

境,是典型的阳生植物。

3.2 光合作用是植物十分复杂的生理过程。关于产生光合“午休”的原因,有研究者认为,在中午时分,气温高、蒸腾速率强,叶片水分减少,气孔关闭,造成光合作用原料即胞间  $\text{CO}_2$  浓度降低,净光合速率下降<sup>[2]</sup>;也有认为,可能是在晴天长时间高光强下,发生光抑制<sup>[3]</sup>和光呼吸加强<sup>[4]</sup>,从而导致净光合速率下降。黄芩出现光合“午休”现象是生态环境因子综合作用的结果。

陶汉之<sup>[5]</sup>对茶树的光合作用的研究发现,净光合速率和气孔导度的变化没有平行关系,不呈明显正相关。梁红柱<sup>[6]</sup>等人研究证明,砂仁叶片净光合速率与气孔导度的变化一致,呈正相关,与胞间  $\text{CO}_2$  浓度呈负相关。本研究表明,自然条件下,黄芩净光合速率与光合有效辐射、蒸腾速率、气孔导度呈正相关,与胞间  $\text{CO}_2$  浓度呈负相关,与相对湿度的相关性不显著。

#### 4 小结

黄芩为典型的阳生植物,对光照的适应性较强,

强光和弱光均可有效利用。栽培黄芩宜选择光照条件好的地块,并适当加大种植密度,提高黄芩产量。

#### 参 考 文 献

- [1] 金则新,等. 云锦杜鹃叶片光合作用日变化特征. 植物研究,2004,24(4):447-452.
- [2] 蒋高明,等. 毛乌素沙地若干植物光合作用、蒸腾作用和水分利用效率利润及生境间差异. 植物学报,1999,41(10):1114-1124.
- [3] 许大全,等. 光合作用的限制因素. 见:余叔文、汤章城编. 植物生理学和分子生物学(第二版). 北京:科学出版社,1999,262-276.
- [4] 宋建民,等. 中午强光胁迫下高蛋白小麦旗叶的光合特性. 植物生理学报,1999,25(3):209-213.
- [5] 陶汉之. 茶树光合日变化的研究. 作物学报,1991,17(6):444-452.
- [6] 梁红柱,等. 热带雨林下砂仁叶片光合作用和叶绿素荧光参数在雾凉季和雨季的日变化. 生态学报,2004,24(7):1421-1429.

(2005-10-31 收稿)

2005-12-20 修回)

## 铁皮石斛试管种苗产业化生产的技术因素分析

廖俊杰<sup>1</sup>,许继勇<sup>2</sup>,李进进<sup>1\*</sup>,麦瑜玲<sup>2</sup>,徐清华<sup>1</sup>,周爱芳<sup>1</sup>

(1. 广东轻工职业技术学院食品与生物工程系,广东广州 510300; 2. 汕头市中蔬花卉有限公司,广东汕头 515041)

**摘要** 目的:研究铁皮石斛组织培养及栽培过程中的重要技术因素。方法:用铁皮石斛的茎段及种胚组织培养物,测定试管苗的分化、生根与生长状况。结果:通过胚培养了原球茎产生,通过茎段培养获得了丛生芽;在适当激素配比的基础上,椰子汁对促进芽的分化、丛生芽及原球茎的增殖,香蕉提取物对促进苗的生根与生长起到重要的作用。结论:掌握铁皮石斛组织培养的关键技术要素可实现种苗产业化生产。

**关键词** 铁皮石斛;种胚;茎段;组织培养;产业化生产

**中图分类号**:R282.2 **文献标识码**:B **文章编号**:1001-4454(2006)06-0533-03

铁皮石斛为珍贵的野生药用植物,附生在高海拔的悬崖峭壁,或林内树干上,自然产量极少,更因长期采挖,致使野生资源濒临绝种。目前,必须通过人工育苗和种植才能满足国内外市场的需要。采用组织培养技术已有报道,但是真正运用于生产,能够产生规模效益的却为数不多。主要是因为铁皮石斛试管种苗移植成活率太低,成为种苗产业化生产的

“瓶颈”。本文报道铁皮石斛试管苗的生产多年研究结果。

#### 1 材料与方 法

铁皮石斛 *Dendrobium candidum* Wall. ex Lindl 母本引自浙江天台县,种植于温室花盆内。用于组织培养的茎段为一年生茎;蒴果则取自人工异株授粉后培育的成熟果实。

基金项目:广东省 2005 年社会发展科技资助项目;汕头市 2005 年科技资助项目

作者简介:廖俊杰,男,副研究员,Email: junjie 33 @ golgy. edu. cn.

\*通讯作者:李进进

1.1 外植体建立 取温室盆栽的铁皮石斛一年生茎段,清水冲洗,摘去叶片及膜质叶鞘,用少量加酶洗衣粉水浸泡约 30 min,清水冲洗后,再经 70% 酒精 1 min→5% ~ 10% 次氯酸钠 8 ~ 10 min→无菌水冲洗三次→无菌滤纸吸干。将脱菌后的茎段切成 1 ~ 2 cm 的带节茎段接种于初代培养基。种胚外植体建立程序:成熟蒴果→清水冲洗→70% 酒精 8 min→稍干→切开蒴果均匀播种于初代培养基。

1.2 培养基配方 初代培养基为 MS 或 N<sub>6</sub> 添加 6-苄基氨基嘌呤 (6-BA)、萘乙酸 (NAA)、椰子汁 (CM)、活性炭 (CA)。增殖培养基为 N<sub>6</sub> 添加 6-BA、NAA、CM、土豆提取物 (Pt)。生根培养基为 1/2MS 添加 Pt、香蕉提取物 (Bn)。培养基均加入卡拉胶 0.7%, pH 5.4, 常规灭菌。培养的条件为 25 ± 1℃、1800 lux 12 h。

1.3 试管苗移栽 将生根试管苗移栽于基质:水苔、松树皮与碎石、蛇木与碎石、花生壳与碎石。常规管理,湿度保持 75 ~ 90%,先高湿后低湿;光照控制 1800 ~ 5000 lux,先弱光后强光。

## 2 结果与分析

2.1 外植体茎段及初代培养 茎段芽在不同的培养基上萌发及不定芽再生见表 1。不添加激素的配方无论是否添加椰子汁 (CA1、CA2),芽的萌发时间明显长于添加激素的配方 (CA3 ~ CA9),苗的生长速度也较慢;加入不同浓度的 6-BA 和 NAA 后,促进了茎段萌发,且随着 6-BA 浓度升高,侧芽萌发时间显著缩短,芽的数量增加,6-BA 的浓度增加至 2 mg/L 时 (CA4),虽然芽的数量增加但萌发的时间推迟,只有在增加 6-BA 浓度的同时配合 NAA 达到合适的比例时,使芽萌发时间、数量、生长速度均达到较理想的水平 (CA7)。在此基础上添加椰子汁 (CA5、CA6),能促进芽分化的能力;而添加活性炭 (CA9) 对芽的分化没有明显的作用。

表 1 不同初代培养基诱导茎段成芽

培养基	激素及添加物	芽萌发时间 (天)	平均再生芽数	芽生长速度 (cm/45d)	再生芽的情况	
					侧芽	不定芽
CA1	0	43 ± 4	1.0	0.1	+	-
CA2	CM10%	40 ± 3	1.2	0.2	+	+
CA3	6-BA <sub>1</sub>	23 ± 2	2.1	2.3	+	++
CA4	6-BA <sub>2</sub> + CM10%	26 ± 2	2.8	2.8	+	+++
CA5	6-BA <sub>2</sub> + NAA <sub>0.2</sub> + CM10%	20 ± 1	3.1	3.6	+	++++
CA6	6-BA <sub>2</sub> + NAA <sub>0.2</sub> + CM5%	21 ± 1	2.9	3.7	+	+++
CA7	6-BA <sub>2</sub> + NAA <sub>0.2</sub>	21 ± 2	2.3	3.6	+	++
CA8	6-BA <sub>2</sub> + NAA <sub>0.2</sub> + CM10%	21 ± 1	3.0	3.7	+	+++
CA9	6-BA <sub>2</sub> + NAA <sub>0.2</sub> + CM10% + CA0.2%	22 ± 1	3.0	3.8	+	+++

注:除 CA8 的基本培养基为 N<sub>6</sub> 外,其余均为 MS;以 10% 茎段萌发所延续的时间计

2.2 无菌播种与有性胚的萌发 无菌播种是建立外植体的另一个方法。成熟蒴果,播种于培养基上,30 天统计种胚萌发及其原球茎发生比例 (见表 2)。以 6-BA 或椰子汁的加入会缩短胚的萌发时间,提高胚的萌发率,尤以 SA5 培养基的萌发时间短、萌发率高。在自然条件下兰科植物的胚很难萌发,必须借助共生菌提供营养和产生的激素才能顺利萌发。从表中还可以看出,胚萌发后,有的胚直接出芽成苗,有的胚则分化出原球茎。添加 6-BA 及 NAA 会促进原球茎的分化,但椰子汁对原球茎的分化作用更大。原球茎的获得对铁皮石斛在较短时间内的组培扩繁更有意义。

试验还观察到遮光有利于胚的萌发。胚萌动时,可见颗粒状的细胞块,应该尽早转入光条件下培养,使萌动的胚由浅黄色转为绿色,以促进芽分化或者原球茎增殖,否则胚萌发后易出现白化现象而导致死亡。

表 2 不同培养基上铁皮石斛种胚萌发情况

培养基代号	激素组成	萌发时间 (天)	萌发情况	原球茎比例 (%)	成芽比例 (%)
SA1	0	21	+	2	98
SA2	CM10%	15	++	30	70
SA3	6-BA <sub>1</sub>	12	++	15	85
SA5	6-BA <sub>2</sub> + NAA <sub>0.2</sub> + CM10%	7	++++	75	25
SA7	6-BA <sub>2</sub> + NAA <sub>0.2</sub>	10	++	15	85

2.3 丛芽增殖 当茎段诱导产生丛芽和由胚萌发出芽进入丛芽增殖阶段,接入表 3 所列的培养基,非常明显地表现出:在未加椰子汁的各培养基,丛芽月增殖系数维持在 1.6 ~ 1.95 之间,且苗出现黄化现象,部分基部叶片脱落。凡加入椰子汁 (ZA5、ZA9、ZA10),不会发生黄化现象,并且月增殖系数维持在 3.2 ~ 3.55 的较高增殖水平,苗的生长也明显优于其它配方,以 ZA5 表现出的效果最理想。

表 3 不同培养基的丛芽增殖效果

培养基代号	激素及添加物组成	月增殖系数	苗平均高度 /cm	苗生长状况
ZA1	6-BA <sub>0.2</sub> + NAA <sub>0.2</sub>	1.60	3.22	苗有黄化现象
ZA2	6-BA <sub>0.5</sub> + NAA <sub>0.5</sub>	1.65	3.25	苗有黄化现象
ZA3	6-BA <sub>1.0</sub> + NAA <sub>0.5</sub>	1.85	3.15	苗有黄化现象
ZA4	6-BA <sub>2.0</sub> + NAA <sub>0.5</sub>	1.90	2.80	苗有黄化现象
ZA5	6-BA <sub>2.0</sub> + NAA <sub>0.5</sub> + CM 10%	3.55	3.65	正常
ZA6	6-BA <sub>2.0</sub>	1.95	2.10	苗有黄化现象,矮生
ZA7	6-BA <sub>0.5</sub> + NAA <sub>1.0</sub>	1.85	3.20	苗有黄化现象
ZA8	6-BA <sub>0.2</sub> + NAA <sub>0.5</sub>	1.90	3.45	苗有黄化现象
ZA9	6-BA <sub>0.2</sub> + NAA <sub>0.5</sub> + CM 10%	3.25	3.50	正常
ZA10	6-BA <sub>0.2</sub> + NAA <sub>0.5</sub> + CM 10% + Pt5%	3.20	3.55	正常

**2.4 原球茎增殖** 由种胚产生的原球茎,实际上是短缩的芽,对兰科植物的快速繁殖具有重要的意义,其繁殖速度是丛芽增殖方式的几十倍。由于原球茎的聚集成团很难计数,采用称重的方法来判断原球茎的增殖情况。从表4显示,ZA9的原球茎增长率达260%,以较低激素浓度表现较好的效果,添加椰子汁对原球茎的增殖有重要作用,而加入马铃薯汁却起抑制作用。

表4 不同配方原球茎增殖情况

培养基代号	激素及添加物组成	原球茎平均初重/(g)	原球茎平均终重/(g)	增长率/(%)
ZA6	6-BA <sub>2.0</sub>	2.80	4.76	70
ZA7	6-BA <sub>0.5</sub> + NAA <sub>1.0</sub>	2.65	5.83	120
ZA9	6-BA <sub>0.2</sub> + NAA <sub>0.5</sub> + CM 10%	3.25	11.7	260
ZA10	6-BA <sub>0.2</sub> + NAA <sub>0.5</sub> + CM 10% + Pt5%	2.94	7.35	150

**2.5 根诱导** 将3 cm以上的无根苗转到生根培养基,结果见表5。诱导铁皮石斛生根并不需要高浓度NAA,添加香蕉或土豆提取物,明显促进生根,

表5 铁皮石斛在不同配方培养基上的生根效果(45天)

培养基代号	激素及其添加物	平均生根时间/天	平均根数/条	平均根长/cm	苗生长状况
SA1	0	36 ± 5	2.6	1.6	生长较慢,叶片变黄
SA2	NAA0.2	31 ± 3	3.2	1.8	生长较慢,叶片变黄
SA3	NAA0.5	32 ± 2	3.5	1.6	生长较慢,叶片变黄
SA4	NAA1.0	33 ± 2	3.0	1.5	生长慢,叶片变黄
SA5	NAA0.2 + Bn5%	22 ± 2	4.3	3.2	生长较快,茎较粗壮,根系健壮
SA6	NAA0.2 + Bn10%	20 ± 2	4.8	3.5	生长快,茎粗壮,根系健壮
SA7	NAA0.2 + Bn5% + Pt5%	21 ± 2	4.5	3.0	生长较快,茎较粗壮,根系健壮

并且根的质量好,苗生长十分健壮,以SA6适合作为铁皮石斛的生根培养基配方。

### 3 讨论

铁皮石斛组织培养和栽培技术的研究与报道较多,试管苗移栽成活率低,使试管苗无法大规模应用于生产。本试验总结了别人成功的经验,通过茎段和胚培养都能完成铁皮石斛种苗快速繁殖。茎段培养通过丛芽增殖、胚培养通过原球茎实现种苗快速繁殖的目的。茎段培养苗可以保持母本的性状,而胚培养的种苗后代可能会发生变异。为了中药材的规范化栽培还是采用茎段培养生产种苗的方法为好。

铁皮石斛对于基本培养基的适应性较广。初代培养及增殖培养采用MS、N<sub>6</sub>都能够得到满意的结果,生根培养基采用1/2MS、VW培养基也都能够取得同样的结果。这与赵天榜等<sup>[1]</sup>的研究结果一致,不同的激素及浓度生产的效果不同,但都会在不同程度上出现期望的试验结果。组织培养能否达到产业化生产最重要的是在适宜的激素配比的基础上如何利用外源的添加物。在分化与增殖过程中椰子汁是不可缺少的,在生根试验中,香蕉提取物既决定生根的效果,同时还左右苗生长质量。

### 参 考 文 献

[1] 赵天榜,陈志秀,陈占宽,等. 石斛组织培养与培养技术的研究. 河南农业大学学报,1994,28(2):128-133.

(2006-02-05 收稿)

## 宁夏枸杞嫩枝扦插微繁试验初报

秦 垦<sup>1</sup>,吴广生<sup>2</sup>,洪凤英<sup>1</sup>,钟铨元<sup>1</sup>

(1. 宁夏农林科学院枸杞工程中心,宁夏银川 750002; 2. 宁夏惠农区林业局,宁夏银川 750003)

**摘要** 枸杞嫩枝扦插繁殖,将插条剪成1节1叶、2节2叶、3节2叶的小段,速蘸枸杞生根剂后扦插于沙床,成活率分别达82.75%、97.05%和97.37%。短插条较节省繁殖材料,而长插条的幼苗初期生长较健壮,可在繁殖材料充裕时采用。

**关键词** 枸杞;嫩枝扦插;成活率

**中图分类号:**R282.2 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-4456(2006)06-0535-02

宁夏枸杞 *Lycium bararum* L. 为重要的中药材和滋补品。繁殖方法虽有多种,为了确保后代性状不变,操作方便,生产上多采用枝条扦插育苗,通常插条长度8~12 cm、7~11个节,因所用材料多、繁

殖系数小,不适当当前枸杞种植业迅速发展及良种繁育。本文报道枸杞嫩枝扦插的微型繁殖试验结果。

### 1 试验材料与方法