

王一诺,黄雪彦,李磊,等.高山石斛再生体系的建立[J].江苏农业科学,2017,45(1):50-52.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.01.014

高山石斛再生体系的建立

王一诺¹,黄雪彦¹,李磊²,缪剑华¹,肖冬¹,蓝祖裁¹,韦坤华¹

(1.广西壮族自治区药用植物园/广西药用资源保护与遗传改良重点实验室,广西南宁 530023;

2.广西大学/亚热带农业生物资源保护与利用国家重点实验室,广西南宁 530005)

摘要:以高山石斛(*Dendrobium infundibulum* Lindl.)成熟种子为外植体,MS 为基本培养基,研究植物生长调节素对高山石斛组织培养过程中继代增殖和生根的影响。结果表明,高山石斛最佳的启动培养基为 MS + 6-BA 0.2 mg/L + NAA 1.0 mg/L;继代增殖中,6-BA、NAA、KT 等激素的配合使用具有较好的效果,利于继代增殖的培养基为 MS + 6-BA 3.0 mg/L + NAA 1.0 mg/L + KT 0.5 mg/L + 活性炭 1.0 g/L;最佳的生根壮苗培养基为 MS + 6-BA 0.5 mg/L + NAA 2.0 mg/L + 香蕉汁 10%,此时苗的根系长而粗壮,芽苗叶色翠绿,平均根长 2.79 cm,生根率达到 92%。

关键词:高山石斛;6-BA;NAA;KT;组织培养;继代培养基;生根培养基

中图分类号: S567.23+9.043 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)01-0050-02

高山石斛(*Dendrobium infundibulum* Lindl.)产于云南南部,系兰科石斛属多年生草本植物,生于海拔约 2 000 m 的密林中树干上,喜温暖、潮湿环境^[1]。高山石斛被誉为“四大观赏洋花”之一,具有极高的观赏价值,花期为每年的 8—11 月,其总状花序来自具叶的顶端,具 1~2 朵花,花姿优雅,气味芳香,既可做切花,可用于插花和餐桌的布置^[2],也可做盆栽。自然条件下,石斛属植物的种子细小,不具胚乳,繁殖能力极低,主要通过分株方式繁殖^[3],而这种繁殖方法周期长,短时间内得到的有效苗数少。高山石斛的培植推广受到种苗生产的制约^[4]。近年来,随着市场需求量的日益增大,原本自然资源稀缺,加之人们盲目过度采挖,使高山石斛的野生资源受到严重破坏^[5]。本试验以 MS 为基本培养基,通过不同植物生长调节剂的配比应用,对高山石斛进行组织培养技术研究,筛选出高山石斛各个生长培养阶段的优势培养基,加快其繁殖速度,以期使高山石斛野生资源得到有效保护,同时降低组培成本,为高山石斛大规模的组培苗生产提供技术支撑。

1 材料与方法

1.1 材料

高山石斛未开裂成熟蒴果,采自广西壮族自治区药用植物园科研基地内健壮、无病害的植株上。

1.2 组织培养

1.2.1 外植体消毒与启动培养 将高山石斛成熟饱满、未开裂的蒴果用流水清洗表面污垢,置于烧杯中依次用 2% 洗洁精溶液浸泡 5 min,用线状的自流水冲洗 15 min;移至超净工

作台,用 75% 乙醇表面消毒 30 s,无菌水冲洗 2 次;用添加 2 滴吐温-20 的 0.1% HgCl₂ 浸泡 15 min,无菌水浸泡冲洗 3 次;用消毒的滤纸除去表面水分,用无菌解剖刀将高山石斛蒴果的果皮轻轻切开,用无菌镊子将胚均匀撒播在以 MS 为基本培养基、添加不同浓度植物生长剂(6-BA、NAA)的启动培养基上,观察接入外植体的变化。

1.2.2 继代增殖 将经过初代培养获得的无菌芽切为独立的单芽,接种于以 MS 为基本培养基,添加 30 g/L 蔗糖、4.5 g/L 琼脂、1 g/L 活性炭、不同浓度植物生长调节剂(1.0~4.0 mg/L 6-BA,0.5~1.0 mg/L NAA,0~0.5 mg/L KT)的继代增殖培养基上培养,pH 值为 5.8。重复 3 次。

1.2.3 生根培养 将继代增殖培养生长至 3 cm 左右的健壮单株从丛芽中剥离,接种至添加不同浓度植物生长调节剂(6-BA、NAA)和植物提取液的 MS 基本培养基上进行壮苗生根培养 60 d,pH 值为 5.8;调查统计高山石斛生根的情况。每种培养基接种 50 株。

1.3 组织培养条件

温度 24~28 ℃,光照时间为 12 d/h,平均光照为 1 500~2 200 lx。

1.4 炼苗移栽

挑取生长健壮、根系发达的高山石斛组培苗移入大棚温室内,打开瓶盖放置 7 d,期间往瓶内组培苗喷洒少量水,保持瓶内水分充足;将瓶内幼苗取出,流水冲洗干净根部的培养基,避免损伤根部的幼嫩组织;将幼苗于傍晚移栽至经消毒过的栽培基质中,保持湿度,上部覆盖 1 层遮阳网适度遮阴。

2 结果与分析

2.1 种子的萌发情况

种子接入诱导培养基培养 25 d,大部分种子都固着在培养基表面,可明显地观察到种子胚开始变大,由淡黄色慢慢变成淡绿色;随培养时间的增加,淡绿色转变为深绿,萌发为原球茎;培养 60 d,膨大的原球茎顶端产生叶原基突起,原球茎开始慢慢分化,出现芽尖,并逐渐长成芽苗。由表 1 可见,

收稿日期:2015-12-01

基金项目:广西科学研究与技术开发计划(编号:桂科重 14124002-6、桂科重 1355001-3-4、桂科合 14125008-2-21);南宁市科学研究与技术开发计划(编号:20133032-4)。

作者简介:王一诺(1984—),女,广西梧州人,硕士,研究实习员,从事药用植物组织培养研究。E-mail:yyzwyinu@sina.com。

通信作者:韦坤华,博士。E-mail:divinekh@163.com。

6-BA、NAA 都对高山石斛芽的诱导产生影响;6-BA 浓度不变时,NAA 浓度增大有利于芽的萌发;NAA 浓度不变时,6-BA 在 0.1~0.5 mg/L 范围内,浓度过高反而会使芽的萌发率下降;在 MS+6-BA 0.2 mg/L+NAA 1.0 mg/L 培养基上,高山石斛种子的萌发个数相对最多,芽苗颜色浓绿,长势良好(图 1)。因此,MS+6-BA 0.2 mg/L+NAA 1.0 mg/L 为最佳诱导培养基。

表 1 不同激素培养基培养 85 d 时高山石斛芽的萌发情况

编号	6-BA (mg/L)	NAA (mg/L)	接种数 (瓶)	种子萌发数 (个/瓶)
A1	0.1	0.1	10	68
A2	0.1	0.5	10	108
A3	0.1	1.0	10	116
A4	0.2	0.1	10	95
A5	0.2	0.5	10	120
A6	0.2	1.0	10	143
A7	0.5	0.1	10	91
A8	0.5	0.5	10	112
A9	0.5	1.0	10	117

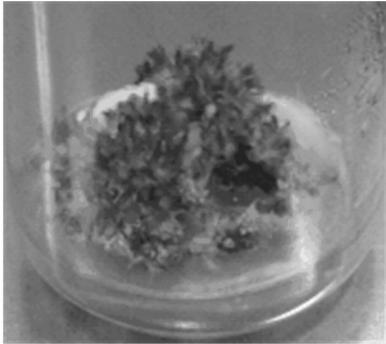


图1 培养基 MS+6-BA 0.2 mg/L+NAA 1.0 mg/L 对高山石斛芽的诱导

2.2 继代增殖

由表 2 可见,以 MS 为基本培养基、添加不同激素的 12 种培养基中,无菌芽苗接入增殖培养基 30 d 开始分化,芽的增殖倍数有明显差异;NAA、KT 保持浓度不变,6-BA 浓度为 3.0 mg/L 时芽的增殖能力相对较强,芽的增殖倍数为 3.7~4.6(培养基编号为 B7~B9),随着 6-BA 浓度增加,芽的增殖倍数有所下降,且苗生长过快,茎较细弱,有效苗的质量变差;6-BA、NAA 保持浓度不变时,培养基中加入 KT 有利于苗的增殖;培养基 MS+6-BA 3.0 mg/L+NAA 1.0 mg/L+KT 0.5 mg/L+活性炭 1.0 g/L 芽的增殖能力最强,增殖倍数达到 4.6,芽生长情况良好,苗健壮,叶色翠绿(图 2)。因此,确定培养基 MS+6-BA 3.0 mg/L+NAA 1.0 mg/L+KT 0.5 mg/L+活性炭 1.0 g/L 为高山石斛芽苗的最适增殖培养基。

2.3 生根培养

由表 3 可见,高山石斛在 MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 2.0 mg/L+香蕉汁 10% 的培养基上生根率和生根数分别为 92%、46 条,平均根长达 2.79 cm,且芽苗叶色翠绿,植株健壮,根系长而粗壮,主次分明(图 3),优于其他组合;6-BA 浓度保持不变时,随 NAA 浓度的增大,高山石斛芽苗的生根率提高、生根数有所增加,NAA 浓度为 2.0 mg/L 时生根效果相对最好,浓度过高反而不利于根的生长。

表 2 不同激素培养基对高山石斛继代增殖的影响

编号	6-BA (mg/L)	NAA (mg/L)	KT (mg/L)	增殖倍数
B1	1.0	0.5	0	2.0
B2	1.0	0.5	0.2	2.1
B3	1.0	1.0	0.5	2.4
B4	2.0	0.5	0	2.9
B5	2.0	0.5	0.2	3.1
B6	2.0	1.0	0.5	3.6
B7	3.0	0.5	0	3.7
B8	3.0	1.0	0.2	3.9
B9	3.0	1.0	0.5	4.6
B10	4.0	0.5	0	3.4
B11	4.0	1.0	0.2	3.7
B12	4.0	1.0	0.5	3.8



图2 最适培养基对高山石斛芽的继代增殖情况

表 3 不同培养基对高山石斛生根的影响

编号	6-BA (mg/L)	NAA (mg/L)	香蕉汁提取液 (%)	接种数 (个)	生根数 (条)	平均根长 (cm)
C1	0.5	0.5	0	50	12	1.37
C2	0.5	1.0	10	50	38	2.11
C3	0.5	1.5	10	50	42	2.30
C4	0.5	2.0	10	50	46	2.79
C5	0.5	3.0	10	50	40	2.50

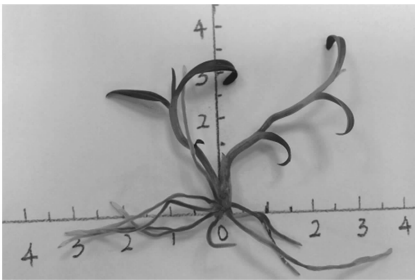


图3 培养基MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 2.0 mg/L+香蕉汁10%对高山石斛生根的影响

2.4 炼苗移栽

试验表明,炼苗基质以木屑:草炭=2:1 为宜,栽好幼苗再覆盖 1 层苔藓,浇透水定根,同时保持棚内湿度 85% 左右、温度为 20~30℃,15 d 左右长出新根去掉遮阳网,此时,幼苗成活率高,生长健壮。

3 结论与讨论

组织培养过程中,只有植物生长调节剂配比恰当,才有利于组培苗的生长、分化和快速繁殖^[6]。MS 培养基适合于大多

米美多,慕宇,代晓华,等.花后高温胁迫下不同施氮量对春小麦抗氧化特性的影响[J].江苏农业科学,2017,45(1):52-56.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.01.015

花后高温胁迫下不同施氮量对春小麦 抗氧化特性的影响

米美多,慕宇,代晓华,赵晶晶,康建宏

(宁夏大学农学院,宁夏银川 750021)

摘要:以宁夏春小麦主栽品种宁春4号和宁春47号为试验材料,采用盆栽试验,研究不同施氮量对春小麦花后高温生理生化指标及籽粒产量的影响。结果表明,在花后高温胁迫下,适量氮肥处理能显著提高春小麦旗叶超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)活性,并显著降低旗叶丙二醛(MDA)含量,施氮量为240 kg/hm²更有利于提高酶活性,施氮量为120 kg/hm²次之。花后28 d,当施氮量为120~240 kg/hm²时,供试品种的SOD、POD、CAT活性较对照分别增加8.64%~93.50%、56.94%~273.40%、14.25%~46.28%,MDA含量较对照分别降低32.81%~46.28%。花后高温胁迫下,适量氮肥处理能增加穗粒数及籽粒千粒质量,提高产量。因此,合理施用氮肥既能提高抗氧化酶活性,又能提高作物产量,减缓高温危害。

关键词:春小麦;花后高温胁迫;施氮量;抗氧化特性;产量;氮素营养;高温危害

中图分类号:S512.1+20.6 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2017)01-0052-05

春小麦喜冷凉,是西北地区的主要粮食作物,籽粒灌浆阶段的最适温度为18~22℃,大于22℃则灌浆期明显缩短。

收稿日期:2016-01-27

基金项目:国家自然科学基金(编号:31160255)。

作者简介:米美多(1993—),女,硕士研究生,主要从事作物高产优质栽培研究。E-mail:664841784@qq.com。

通信作者:康建宏,教授,硕士生导师,主要从事作物高产栽培生理的教学与科研。E-mail:kangjianhong@163.com。

数的双子叶植物,但不同品种在种子萌发和增殖过程中需要的激素浓度有很大区别^[7]。本试验中,MS基本培养基中加入适宜的6-BA、NAA,可促进高山石斛种子的萌发,较适宜种子萌发的培养基为MS+6-BA 0.2 mg/L+NAA 1.0 mg/L,NAA浓度不变时,6-BA浓度过高反而会抑制萌发。

幼苗增殖和分化是组织培养过程中繁殖速度和增殖系数的关键^[8],而组培苗的增殖系数很大程度上受细胞分裂素的影响。试验表明,随6-BA浓度的增大,繁殖系数有所提高,但当6-BA浓度达到4.0 mg/L时,繁殖系数反而有所降低。KT作为外源性细胞分裂素,可以促进侧芽发育^[9]。在高山石斛继代增殖过程中,6-BA、NAA、KT等激素的联合使用,对芽苗的增殖起到较为理想的效果,高山石斛在培养基MS+6-BA 3.0 mg/L+NAA 1.0 mg/L+KT 0.5 mg/L+活性炭1.0 g/L中的继代增殖效果相对最佳,芽生长情况良好,苗健壮,叶色翠绿,增殖倍数达到4.6,且得到的有效苗数最多。

植物生长调节剂NAA对高山石斛的壮苗生根起到重要作用,与植物提取液香蕉汁配合使用生根效果较好,培养出的种苗植株健壮,主根系长而粗壮,成活率高。因此,最适宜壮苗生根的培养基为MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 2.0 mg/L+香蕉汁10%。

高山石斛喜温暖、潮湿的环境,移栽时关键是选取合适的

由于我国受季风的影响,小麦灌浆期常常遭受高温的危害,尤其在宁夏、新疆等干燥地区,高温低湿伴随大风,形成干热风,制约着小麦的高产。宁夏是春小麦的高产区,但随着全球气候变暖,宁夏引黄灌溉区干热风愈发频繁,发生时间逐渐提前,春小麦在灌浆后期遭干热风危害会导致春小麦提前衰老,干物质积累降低,籽粒充实度下降,产量降低10%~30%^[1]。有研究表明,随温度的升高,春小麦植株衰老速度加快^[2],高温胁迫可诱导抗氧化酶活性下降,保护酶系统趋于衰弱或崩

栽培基质。以木屑:草炭灰=2:1作为栽培基质,并覆盖1层苔藓,既疏松又保水透气,是一种较好的栽培基质。

参考文献:

- [1]中国科学院中国植物志编辑委员会.中国植物志[M].北京:科学出版社,1979.
- [2]张娟.秋石斛组织培养的研究[J].湖北林业科技,2015,44(3):20-22.
- [3]宋顺,许奕,王必尊.不同培养基成分对铁皮石斛组织培养的影响[J].中国农学通报,2013,29(13):133-139.
- [4]徐红,刘俊,王峥涛,等.鼓槌石斛组织培养研究[J].中国中药杂志,2001,26(6):378-381.
- [5]张敏,孙红绪,聂春.黄草石斛组织培养技术研究[J].上海农业科技,2015(1):34-35.
- [6]魏丽芳,于桂芬,冯国宝.铁皮石斛组织培养与快速繁殖研究进展[J].安徽农业科学,2013,41(35):13561-13563.
- [7]蒋林,卓宇,莫昭展.流苏石斛丛生芽增殖和生根的研究[J].时珍国医国药,2012,23(9):5380-5382.
- [8]张明,夏鸿西.石斛组织培养研究进展[J].中国中药杂志,2000,25(6):323-326.
- [9]张占江,李翠,吕惠珍,等.条叶唇柱苣苔组织培养研究[J].种子,2013,32(9):19-22.