

金线莲组织培养和移栽技术研究

陈兆贵

(惠州学院 生命科学系, 广东 惠州 516007)

摘要: 文章通过筛选适宜金线莲丛芽诱导、增殖和生根的培养基和研究影响试管苗移栽的条件, 建立起金线莲组织培养的技术体系。结果表明: 金线莲丛芽诱导以 MS + 6 - BA3.0 mg/L + NAA0.5 mg/L + KT1.0 mg/L 为最佳; 丛芽增殖以 MS + 6 - BA3.0 mg/L + NAA0.5 mg/L 为最佳; 生根以 1/2MS + IBA1.0 mg/L + NAA1.0 mg/L 水解酪蛋白 0.5% + 0.5% 活性碳为最佳; 在移栽中, 以混合土 (普通土: 沙质土: 有机肥 = 1: 1: 1) 作为基质为较好, 移栽成活率达到 90.9%。

关键词: 金线莲; 组织培养; 激素

中图分类号: Q943.1 文献标识码: A 文章编号: 1671 - 5934(2007)06 - 00014 - 04

金线莲为兰科开唇兰属 (*Anoectochilus*) 多年草本陆生植物, 是一种名贵的中草药, 在民间素有“药王”的美誉。它能清凉解毒、滋阴降火、消炎止痛, 对无名肿痛、发烧、止泻、蛇伤等均有显著的疗效, 且无毒副作用^[1]。其植株高 8—20cm, 小巧美观、叶型优美, 叶脉呈金黄色网状排列, 极具观赏价值, 市场供不应求, 具有广阔的开发利用前景。由于金线莲对生态条件要求较严, 随着生态条件的恶化和过度采集, 金线莲的生存状况受到了极大的影响, 野生资源逐渐枯竭^[2]。对金线莲进行组织培养技术研究, 建立经济、高效的种苗繁殖技术, 对于解决种苗供需矛盾及药用开发, 具有重要的意义。近年来, 国内对金线莲的组织培养和移栽技术进行一些研究, 主要探讨基本培养基、激素配比、有机添加物及培养条件对金线莲组织培养和快繁的影响, 但在金线莲组织培养和快繁方面仍然存在污染严重, 繁殖系数低等问题^[3-7]。本试验筛选适宜金线莲丛芽诱导、增殖和生根的培养基和研究影响试管苗移栽的条件, 建立起金线莲组织培养的技术体系, 为金线莲的人工栽培提供技术支持。

1 材料和方法

1.1 材料

试材为本实验室培养的金线莲组培苗, 取其茎段进行接种。接种前按常规方法进行消毒。

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, 调节培养基 pH 值, 光照培养室温度保持在 26—28℃, 光照强度 2000 lx, 每天光照 12 h。

1.2.1 丛芽诱导试验

选取相同条件下生长良好的金线莲, 消毒后取其茎段, 分别接种到 6 种不同的培养基, 每种培养基接种 6 瓶, 每瓶接种 5—7 个茎段, 分别于 30 d 和 45 d 后统计结果。

1.2.2 丛芽增殖的激素配比试验

选取已诱导出芽的茎段, 切断接种到 4 种不同培养基中, 每种培养基接种 15 瓶, 每瓶接种 4—5 个芽, 分别于 30 d 和 45 d 后统计结果。

1.2.3 促根壮苗试验

选取株高 2 cm 左右的, 具有 2—3 个分株的无根丛生苗, 分别接种到不同的培养基中, 每种培养基接种 15

收稿日期: 2007 - 06 - 30

资金项目: 惠州学院科研项目 (C₂03.0204), 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, 博士, 副教授, 研究方向为遗传学的教学和科研。

瓶，每瓶接种2株小苗，30 d后统计结果。

1.2.4 试管苗移栽试验

移栽前，打开培养瓶，进行炼苗1w。植株移栽前，首先将根部的琼脂培养基冲洗干净，然后移栽到5种不同基质中，观察试管苗的生长状况，30 d统计结果。

2 结果与分析

2.1 不同激素配比对金线莲芽诱导的影响

为研究不同激素配比对金线莲芽的诱导的影响，以MS为基本培养基，附加6-BA、NAA和KT进行激素配比试验。分别在30 d和45 d后统计金线莲芽诱导情况，结果表明（表1）：（1）6-BA、NAA和KT配合使用，能有效地诱导金线莲茎节诱导出芽，但不同的激素配比对金线莲的芽的诱导效果差异较大，在NAA和KT浓度一定的情况下，增加6-BA浓度，能提高芽的诱导率，其中以第⑤组处理芽诱导率达到最高，45 d芽诱导率达到83.3%；（2）在一定范围内，随着培养时间的增加，芽诱导率有所增加（表1，图1）。此外，在试验中，还诱导少量的原球茎（图2）。

表1 不同激素配比对金线莲原丛芽诱导的影响

编号	激素浓度 (mg/L)			统计茎段数	芽诱导率 (%)	
	6-BA	NAA	KT		30 d	45 d
①	1.0	0.5	1.0	31	25.8	45.2
②	1.0	1.0	1.0	37	24.3	35.1
③	2.0	0.5	1.0	33	36.4	54.6
④	2.0	1.0	1.0	41	43.9	56.1
⑤	3.0	0.5	1.0	30	56.7	83.3
⑥	3.0	1.0	1.0	35	45.7	71.4



图1 芽诱导

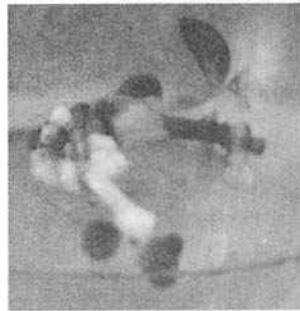


图2 原球茎诱导



图3 芽增殖



图4 生根

2.2 不同激素配比对金线莲芽增殖的影响

在金线莲的组织培养过程中，芽的增殖是一个十分关键的环节，只有提高芽增殖倍数，才能达到快速繁殖

的目的。在金线莲继代培养过程中,影响金线莲芽增殖的一个关键因素是培养基中激素浓度的配比。为了研究激素配比对金线莲芽增殖的影响,以MS为基本培养基,附加6-BA和NAA进行配比试验,结果表明(表2,图3):6-BA和NAA配合使用,有利于金线莲芽的增殖,处理③芽增殖效果最好,增殖倍数为2.29,但在总体上各处理之间芽增殖效果差异不够明显,可能与金线莲的芽诱导时激素的累积造成的后效作用有关;随着培养时间的延长,芽增殖的倍数有所增加。

表2 不同激素配比对金线莲芽增殖的影响

编号	激素浓度(mg/L)		接种数	芽增殖倍数	
	6-BA	NAA		30 d	45 d
①	1.0	0.2	45	1.38	1.82
②	2.0	0.2	54	1.35	1.66
③	3.0	0.5	61	1.65	2.29
④	4.0	0.5	47	1.25	2.09

2.3 不同添加物对金线莲生根的影响

为了研究不同添加物对金线莲试管苗的生根的影响,以1/2 MS为基本培养基,分别附加IBA、NAA、水解酪蛋白和活性碳,培养30 d后统计试管苗生根的情况。结果表明:(1)在培养基中只加入IBA和NAA,金线莲生根效果不理想,根细长,叶片淡绿,生长势弱;(2)在培养基中加入水解酪蛋白和活性碳可使金线莲生根率提高,较好的生根培养基为MS+IBA 1.0 mg/L+NAA 1.0 mg/L+水解酪蛋白500 mg/L+活性碳1000 mg/L,30 d可使生根率达到90.0%,且根数多,根粗壮,叶色浓绿,植物生长旺盛。(表3,图3)

表3 不同添加物对金线莲生根的影响

编号	IBA	NAA	水解酪蛋白	活性碳	接种数	生根率(%)	植株长势
①	1.0	-	-	-	30	26.7	根细长,叶片淡绿
②	-	1.0	-	-	30	30.0	根细长,叶片淡绿
③	2.0	-	-	-	30	40.0	根细长,叶片淡绿
④	-	2.0	-	-	30	33.3	根细长,叶片淡绿
⑤	1.0	1.0	500	-	30	45.0	根细长,叶片淡绿
⑥	1.0	1.0	500	300	30	66.7	根粗壮,叶片浓绿
⑦	1.0	1.0	500	500	30	90.0	根粗壮,叶片浓绿

2.4 不同基质对金线莲试管苗移栽的影响

为了研究不同基质对金线莲试管苗移栽的影响,配制5种不同的基质进行对比试验,结果表明:以普通土和沙质土、有机肥(1:1:1)混合作为栽培基质较适宜金线莲组培试管苗移栽,成活率高而且生长发育良好。这种混合基质富含无机和有机元素,而且透水透气性好,对植株生长有利。

表4 不同栽培基质对试管苗移栽成活率的影响

基质	存活率/%	生长状况
普通土	63.6	植株生长缓慢
普通土:泥炭土(1:1)	72.7	植株生长慢,节间短
普通土:有机肥(1:1)	72.7	但成活的植株生长健壮,茎粗壮
普通土:沙质土(1:1)	54.5	植株生长不良,矮小瘦弱
普通土:沙质土:有机肥(1:1:1)	90.9	植株生长发育良好

注释:以上各处理栽培金线莲试管苗11株,30 d观察统计结果。

3 讨论

3.1 激素配比对金线莲组织培养的影响

影响金线莲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,其中激素配比为最关键的因素^[7-10]。

对于金线莲芽诱导和增殖最佳激素种类和浓度配比，不同学者研究结果有差异，王雅英等^[7]通过正交试验，认为 MS + 6 - BA3.5 + KT 1.5 + NAA 0.6 组合是芽快速成增殖的较佳配方，三种激素对芽继代增殖系数影响大小为 6 - BA > NAA > KT；刘润东等^[8]认为 6 - BA 和 NAA 浓度过高，不利于芽丛的发生，在附加 6 - BA1.0mg/L 的 MS 培养基上，添加低浓度的 ZT 能明显促进芽丛的发生；范子南等^[9]认为 6 - BA 对芽分化具有促进作用，随着 6 - BA 浓度提高其促进芽分化过程也加强。综合本试验和前人研究结果，认为金线莲芽诱导较为合适的激素配比：6 - BA 3.0 - 4.0 mg/L + NAA 0.5 - 1.0 mg/L + KT1.0 - 2.0 mg/L；增殖较为理想的激素配比：6 - BA 2.0 - 3.0 mg/L + NAA 0.2 - 0.5 mg/L。

3.2 影响金线莲试管苗移栽的因素

由于金线莲生长发育过程中对环境的光、温、水、肥、气等因子有严格要求，因此在试管苗移栽过程中，应创造适合金线莲生长的环境条件。发育良好的根系是金线莲试管苗移栽成功的前提，范子南等^[9]认为加入 0.2% 的活性碳有利于提高生根率，陈汉鑫等^[10]认为在生根培养过程中加入一定的量活性碳有利于生根，本试验结果也证明了这一点。以外，陈汉鑫等^[10]还认为在培养过程中加入香蕉泥等天然有机物能促进金线莲生根壮苗，在本试验中，添加一定量的水解酪蛋白有助于提高生根率。黄慧莲等^[11]试验了不同栽培基质对金线莲试管苗移栽成活率的影响，认为蛭石与腐殖土（1:1）混合作为栽培基质较适宜金线莲试管苗移栽，成活率高而且生长发育良好。本试验以普通土和沙质土、有机肥（1:1:1）混合作为基质，十分适合金线莲试管苗的生长。

参考文献：

- [1] 马志杰,胡宏友. 民间药材金线莲研究动态[J]. 亚热带植物科学, 2002, 31(增刊) : 27 - 31.
- [2] 张以忠,邓琳琼,黄丽华. 金线莲研究的现状与展望[J]. 贵州科学. 2007, 25(2) : 81 - 84.
- [3] 黄德贵. 金线莲组培与人工栽植研究 - 无菌外植体建立技术和配方[J]. 福建热作科技, 1993, 65(4) : 11 - 14.
- [4] 陈芝华,胡启灿. 金线莲组培快繁与移栽试验研究[J]. 三明农业科技, 2005, 103(3) : 13 - 15.
- [5] 何云芳,杨霞. 金线莲组织快繁技术[J]. 浙江林学院学报, 1999, 16(2) : 170 - 174.
- [6] 高燕,白燕冰,赵云翔. 金线莲组织培养几种培养基的筛选[J]. 热带农业科技, 2004, 27(3) : 12 - 14.
- [7] 王雅英,林荣耀,杨忠耿,等. 金线莲快速繁殖及促根壮苗试验[J]. 亚热带植物科学, 2005, 34(3) : 40 - 42.
- [8] 刘润东,郭文杰,林忠宁. 金线莲组织培养及营养成分的分析研究[J]. 广西农业科学, 2006, 37(5) : 506 - 509.
- [9] 范子南,肖华山,范晓红,等. 金线莲组织培养研究[J]. 福建师范大学学报:自然科学版, 1997, 13(2) : 82 - 87.
- [10] 陈汉鑫,王雅英,杨忠耿,等. 金线莲组织培养快繁技术[J]. 广西农业科学, 2004, 35(04) : 325 - 326.
- [11] 黄慧莲,刘贤旺,吴祥松,等. 金线莲试管苗移栽试验研究[J]. 江西科学, 2001, 19(1) : 52 - 54.

【责任编辑:王国莉】

Study on Tissue Culture and Transplanting Techniques of *Anoectochilus Roburghii*

CHEN Zhao-gui

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

Abstract: The study was aimed at obtaining optimized culture media for buds induction and multiplication, and root induction of *Anoectochilus roburghii* to set up the Tissue Culture technology of *Anoectochilus roburghii*. The result showed that MS plus (NAA0.5 mg/L + 6 - BA3.0 mg/L + KT1.0 mg/L) is the best media for buds induction. MS adding (NAA0.5 mg/L + 6 - BA3.0 mg/L) is the best media for multiplication. 1/2 MS plus (IBA1.0 mg/L + NAA1.0 mg/L + 0.5% activated carbon + casein hydroly - sate) is the best media for root induction. Used common soil and organic manure soil with sand (1:1:1) mixed, the surviving rate would be 90.9%.

Key words: *Anoectochilus roburghii*; tissue culture; hormone