃~10℃左右,高温或低温都会影响菌丝体内酶的活性,从而影菌丝的生长。因此,在以后的栽培过程中应该控制好菌丝的生长温度,同时也要注意控制杂菌的感染,保证菌丝的质量与生产效益。

【参考文献】

- [1] 王青云,石木标.中国红菇的研究现状与展望[J].中国食用菌,2004,23(4):10~12.
- [2] 许旭萍,李惠珍,黄德鑫.红菇生态的研究[J].中国食用菌,2001,20(2):25~27.

- [3] 黄福常,莫天砚,刘斌.环境因素对正红菇纯培养的影响及红菇菌剂制备研究[J].广西农业大学学报,1998,17(1):40~45.
- [4] 许旭萍,李惠珍,李淑冰等.正红菇深层培养菌丝体与野生子实体有效成分的分析比较[J].菌物系统 2003,22(1):107~111.
- [5] 陈少珍,黄思良,闭志强等.野生红菇菌丝体分离技术研究[J].中国农学通报,2004,20(2):5~7.
- [6] 甘耀坤,赵良发,戴卢等.野生红菇研究综述[J].玉林师范学院学报,2005.3[26(3)]70~74.
- [7] 姚汝华.温度对微生物生长的影响[J].微生物工程工艺原理,广州,华南理工大学出版社,2005-09:189~190.
- [8] 蔡信之,黄君红.菌种的保藏,微生物学[M].北京:高等教育出版社,2002-10:195~196.

【收稿日期 2006-12-16】

【责任编辑 谢文海】