

许 奕,宋 顺,王安邦,等. 不同培养基对铁皮石斛壮苗生根的影响及移栽条件优化[J]. 江苏农业科学,2015,43(8):247-249.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.08.082

不同培养基对铁皮石斛壮苗生根的影响及移栽条件优化

许 奕,宋 顺,王安邦,李艳霞,李羽佳,林 妃,黄东梅,李敬阳

(中国热带农业科学院海口实验站/海南省香蕉遗传改良重点实验室,海南海口 570102)

摘要:以铁皮石斛的无菌组培苗为材料,探讨不同培养基、激素对组培苗壮苗生根的影响,同时筛选出最适合移栽组培苗的基质。结果表明:最适合铁皮石斛壮苗生根的培养基为 MS+0.5 mg/L NAA+0.5 mg/L 6-BA+30 g/L 蔗糖+8 g/L 琼脂+1 g/L 活性炭;移栽基质以泥炭土+树皮+碎砖+活苔藓组合效果最佳。

关键词:铁皮石斛;壮苗生根;移栽;基质

中图分类号: S567.23⁺9.04 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)08-0247-03

铁皮石斛别称铁皮兰、吊兰、云南铁皮、铁皮吊兰,是兰科石斛属多年生草本植物,铁皮石斛是石斛类药材的上品,素有“中华仙草”“药中黄金”之美称,以茎入药,含有多糖、石斛碱、生物碱等有效成分,具有滋阴清热、生津益胃、润喉明目等功效,在抗肿瘤、提高人体免疫力、治疗胃肠道疾病、抗衰老、抗氧化、抗血小板聚集、降低血糖、治疗白内障等方面均有良好疗效^[1-4]。铁皮石斛大多生长在炎热潮湿的热带、亚热带的岩石缝隙中,繁殖率很低,自然野生状态下繁殖率只有 10%~17%;果实为蒴果,种子小而多,种内胚发育不全或不成熟,胚胎少胚乳,自然结实率低于 5%,在自然条件下须与兰菌共生才能萌发^[5-7],因此无法在大田或苗床上播种,很难生产足够的实生苗用于栽培。铁皮石斛对生长环境要求苛刻,成苗困难,采用传统的分株、扦插等人工繁殖方法进行繁殖,增殖速度非常低,目前组织培养是铁皮石斛增殖扩繁的主要方法。关于铁皮石斛的组织培养已有相关报道,但还存在试管苗质量难以保证、移栽成活率低等问题,极大地制约了铁

皮石斛生产规模的扩大^[2]。壮苗生根是铁皮石斛组织培养的关键。本试验对铁皮石斛的组培苗壮苗生根培养基进行优化,筛选出能够获得铁皮石斛优质移栽组培苗的培养基,以期为实现铁皮石斛产业化生产提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

选取长 1~2 cm 未长根的无菌试管苗进行试验。

1.2 方法

1.2.1 壮苗生根培养基的筛选 壮苗生根培养以 MS 培养基为基础培养基,设 3 个处理,分别为 A1:MS+1 mg/L NAA+1 mg/L 6-BA;B1:MS+0.5 mg/L NAA+0.5 mg/L 6-BA;C1:MS+0.5 mg/L NAA。每个培养基中均加入 30 g/L 蔗糖、8 g/L 琼脂、1 g/L 活性炭,pH 值调至 5.8±1.0,每处理接种 20 瓶,置于培养温度为 (25±2)℃、光照度为 1 500~2 000 lx、光照时间 12 h/d 条件下培养。培养 30 d 后,统计组培苗的生根数、根长、株高等。

1.2.2 组培苗移栽基质的筛选 选取在壮苗生根培养基中生长状况良好、株高 4~5 cm、根长 4 cm、具有 5 条长根的组培苗移栽。首先将组培苗移至室外通风处炼苗 2 周左右,炼苗温度为 20~25℃,将组培瓶盖逐日拧松,移栽前 2 d 揭盖,使组培苗逐渐适应自然环境。将培养基与小苗一起取出,先用自来水冲洗干净,再用蒸馏水冲洗几遍。移栽基质选用泥炭土、树皮、刨花、碎砖、细锯末进行不同比例(体积比)搭配,

收稿日期:2014-08-29

基金项目:海南省产学研一体化专项资金(编号:CXY2013035);海南省自然科学基金(编号:314099)。

作者简介:许 奕(1985—),女,广东汕头人,硕士,研究实习员,从事热带植物组织培养研究。E-mail:lukydog163@163.com。

通信作者:李敬阳,助理研究员,主要从事热带植物组织培养研究。E-mail:jingyangli@aliyun.com.cn。

参考文献:

- [1]傅春升,姜红祥,张学顺. 栀子的化学成分与药理作用[J]. 国外医药:植物药分册,2004,19(4):152-156.
- [2]周延清,杨清香,张改娜. 生物遗传标记与应用[M]. 北京:化学工业出版社,2008.
- [3]陈红林,陈志远,梁作侑,等. 泡桐属植物同工酶分析[J]. 湖北林业科技,2003(2):1-4.
- [4]邹春静,盛晓峰,韩文卿,等. 同工酶分析技术及其在植物研究中的应用[J]. 生态杂志,2003,22(6):63-69.
- [5]王中仁. 植物等位酶分析[M]. 北京:科学出版社,1996:10-36.

- [6]易刚强,李云耀,崔培梧,等. 栀子过氧化物酶、酯酶同工酶的遗传多样性分析[J]. 中南药学,2012,10(6):428-432.
- [7]季维智,宿 兵. 遗传多样性研究的原理与方法[M]. 杭州:浙江科学技术出版社,1999:71.
- [8]伍世平,王君健,于志熙. 10 种草坪及地被植物的同工酶研究[J]. 武汉植物学研究,1994,12(3):259-262.
- [9]张袖丽,谢中稳,陶汉之. 半夏属植物同工酶的电泳分析[J]. 安徽农业大学学报,1997,24(3):291-295.
- [10]方 磊,罗光明,蔡财军. 等. 草珊瑚种子遗传多样性的酯酶同工酶研究[J]. 江西中医学院学报,2011,23(3):42-44.
- [11]韩琳娜,李红梅. 白花丹参和紫花丹参生化标记分析[J]. 时珍国医国药,2009,20(1):211-212.

设计不同的移栽基质。移栽基质分别为 A:泥炭土:树皮:刨花=3:3:4;B:泥炭土:树皮:碎砖=2:3:5;C:泥炭土:树皮:细锯末=2:4:4,均覆盖活苔藓。每处理重复 3 次,移栽后 7、30 d 分别统计铁皮石斛组培苗移栽成活率。

2 结果与分析

2.1 壮苗生根培养基优化试验

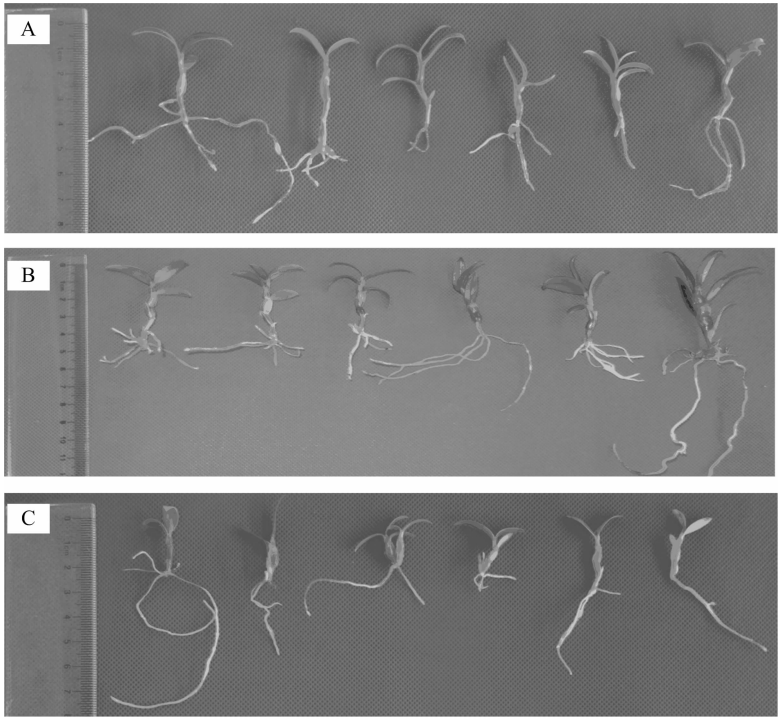
由表 1 可知,接种 30 d 后,A1 处理下组培苗平均根长为 2.3 cm,平均根数为 3.4 条,平均株高为 3.7 cm。B1 处理下组培苗平均根长为 3.8 cm,平均根数为 6.5 条,平均株高 4.8 cm,丛生芽较少且生根率较高,试管苗叶片增大,呈长椭圆形,叶片变厚,呈深绿色,部分组培苗还长出较长的气生根,暴露于空气中。C1 处理下组培苗平均根长为 2.8 cm,平均根数为 2.3 条,丛生芽较多,生根率较低,叶片较小,呈浅绿色。由此可见,以上 3 种培养基中,组培苗在 B1 培养基中生长状态最佳,生根率可达 100%,根长、根数、叶片形态更适于移栽

(图 1)。可见,添加不同浓度 NAA、6-BA 对于组培苗生根壮苗影响不同,同时添加了 NAA、6-BA 的组培苗比单独使用 NAA 的组培苗根长且多,叶片厚大。因此,B1 处理(MS+0.5 mg/L NAA+0.5 mg/L 6-BA+30 g/L 蔗糖+8 g/L 琼脂+1 g/L 活性炭)更适合铁皮石斛组培苗生根壮苗。

表 1 不同培养基对铁皮石斛壮苗生根的影响

培养基	株高 (cm)	生根率 (%)	根长 (cm)	根数 (条)	生长情况
A1	3.7	95	2.3	3.4	+++
B1	4.8	100	3.8	6.5	++++
C1	2.2	82	2.8	2.3	++

注:“++”表示组培苗生长状况一般,较瘦弱,根较少,丛生芽较多,叶片较小,呈浅绿色;“+++”表示组培苗生长状况较好,较瘦弱,新根少但根长,叶片细长,呈浅绿色;“++++”表示组培苗生长状况优良,较粗壮,根较粗且长,根较多,有部分气生根长出,叶片厚大,呈深绿色。



A—在 A1 培养基中生长 30 d 的组培苗; B—在 B1 培养基中生长 30 d 的组培苗;
C—在 C1 培养基中生长 30 d 的组培苗

图1 不同生根壮苗培养基上铁皮石斛组培苗生长情况

2.2 移栽基质优化试验

移栽时,试管苗由人工控制温度、光照、水分、养分的理想化无菌环境逐步转换到自然条件,移栽后根系由在原培养基内被动吸收水分、养分转变为主动吸收^[8]。铁皮石斛组培苗的移栽基质应以疏松、通透性好且不易发霉长菌的原料为主,并配合使用保水保肥的原料才能获得最佳成活率。以泥炭土、树皮、刨花、碎砖、细锯末等基质为材料,对铁皮石斛移栽基质进行初步筛选结果表明,移栽后 7 d,A(泥炭土+树皮+刨花+活苔藓)、B(泥炭土+树皮+碎砖+活苔藓)、C(泥炭土+树皮+细锯末+活苔藓)3 种基质上组培苗移栽成活率分别为 89%、92%、90%,可见组培苗移栽后 7 d 内,这 3 种基

质上组培苗移栽成活率无明显差异。移栽后 30 d,处理 B 下组培苗移栽成活率最高,达 90%;处理 A 下组培苗移栽成活率达到 85%;处理 C 下组培苗移栽成活率达到 77%(表 2)。可见,碎砖透气性、透水性强,因此较适合被添加在基质中进行组培苗移栽。活苔藓保水效果较好,苔藓能够提供铁皮石斛生长所需的共生菌,铁皮石斛共生菌能够提高其移栽成活率^[9-10]。

3 结论与讨论

3.1 壮苗生根

铁皮石斛的壮苗生根是快速繁殖的关键阶段,关系到组培苗的整体质量^[4,11]。孟志霞等对比 1/2 MS、MS、B₅、N₆ 等

表 2 3 种移栽基质对铁皮石斛组培苗移栽成活率、生长状况的影响

移栽基 质编号	移栽成活率(%)		移栽苗生长状况
	7 d	30 d	
A	89	85	移栽苗长势较好,叶片浓绿,有少许叶片掉落,有新芽萌发
B	92	90	移栽苗长势优良,叶片浓绿,有少许叶片掉落,有新芽、新叶长出
C	90	77	移栽苗长势一般,部分叶片枯黄掉落,无新芽、新叶长出

4 种培养基,认为 MS、1/2 MS 培养基效果明显好于其他 2 种培养基^[12]。本试验以 MS 培养基作为基本培养基,结果表明,在 MS 基本培养基中添加 0.5 mg/L NAA、0.5 mg/L 6-BA 比较适合铁皮石斛的壮苗生根。唐桂香等研究表明,NAA 浓度为 0.5 mg/L 时,铁皮石斛平均根数最多、根长最长^[7]。单独添加 NAA 的培养基效果不佳,说明 6-BA 对铁皮石斛的壮苗生根有重要作用^[13-16]。同时,NAA、6-BA 浓度不宜过高,本试验中添加 0.5 mg/L NAA、6-BA 效果要优于添加 1 mg/L NAA、6-BA。在壮苗生根培养基中常加入的添加物有香蕉汁、马铃薯汁、苹果汁、水解酪蛋白等。陈兆贵等研究发现,铁皮石斛壮苗生根培养基中加入 10% 香蕉提取液为最佳^[17]。周江明研究 8 种有机物对浙江省江山市江郎山铁皮石斛试管苗生长发育的影响,结果表明,生根以加入香蕉提取液为佳^[18]。魏梅娟等认为,香蕉对铁皮石斛根系生长具有显著促进作用^[19]。本试验中壮苗生根培养基也以 100 mL/L 香蕉汁作为添加物。

3.2 移栽

铁皮石斛的移栽基质以疏松透气、排水良好、肥料适量、无病菌虫害潜藏者为宜^[20-21]。袁正仿等研究发现,以泥炭土(100%)效果最好^[22]。付开聪等认为,无论是铁皮石斛的成活率、产量、粗壮程度还是高度,均以木块+苔藓移栽基质效果最好^[23]。朱艳等研究表明,最适宜的移栽基质是 1/3 泥炭+1/3 锯末+1/3 珍珠岩,覆以苔藓^[24]。吴雅等筛选出泥炭:树皮:刨花=2:4:4 的基质配比作为铁皮石斛组培苗移栽的最佳基质^[25]。本试验表明,移栽效果最佳的组合是泥炭土+树皮+碎砖+活苔藓,该组合下铁皮石斛组培苗移栽成活率最高,且组培苗的长势也较好。

参考文献:

[1]张治国,刘 骅,王 黎,等. 铁皮石斛原球茎增殖的培养条件研究[J]. 中草药,1992,23(8):431-433.
[2]孙志蓉,王美云,金家兴,等. 铁皮石斛试管苗生长发育动态研究[J]. 北京中医药大学学报,2010,33(2):83-87.
[3]张治国,王 黎,刘 骅,等. 铁皮石斛原球茎分化适宜培养基研究[J]. 中国中药杂志,1993,18(1):16-19.
[4]赵天榜,陈志香,陈占宽,等. 石斛组织培养与栽培技术的研究[J]. 河南农业大学学报,1994,28(2):128-133.
[5]何平荣,宋希强,罗毅波,等. 丹霞地貌生境中铁皮石斛的繁殖生物学研究[J]. 中国中药杂志,2009,34(2):124-127.
[6]倪勤武,陈连庆. 浙江富阳野生黑节草形态特征研究[J]. 浙江中医学院学报,2004,28(3):59-60.
[7]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):1583-1585.

[8]Swanson E B,Coumans M P,Brown G L,et al. The characterization of herbicide tolerant plants in *Brassica napus* L. after *in vitro* selection of microspores and protoplasts[J]. Plant Cell Reports,1988,7(2):83-87.
[9]Barro F,Fernandez-Escobar J,de la Vega M,et al. Doubled haploid lines of *Brassica carinata* with modified erucic acid content through mutagenesis by EMS treatment of isolated microspores[J]. Plant Breeding,2001,120(3):262-264.
[10]Barro F,Fernández-Escobar J,de la Vega M,et al. Modification of glucosinolate and erucic acid contents in doubled haploid lines of *Brassica carinata* by UV treatment of isolated microspores[J]. Euphytica,2003,129(1):1-6.
[11]张 玲,张治国. 铁皮石斛种子试管苗适宜培养基研究[J]. 浙江省医学科学院学报,1997,29(3):426.
[12]孟志霞,房慧勇,郭顺星,等. 营养因子对铁皮石斛幼苗生长的影响[J]. 中国药学杂志,2008,43(9):665-668.
[13]冯 莹. 石斛兰 ACS 反义基因的遗传转化及其离体开花的研究[D]. 福州:福建农林大学,2008.
[14]王玉英,李枝林,余朝秀. 春石斛试管增殖研究初报[J]. 中国农学通报,2005,21(2):208-209.
[15]徐宏英,赵玉明,谢海军,等. 大花蕙兰组培快繁影响因素分析[J]. 园艺学报,2002,29(2):183-185.
[16]冯 莹,赖钟雄. 外源激素和糖对石斛兰原球茎受体系统建立的影响[J]. 福建农林大学学报:自然科学版,2009,38(5):495-499.
[17]陈兆贵,谭 俊. 不同激素配比对铁皮石斛组织培养的影响研究[J]. 惠州学院学报:自然科学版,2006,26(3):11-14.
[18]周江明. 不同有机物对铁皮石斛试管苗生长发育的影响[J]. 中国农学通报,2005,21(8):49-51.
[19]魏梅娟,李 雪,叶清梅,等. 铁皮石斛组培苗生长的影响因素研究[J]. 北方园艺,2011(2):146-148.
[20]Murali N S,Teramura A H. Effects of ultraviolet-B irradiance on soybean. VI. Influence of phosphorus nutrition on growth and flavonoid content[J]. Physiologia Plantarum,1985,63(4):413-416.
[21]安学丽,蔡一林,王久光,等. 化学诱变及其在农作物育种上应用[J]. 核农学报,2003,17(3):239-242.
[22]袁正仿,张卫明,丁小余,等. 铁皮石斛的栽培研究[J]. 中国医学生物技术应用,2002(4):54-56.
[23]付开聪,冯德强,张绍云,等. 铁皮石斛集约化高产栽培技术研究[J]. 中草药,2003(2):177-179.
[24]朱 艳,秦民坚. 促进铁皮石斛试管苗移栽成活的研究[J]. 中国野生植物资源,2004,23(3):62-63.
[25]吴 雅,史骥清,滕士元,等. 铁皮石斛组培苗移栽基质的筛选[J]. 现代农业科技,2010(6):107-110.