

张本厚,胡燕花,金磊磊,等. 铁皮石斛组培体药用和营养成分含量的比较[J]. 江苏农业科学,2015,43(10):324-327.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.10.106

铁皮石斛组培体药用和营养成分含量的比较

张本厚¹, 胡燕花¹, 金磊磊², 陈集双^{1,2}

(1. 南京工业大学大丰海洋产业研究院,江苏盐城 224145; 2. 南京工业大学生物资源工程研究所,江苏南京 210009)

摘要:为了探明铁皮石斛组培体中药用和营养成分含量,比较研究 3 种铁皮石斛组培体和人工栽培铁皮石斛干物率、多糖含量、总生物碱含量和总蛋白质含量。结果表明:三年生人工栽培铁皮石斛茎段干物率为 20.79%,显著高于 3 种铁皮石斛组培体,原球茎干物率为 3.77%,显著低于 2 种组培苗;三年生人工栽培铁皮石斛茎段多糖和总生物碱含量分别为 24.66% 和 0.027%,均显著高于 3 种铁皮石斛组培体,原球茎多糖和总生物碱含量分别为 11.53% 和 0.018%,均显著高于 2 种组培苗;3 种铁皮石斛组培体总蛋白含量均显著高于三年生人工栽培铁皮石斛茎段(6.87%),原球茎总蛋白含量为 22.19%,显著高于 2 种组培苗。综合而言,虽然铁皮石斛原球茎水分含量较高,但其增殖速率远大于人工栽培铁皮石斛和组培苗;在药用和营养成分方面,虽然铁皮石斛原球茎的多糖和总生物碱含量低于人工栽培铁皮石斛,但其多糖、总生物碱和总蛋白含量均高于 2 种组培苗。因此,铁皮石斛原球茎具有很好的开发应用前景。

关键词:铁皮石斛;组培体;药用成分;营养成分;多糖;总生物碱;总蛋白

中图分类号: S567.23*9.01 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)10-0324-04

铁皮石斛(*Dendrobium officinale* Kimura et Migo)为兰科(Orchidaceae)石斛属(*Dendrobium*)多年生草本植物,始载于《神农本草经》,为我国传统的名贵中药材,被誉为“中华九大仙草之首”。《中国药典》(2010 年版)记载,铁皮石斛具有益胃生津、滋阴清热等功效。现代药理研究表明,铁皮石斛具有增强免疫力^[1-3]、降血压^[4]、降血糖^[5]、抗肿瘤^[6-8]、抗氧化^[9-11]等作用。由于铁皮石斛种子极小、无胚乳、自然条件下须与真菌共生才能萌发,萌发率低,自然情况下多采用无性繁殖方式进行增殖,增殖率较低,加之铁皮石斛野生资源过度采挖以及所依赖环境的破坏,野生铁皮石斛资源已经濒临灭绝^[12],成为“濒危珍稀植物”,被列入《国家重点保护野生药材物种名录》和《中国植物红皮书》^[13-14],已无法满足市场需求。为保护和持续利用这一珍稀中药品种,植物组织培养和人工栽培技术已广泛用于铁皮石斛生产。目前,铁皮石斛药源以人工栽培的铁皮石斛为主,但供需缺口仍相当悬殊,主要是由于铁皮石斛人工栽培存在成活率低、生产周期长、成本高、植株生长不一等问题。近年来,不少研究表明,铁皮石斛组培体与原药材药效相似^[15-16],其是否可以成为铁皮石斛替代性药源,从中提取有效成分,引起人们的广泛关注。本研究以 3 种铁皮石斛组培体与人工栽培铁皮石斛为材料,比较其干物率、2 种药用成分(多糖和总生物碱含量)和 1 种营养成分(总蛋白含量),

为铁皮石斛组培体的开发应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为 4 种铁皮石斛人工培养体:固体培养 30 d 的铁皮石斛原球茎、固体继代培养 60 d 的 3 cm 铁皮石斛组培小苗、固体继代培养 120 d 的 7 cm 铁皮石斛组培大苗、三年生人工栽培铁皮石斛茎段。本试验所有供试材料均来自同一株铁皮石斛,其中原球茎和组培苗是将该植株成熟种子通过植物组织培养获得的,三年生人工栽培铁皮石斛茎段是将该植株置于自然环境中人工栽培 3 年获得的。

1.2 试验方法

1.2.1 干物率的测定 称取 100 g 左右的铁皮石斛新鲜样品(m_1),104 ℃ 20 min 杀青,80 ℃ 烘干至恒质量,准确称取铁皮石斛样品干质量(m_2)。

$$\text{干物率} = m_2 / m_1 \times 100\%。$$

1.2.2 多糖含量的测定

1.2.2.1 标准曲线的制作 准确称取 10.00 mg 经 80 ℃ 烘干至恒质量的蔗糖标准品,置于 100 mL 的容量瓶中,加蒸馏水稀释至刻度,充分混匀。分别取 0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 mL 置于试管中,加蒸馏水至 2 mL,同时以 2 mL 蒸馏水为空白对照。依次加入 0.5 mL 蒽酮溶液(1.00 g 蒽酮溶于 50 mL 乙酸乙酯)和 5 mL 浓硫酸,充分混匀,置于沸水浴中加热 10 min,取出冷却至室温,于 620 nm 处测得吸光度。

1.2.2.2 样品多糖含量的测定 将铁皮石斛新鲜样品于 104 ℃ 下杀青 20 min,80 ℃ 烘干至恒质量,研成粉末,精确称取 0.10 g 铁皮石斛样品粉末置于三角瓶中,加入 20 mL 80% 乙醇,超声提取 2 次,3 500 r/min 离心 5 min 后弃上清(以去除单糖、低聚糖及苷类等干扰性成分),将残渣用蒸馏水清洗 2 次,加入 6 mL 蒸馏水,沸水浴提取 30 min,提取液经 2 层滤

收稿日期:2015-01-04

基金项目:江苏省自然科学基金(编号:BK20141265);江苏省科技支撑计划(编号:BE2014408)。

作者简介:张本厚(1985—),男,江苏徐州人,硕士,助理研究员,主要从事植物病毒天然药物生物反应器研究。E-mail:zhangbenhou@163.com。

通信作者:陈集双,博士,教授,主要从事植物病毒天然药物生物反应器等研究。E-mail:biochenjs@njut.edu.cn。

纸过滤,收集滤液,残渣重复提取 2 次,合并 2 次滤液并加蒸馏水至 200 mL。取 1 mL 置于试管中,加蒸馏水至 3 mL,充分混匀,作为样品液(稀释 3 倍)。取 2 mL 样品液,同时以 2 mL 蒸馏水作为空白对照,按照标准曲线的操作方法于 620 nm 处测吸光度。

1.2.3 总生物碱含量的测定 总生物碱含量的测定方法参照金蓉鸾等的方法^[17-18]。(1)标准曲线的制作。精确称取 1.00 mg 石斛碱标准品置于 100 mL 容量瓶中,加三氯甲烷至刻度线。分别取 1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mL 置于分液漏斗中,加三氯甲烷至 10 mL,同时以 10 mL 三氯甲烷为空白对照,加入 pH 值为 4.5 的缓冲液 5 mL 和 0.04% 溴甲酚绿溶液 2 mL,剧烈振摇 3 min,静置 30 min。三氯甲烷层通过经三氯甲烷浸泡处理并干燥后的药棉滤过,取 5 mL 三氯甲烷续滤液,加 0.01 mol/L NaOH-无水乙醇溶液 1 mL,充分混匀,于 620 nm 处测吸光度。(2)样品总生物碱含量的测定。将铁皮石斛新鲜样品烘干,精确称取 0.50 g 样品粉末(过 60 目筛)置于 25 mL 三角瓶中,加入 3~5 mL 浓氨水充分润湿后,密闭放置 30 min,加入 10 mL 三氯甲烷,称质量,置于水浴锅中加热回流提取 2 h,冷却后称质量,补充三氯甲烷至原质量,过滤。取 2 mL 置于 10 mL 容量瓶中,加三氯甲烷稀释至刻度,充分混匀,作为样品液(稀释 5 倍)。

取 10 mL 样品液,同时取 10 mL 三氯甲烷作为空白对照,按照标准曲线的操作方法,于 620 nm 处测得吸光度。同时取石斛碱标准溶液(25 $\mu\text{g/mL}$)2 mL 置于 25 mL 容量瓶中,加三氯甲烷稀释至刻度,充分混匀,取 10 mL(含 20 μg 石斛碱)置于分液漏斗中,按照标准曲线的操作方法,于 620 nm 处测得吸光度,则

$$\text{总生物碱含量} = D_{\text{样品液}} \times 20 \mu\text{g} \times n \div D_{\text{标准品溶液}} \div m。$$

式中: $D_{\text{样品液}}$ 代表样品液吸光度; $D_{\text{标准品溶液}}$ 代表石斛碱标准溶液吸光度; n 代表稀释倍数; m 代表样品质量。

1.2.4 总蛋白含量的测定 将铁皮石斛新鲜样品烘干,精确称取 0.10 g 置于研钵中,加入 0.02 g 石英砂和 2 mL 30% NaOH 溶液,研磨 2 min 后再加入 10 mL 60% 碱性乙醇,研磨 5 min;然后用 60% 碱性乙醇将研磨好的样品无损地洗入 50 mL 容量瓶中,60% 碱性乙醇定容至刻度,摇匀后静置片刻,取部分浸提液 3 500 r/min 离心 10 min。吸取上清液 1 mL 于 50 mL 容量瓶中,用 60% 碱性乙醇定容至刻度,作为样品液。利用分光光度法,于 280、260 nm 波长下分别测定吸收度,则

$$\text{总蛋白含量} = (1.45 \times D_{280 \text{ nm}} - 0.74 \times D_{260 \text{ nm}}) \div V \div 1\ 000 \div m \times 100\%。$$

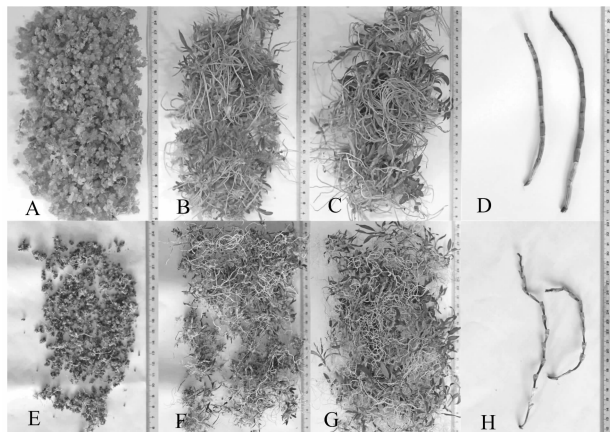
式中: $D_{280 \text{ nm}}$ 代表蛋白质提取液在 280 nm 处测得的吸光度; $D_{260 \text{ nm}}$ 代表蛋白质提取液在 260 nm 处测得的吸光度; V 代表将所有样品提取液稀释成测量液浓度后的总体积, mL; m 代表样品质量, g。

1.2.5 数据处理 运用 SPSS 17.0 中的单因素方差分析(One-way ANOVA)比较 4 种不同铁皮石斛培养体之间的干物率、多糖含量、总蛋白质含量和总生物碱含量的差异性。

2 结果与分析

2.1 干物率的比较

4 种铁皮石斛培养体鲜品和干品形态对比结果如图 1 所示。4 种铁皮石斛培养体干物率比较结果如表 1 所示,随着培养时间的增加,干物率呈递增趋势,三年生人工栽培铁皮石斛茎段干物率最高,为 20.79%,显著高于其他 3 种铁皮石斛组培体。3 种铁皮石斛组培体中,原球茎干物率为 3.77%,显著低于 2 种组培苗。3 cm 组培小苗和 7 cm 组培大苗干物率分别为 6.21% 和 7.82%,且 7 cm 组培大苗干物率显著高于 3 cm 组培小苗。



A—原球茎鲜品; B—3 cm 组培小苗鲜品; C—7 cm 组培大苗鲜品; D—三年生人工栽培茎段鲜品; E—原球茎干品; F—3 cm 组培小苗干品; G—7 cm 组培大苗干品; H—三年生人工栽培茎段干品

图1 不同铁皮石斛培养体鲜品与干品的形态

表 1 不同铁皮石斛培养体的干物率

组培体类型	干物率(%)
原球茎	3.77 \pm 0.18Cd
3 cm 组培小苗	6.21 \pm 0.42Bc
7 cm 组培大苗	7.82 \pm 0.26Bb
三年生栽培茎段	20.79 \pm 0.69Aa

2.2 多糖含量的比较

以蔗糖浓度(C_1 , $\mu\text{g/mL}$)为横坐标,吸光度(D_1)为纵坐标,绘制标准曲线,回归方程为 $D_1 = 0.011\ 4C_1 - 0.000\ 5$, $r^2 = 0.999\ 3$ 。

4 种铁皮石斛培养体多糖含量比较结果如图 2 所示,三年生人工栽培铁皮石斛茎段多糖含量最高,为 24.66%,显著高于其他 3 种铁皮石斛组培体。3 种铁皮石斛组培体中,原球茎多糖含量为 11.53%,显著高于 2 种组培苗。3 cm 组培小苗和 7 cm 组培大苗多糖含量分别为 5.76% 和 6.71%,两者之间没有显著差异。

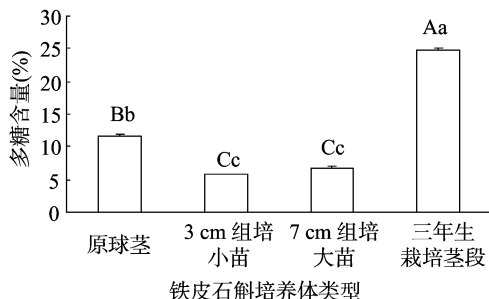


图2 不同铁皮石斛培养体多糖含量的比较结果

2.3 总生物碱含量的比较

以石斛碱浓度 (C_2 , $\mu\text{g/mL}$) 为横坐标, 吸光度 (D_2) 为纵坐标, 绘制标准曲线, 回归方程为: $D_2 = 0.0755C_2 + 0.0007$, $r^2 = 0.9990$ 。

4 种铁皮石斛培养体总生物碱含量比较结果如图 3 所示, 三年生人工栽培铁皮石斛茎段总生物碱含量最高, 为 0.027%, 显著高于其他 3 种铁皮石斛组培体。3 种铁皮石斛组培体中, 原球茎总生物碱含量为 0.018%, 显著高于 2 种组培苗。3 cm 组培小苗和 7 cm 组培大苗总生物碱含量分别为 0.013% 和 0.012%, 两者之间没有显著差异。

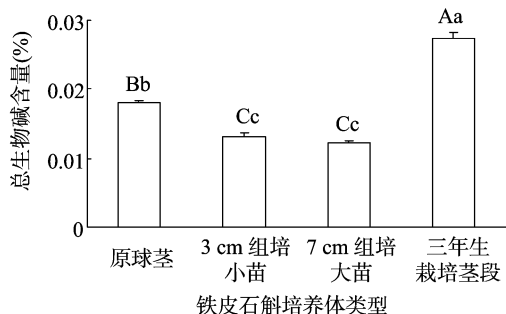


图3 不同铁皮石斛培养体总生物碱含量的比较结果

2.4 总蛋白含量的比较

4 种铁皮石斛培养体总蛋白含量比较结果如图 4 所示, 随着培养时间的延长, 总蛋白含量呈递减趋势, 三年生人工栽培铁皮石斛茎段总蛋白含量为 6.87%, 显著低于其他 3 种铁皮石斛组培体。3 种铁皮石斛组培体中, 原球茎总蛋白含量为 22.19%, 显著高于 2 种组培苗。3 cm 组培小苗和 7 cm 组培大苗总蛋白含量分别为 18.82% 和 16.14%, 且 3 cm 组培小苗总蛋白含量显著高于 7 cm 组培大苗。

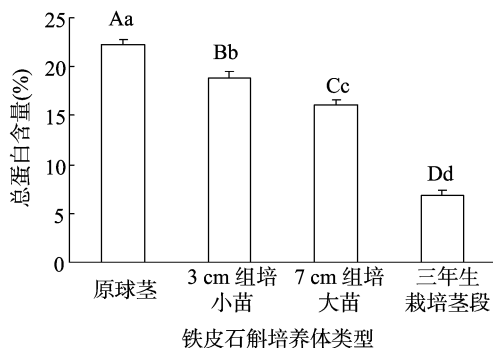


图4 不同铁皮石斛培养体总蛋白含量的比较结果

3 结论与讨论

铁皮石斛组织培养物是否可以作为铁皮石斛替代性药源, 并从中提取有效成分, 主要取决于其有效成分的含量和药理作用。目前, 已有众多研究表明铁皮石斛组培体与原药材具有相似的药理作用^[6,15-16,19-24]。多糖为铁皮石斛最主要的有效成分, 因此铁皮石斛组培体中多糖含量成为评定组培体质量的重要因素。许多研究结果显示, 铁皮石斛组培体多糖含量低于铁皮石斛枫斗、人工栽培或野生铁皮石斛^[19,25-28], 这与本试验结果一致, 但也有报道铁皮石斛组培体多糖含量与人工栽培或野生铁皮石斛相当甚至更高^[16,29-30]。本试验结果显示, 3 种铁皮石斛组培体中原球茎多糖含量显著

高于 2 种组培苗, 与大多数前人的研究结论^[19,27,29,31]一致, 也有少数研究结果显示铁皮石斛组培苗多糖含量高于原球茎或拟原球茎^[25,32]。

生物碱是铁皮石斛重要的有效成分之一, 铁皮石斛组培体中生物碱含量也会影响组培体的品质。辛甜等的研究结果显示, 铁皮石斛组培体的生物碱含量低于铁皮石斛枫斗、栽培植株和野生植株^[19,33], 这与本试验结果一致; 但是孙丹的研究结果显示, 铁皮石斛原球茎生物碱含量高于一年生栽培植株^[29]。本试验结果显示, 3 种铁皮石斛组培体中原球茎总生物碱含量显著高于 2 种组培苗, 与大多数前人的研究结论^[19,29]一致, 但是李莹的研究结果显示铁皮石斛原球茎的生物碱含量略低于组培苗^[32]。

铁皮石斛作为一种药食同源的中药材, 除了药用价值外, 其营养价值也不容忽视。蛋白质是一种重要的营养成分, 可以满足人们对蛋白质和氨基酸的需求。目前铁皮石斛组培体虽不可直接入药或食用, 但在有效成分提取过程中, 蛋白质可以作为营养保健品加以提取利用, 因此铁皮石斛组培体的蛋白质含量和氨基酸组成对其蛋白质的利用具有重要的意义。目前, 已有不少学者对铁皮石斛组培体与铁皮石斛枫斗、栽培植株或野生植株的蛋白质或总氨基酸含量进行研究, 结果显示随着培养时间的延长, 蛋白质或总氨基酸的含量呈递减趋势^[25,28,30,34], 这与本试验结果一致, 这可能与随着培养时间的延长, 铁皮石斛组培体或栽培植株的纤维化程度逐渐加深、生长活跃程度逐渐降低有关。关于铁皮石斛蛋白质氨基酸的组成本试验未着重分析研究, 有待后续试验进一步研究。目前已有不少研究对铁皮石斛组培体蛋白质的氨基酸组成进行分析, 大部分研究结果显示组培体蛋白质的氨基酸组成与铁皮石斛枫斗的栽培植株或野生植株一致^[19,28,34]。

本研究表明, 随着培养时间的延长, 铁皮石斛组培体或栽培植株的干物率逐渐增加, 其水分含量逐渐降低, 这可能与纤维化程度逐渐加深有关。

综上所述, 3 种铁皮石斛组培体中, 原球茎的多糖、总生物碱和总蛋白含量均最高, 虽然其多糖和总生物碱含量低于三年生人工栽培铁皮石斛茎段, 水分含量较高, 但是其增殖速率快、生长周期短、产量高; 生产条件可控、产品质量均一, 便于标准化生产; 生产方式简便、生产成本低等优势, 将铁皮石斛原球茎作为铁皮石斛替代性药源, 从中提取药用和营养成分, 用于医药、保健品、护肤品等行业, 具有很好的开发应用前景, 同时也缓解了铁皮石斛野生资源枯竭、药源紧缺等问题, 对于保护铁皮石斛野生资源、实现其可持续利用具有重要意义。

参考文献:

- [1] Liu X F, Zhu J, Ge S Y, et al. Orally administered *Dendrobium officinale* and its polysaccharides enhance immune functions in BALB/c mice[J]. Natural Product Communications, 2011, 6(6): 867-870.
- [2] 宋美芳, 李光, 陈曦, 等. 两种石斛多糖提高小鼠免疫活性的初步研究[J]. 中国药理学杂志, 2013, 48(6): 428-431.
- [3] 蔡海兰, 黄晓君, 聂少平, 等. 铁皮石斛多糖对 RAW2647 细胞分泌 TNF- α 的影响[J]. 中国药理学通报, 2012, 28(11): 1553-1556.
- [4] 吴人照, 杨兵勋, 李亚平, 等. 铁皮石斛多糖对 SHR-sp 大鼠抗高

- 血压中风作用的实验研究[J]. 中国中医药科技, 2011, 18(3): 204–205, 210.
- [5] 吴昊姝, 徐建华, 陈立钻, 等. 铁皮石斛降血糖作用及其机制的研究[J]. 中国中药杂志, 2004, 29(2): 160–163.
- [6] 郭洪波. 铁皮石斛(*Dendrobium candidum*)组培快繁及其抗癌作用的研究[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2008.
- [7] 罗慧玲, 蔡体育, 陈巧伦, 等. 石斛多糖增强脐带血和肿瘤病人外周血 LAK 细胞体外杀伤作用的研究[J]. 癌症, 2000, 19(12): 1124–1126.
- [8] 张红玉, 戴关海, 马 翠, 等. 铁皮石斛多糖对 S180 肉瘤小鼠免疫功能的影响[J]. 浙江中医杂志, 2009, 44(5): 380–381.
- [9] 黎 英, 赵亚平, 陈蓓怡, 等. 5 种石斛水提物对活性氧的清除作用[J]. 中草药, 2004, 35(11): 1240–1242.
- [10] 查学强, 王军辉, 潘利华, 等. 石斛多糖体外抗氧化活性的研究[J]. 食品科学, 2007, 28(10): 90–93.
- [11] 鲍素华, 查学强, 郝 杰, 等. 不同分子量铁皮石斛多糖体外抗氧化活性研究[J]. 食品科学, 2009, 30(21): 123–127.
- [12] 白 音, 包英华, 金家兴, 等. 我国药用石斛资源调查研究[J]. 中草药, 2006, 37(9): 附 4–附 6.
- [13] 李 玲, 邓晓兰, 赵兴兵, 等. 铁皮石斛化学成分及药理作用研究进展[J]. 肿瘤药学, 2011, 1(2): 90–94.
- [14] 高正华, 杨兵勋, 陈立钻. 铁皮石斛的研究进展[J]. 中国现代应用药学, 2008, 25(S2): 692–695.
- [15] 高建平, 金若敏, 吴耀平, 等. 铁皮石斛原球茎与原药材免疫调节作用的比较研究[J]. 中药材, 2002, 25(7): 487–489.
- [16] 黄民权, 卢应京. 石斛愈伤组织培养物的药用前景探讨[J]. 中药材, 1998, 21(11): 543–545.
- [17] 金蓉鸾, 孙继军, 张远名. 11 种石斛的总生物碱的测定[J]. 南京药学院学报, 1981(1): 9–13.
- [18] 王令仪. 石斛多糖和生物碱测定及多糖抗衰老实验研究[D]. 遵义: 遵义医学院, 2009.
- [19] 辛 甜. 组培铁皮石斛的品质评价研究[D]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2011.
- [20] 徐 红, 刘 峻, 王峰涛, 等. 5 种石斛及其组织培养物对活性氧的清除作用[J]. 植物资源与环境学报, 2001, 10(2): 35–37.
- [21] 何铁光, 杨丽涛, 李杨瑞, 等. 铁皮石斛原球茎多糖 DCPPIa-1 的理化性质及抗肿瘤活性[J]. 天然产物研究与开发, 2007, 19(4): 578–583.
- [22] 何铁光, 杨丽涛, 李杨瑞, 等. 铁皮石斛原球茎多糖 DCPPIa-1 对氧自由基和脂质过氧化物的影响[J]. 天然产物研究与开发, 2007, 19(3): 410–414.
- [23] 何铁光, 杨丽涛, 李杨瑞, 等. 铁皮石斛原球茎多糖粗品与纯品的体外抗氧活性研究[J]. 中成药, 2007, 29(9): 1265–1269.
- [24] 辛 甜, 储智勇, 栾 洁, 等. 铁皮石斛胚状体对大鼠抗疲劳能力的影响[J]. 药学实践杂志, 2011, 29(1): 21–23.
- [25] 郭孟璧, 封良燕, 田茂军, 等. 人工培养铁皮石斛营养成分分析研究[J]. 云南化工, 2006, 33(2): 15–16, 43.
- [26] 尚喜雨. 多糖在不同来源不同部位铁皮石斛中的分布规律研究[J]. 中国现代药物应用, 2010, 4(13): 104–105.
- [27] 张冬青, 廖俊杰. 铁皮石斛试管培养物多糖含量测定[J]. 中药材, 2005, 28(6): 450–451.
- [28] 黎万奎, 胡之璧, 周吉燕, 等. 人工栽培铁皮石斛与其他来源铁皮石斛中氨基酸与多糖及微量元素的比较分析[J]. 上海中医药大学学报, 2008, 22(4): 80–83.
- [29] 孙 丹. 铁皮石斛圆球茎生物反应器培养及有效成分含量的分析[D]. 延吉: 延边大学, 2010.
- [30] 何铁光, 苏 江, 王灿琴, 等. 铁皮石斛不同来源材料多糖和氨基酸含量的比较[J]. 广西农业科学, 2007, 38(1): 32–34.
- [31] 王丽琼. 铁皮石斛快繁体系和细胞培养研究[D]. 武汉: 华中科技大学, 2013.
- [32] 李 莹. 铁皮石斛组培及次生代谢物积累规律的研究[D]. 南京: 南京林业大学, 2012.
- [33] 尚喜雨. 不同来源铁皮石斛不同部位生物碱的分布规律研究[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(23): 12441–12442.
- [34] 谢哲臻. 铁皮石斛试管苗再生体系及抗肿瘤活性研究[D]. 西安: 陕西师范大学, 2012.

(上接第 58 页)

3 讨论与结论

从本试验结果来看, 对于外植体的选择, 用带节的茎段作外植体, 最有利于长出侧芽的激素配比为 NAA 0.4 mg/L + 6-BA 0.6~0.8 mg/L。

有关芦苇快速繁殖技术的研究中还没有组织培养方面的报道, 本试验对芦苇的快繁技术进行了研究。促进侧芽分化的培养基和促进生根的培养基在激素配比上差异较大, 在侧芽分化后, 转移到生根培养基的过程中, 污染严重且过程不易操作, 试验结果表明, 在 IBA 浓度为 1.0 mg/L、6-BA 的浓度为 0~0.20 mg/L 时, 外植体均有生根现象发生, 生根状况最佳的是浓度配比为 IBA 1.0 mg/L、6-BA 0.04 mg/L。避免了在侧芽长出后更换培养基的步骤, 使过程更为简单容易操作。当试管苗长到 6~7 cm 的时候, 根系就能主动吸收外界环境中的营养和水分, 这时可以进行移栽, 把试管苗移栽到含有腐殖质和沙土的花盆里, 注意保湿保温和光照, 试管苗生长状况良好。移栽后炼苗和移栽大田的管理过程还需进一步试验研究。

参考文献:

- [1] Ye Z H, Baker A J, Wong M H, et al. Zinc, Lead and cadmium tolerance, uptake and accumulation by the common reed, *Phragmites australis* (Cav.) Trin. ex Steudel[J]. Annals of Botany, 1997, 80: 363–370.
- [2] 卢广平, 陈宝智. 海新河综合治理方案研究[J]. 环境科学研究, 2005, 18(5): 45–48.
- [3] 叶保君, 李春玲. 花叶芦竹组织培养技术的研究[J]. 北京农学院学报, 1994, 9(1): 48–52.
- [4] 张树录. 禾本科植物组织培养中的体细胞胚胎发生[J]. 植物生理学通讯, 1985(6): 15–20.
- [5] 冉隆贤, 林雪坚, 文仕知, 等. 芦竹组织培养技术研究[J]. 中南林学院学报, 1998, 8(1): 49–52, 88.
- [6] 吴丽爽, 王晓萍. 水生观赏植物组织培养研究进展[J]. 黑龙江农业科学, 2008(5): 25–28.
- [7] 李根英, 黄承彦, 隋新霞, 等. 小麦不同外植体的组织培养效果研究[J]. 麦类作物学报, 2006, 26(1): 21–25.
- [8] 陆维忠, 余建明, 吴鹤鸣, 等. 小麦幼穗、茎、节组织培养和植株再生[J]. 江苏农业学报, 1988, 4(1): 14–18.
- [9] 王 春, 张俊林, 范文锋, 等. 南天竹组培快繁技术[J]. 林业科技开发, 2011, 25(2): 85–88.