

能直接影响到愈伤组织的分化。

References:

- [1] Tsay H S, Huang H L. Somatic embryo formation and germination from immature embryo-derived suspension-cultured cells of *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels [J]. *Plant Cell Report*, 1998, 17: 670-674.
- [2] Zhang S Y, Cheng K C. *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels in vitro culture regeneration, and the production of medicinal compounds [A]. In: Bajji YPS (ed). *Biotechnology in Agriculture and Forestry Vol 7. Medicinal and Aromatic Plants* [M]. New York: Springer, 1989.
- [3] Zhang J L, Mi S H E, Yi W J. Analyze factors effecting on callus production of *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels [J]. *Gansu Agric Sci and Technol* (甘肃农业科技), 1995(11): 8-10.
- [4] Zhang J L. Callus redifferentiation and plant regeneration of *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels [J]. *J Gansu Agric Univ* (甘肃农业大学学报), 1995, 30(4): 293-297.
- [5] Gu J W. Studies on tissue culture on *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels [J]. *Acta Pharm Sin* (药学报), 1982, 17(2): 131-138.
- [6] Huang H L, Chen C C, Chen U C, et al. Studies on tissue culture of *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels I. Induction and growth of embryogenesis callus from immature embryo [J]. *J Agric Res China*, 1996, 45: 156-163.
- [7] Zhang S Y, Cheng K C. Callus induction and plantlet regeneration from several organs of *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels [J]. *Acta Bot Sin* (植物学报), 1982, 24(6): 512-518.
- [8] Zhang S Y, Zheng G C. Induction of embryogenic callus and histocytological study on embryoid development of *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels [J]. *Acta Bot Sin* (植物学报), 1986, 28(3): 241-244.
- [9] Luo X F, Yang N, Chen X L, et al. Study on tissue culture of the plantlet germinated from seed of *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels [J]. *J Northwest Normal Univ: Nat Sci* (西北师范大学学报: 自然科学版), 2004(4): 77-80.
- [10] Cheng F J, Zhao D X, Yang Y G, et al. Studies on the multi-types of callus *Saussurea medusa* and its re-differentiation conditions [J]. *J Central China Normal Univ: Nat Sci* (华中师范大学学报: 自然科学版), 2000, 34(3): 331-335.
- [11] Gautheret R J. In: Cell differentiation and morphogenesis [J]. *North Holland Publ. Co Amsterdam*, 1966(3): 66-75.

杯鞘石斛组培苗接种菌根真菌和细菌肥的研究

陈瑞蕊¹, 施亚琴¹, 林先贵^{1*}, 张 宁², 汤卫国²

(1. 中国科学院南京土壤研究所, 江苏 南京 210008; 2. 云南金陵植物药业股份有限公司, 云南 思茅 665000)

石斛属 *Dendrobium* Sw. 中的许多种是名贵的中药材, 以新鲜和干燥的茎入药, 具有强阴益精、平胃气、长肌肉、益智除惊、健身延年的功效, 被誉为“中华九仙草”之首。由于长期采挖, 近年来石斛自然资源接近枯竭, 因此被国家列为重点保护的野生药材品种^[1]。许多研究者已经意识到了这个问题, 纷纷开展了石斛组培及集约化栽培技术的研究。但是采用组培方法繁殖, 试管苗出瓶后存活率低, 在栽培条件下生长缓慢^[2], 难以满足市场的需求。

石斛属兰科植物, 与兰科菌根真菌形成典型的共生关系^[3], 真菌菌丝可以侵入到根系细胞内, 将获得的碳水化合物和氮磷等营养物质, 提供给石斛, 促进其生长。鉴于石斛与兰科菌根真菌的特殊关系, 开展了石斛组培苗接种菌根真菌和细菌菌肥的研究。先从野生石斛根系中分离、纯化, 获得菌根真菌和根际有益细菌, 再尝试对杯鞘石斛组培苗进行接种, 通过盆栽试验和田间小区试验组培苗生长情况的观察, 寻找合适的菌根真菌和菌肥, 希望能够改善石斛组培苗的根际环境, 促进组培苗的生长, 提高产量。

1 材料与方法

1.1 盆栽试验

1.1.1 材料: 杯鞘石斛 *D. gratiosissimum* Rchb. f., 由中国科学院昆明植物研究所刘芳媛研究员鉴定。杯鞘石斛组培苗, 由云南金陵植物药业股份有限公司组培中心提供。组培苗出瓶后炼苗6个月, 然后从云南思茅空运到南京, 栽培一个月后按株型大小, 均匀搭配, 留待接种。

1.1.2 试验设计: 盆栽试验共设7种处理, 分别是不接种(CK); 接种混合菌肥1号(由固氮菌 N01, 磷细菌 P22, 钾细菌 K25 组成); 混合菌肥2号(由 N06, P22, K25 组成); 混合菌肥3号(由 N02, P05, K02 组成); 接种兰科菌根真菌 Dt5、Dt6 和 Dt8, 每一处理重复3次, 共21杯。

1.1.3 试验方法: 液体振荡培养, 分别获得 N01、N02、N06、K02、K25、P05、P22、Dt5、Dt6 和 Dt8 的菌悬液。固氮菌、磷细菌和钾细菌的菌液稀释1倍后, 按3:1:2的比例混合制成混合菌肥。挖开根系周围的基质, 将混合菌肥或真菌菌液直接接到根系

收稿日期: 2005-02-17

基金项目: 云南省科技厅科技合作项目(2003YKS-01)

作者简介: 陈瑞蕊(1978—), 女, 江苏南京人, 主要从事菌根方面研究。 Tel: (025)86881345 E-mail: rrcchen@issas.ac.cn

* 通讯作者 林先贵 Tel: (025)86881589 E-mail: xglin@issas.ac.cn

上,每杯 5 mL,对照接入等量自来水。每 10 天浇施 0.1% 的兰科营养液一次。在接种当天和接种 60、90 d 分别测定记录杯鞘石斛苗的株高和叶数。

1.2 小区试验

1.2.1 材料:杯鞘石斛组培苗,出瓶后炼苗 110 d,然后挑选大小整齐的苗,小区面积 0.75 m×1.50 m,每小区 6 行,每行 10 丛,栽种 10 d 后接种。

1.2.2 试验设计:在盆栽试验的基础上,选择菌肥 2 号和兰科菌根真菌 Dt5、Dt8,共设 4 种处理,分别是不接种(CK),接种细菌菌肥 2 号,接种菌根真菌 Dt5 和 Dt8,每一处理重复 3 次。

1.2.3 试验方法:培养好的菌液用灭菌泥炭吸附,制成固体菌剂。接种方法同盆栽试验,对照接入等量的灭菌泥炭。每月浇施 0.1% 的兰科营养液一次。水分及病虫害等管理按常规方法进行。每小区选定 3 个考察点,试验开始、接种 1 个月、2 个月、3 个月时分别测定考察点苗丛的株高、叶片数和茎粗。试验布置 1 年后,测定小区内所有组培苗的总鲜质量和地上部分鲜质量,并折算成 100 丛苗的产量。

采用 Duncan 法 ($P < 0.05$) 对实验数据进行统计。

2 结果与分析

2.1 杯鞘石斛组培苗接种菌肥和菌根真菌的盆栽试验:表 1 是不同处理的组培苗在接种后 60、90 d 的株高以及新增叶片的百分数。从株高可以看出:接种兰科菌根真菌 Dt5 的处理明显高于对照,60 和 90 d 时株高分别为 4.73 和 6.35 cm,是对照的 2.28 倍和 2.13 倍;其次为接种 Dt8。而接种混合菌肥对株高的促进作用不明显,其中混合菌肥 2 号的作用好于 1 号和 3 号。由于叶片数目的个体差异较大,不同处理的新增叶片百分数差异不显著,但从平均值来看接种 Dt5 的最高,分别为 61.11% 和 116.67%,其次为 Dt8。同样混合菌肥 2 号的效果好于其他两种混合菌肥。

根据盆栽试验的结果,从 3 种混合菌肥和 3 株菌根真菌中挑选出混合菌肥 2 号以及 Dt5、Dt8,进行田间小区试验。

2.2 杯鞘石斛组培苗接种菌肥和菌根真菌的田间小区试验:按照 1.2 的试验处理和方法,在石斛原产地云南思茅地区,进行了杯鞘石斛组培苗接种菌肥和菌根的田间小区试验。以 30、60 和 90 d 的叶片数、株高(茎高)和茎粗与接种当天相比的增加量作为指标,反映石斛的生长情况,结果如表 2~4 所示。与 CK 相比,不同接种处理对组培苗叶片的增加没有显著影

响,但从平均值来看,接种 Dt5 的处理在 30、60 和 90 d 时都高于对照和其他处理。接种 Dt5 能促进茎的生长,其中对茎粗的作用更明显,90 d 的增加量达到 218.75%,是 CK 的 1.48 倍;而 Dt8 的接种效果不显著。说明 Dt5 是杯鞘石斛的有益共生菌,能够与根系形成良性关系,促进组培苗的生长;而 Dt8 的增殖可能会导致与根系竞争养分和生活空间等,从而对组培苗的生长造成负效应。从表 4 还能发现:施用细菌菌肥对茎粗有明显作用,30、60、90 d 时茎粗分别增加了 75.00%、157.93% 和 222.22%。

为了观测接种对石斛组培苗的长期效应,在小区试验进行一年后,测定了每一小区全部组培苗的整株鲜质量和地上部分鲜质量,结果如图 1 所示。可以看出,接种 Dt5 后,生物量明显高于其他处理,其

表 1 盆栽试验中接种处理对组培苗株高和新增叶片百分数的影响

Table 1 Effects of inoculations on height of test-tube plantlets and percentage of newly-multiplied leaves in pot test

处 理	株高/cm		新增叶片百分数/%			
	60 d	检 验	90 d	检 验	60 d	90 d
CK	2.07	ab*	2.98	a	35.19	27.80
菌肥 1	2.00	ab	2.95	a	23.76	33.33
菌肥 2	3.00	abc	3.81	ab	30.56	37.96
菌肥 3	1.67	a	2.46	a	18.72	32.56
Dt5	4.73	c	6.35	b	61.11	116.67
Dt6	3.67	bc	4.24	ab	28.15	45.19
Dt8	3.67	bc	4.83	ab	64.57	106.53

* 不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$), 表 2~4 同此

* Followed by different letters means significantly different ($P < 0.05$); Tables 2~4 are same

表 2 小区试验中不同接种处理对组培苗叶片的影响

Table 2 Effect of inoculations on leaves of test-tube plantlets in plot test

处 理	新增叶片百分数/%					
	30 d	检 验	60 d	检 验	90 d	检 验
CK	27.08	b	54.18	a	62.50	a
菌肥	27.08	b	41.68	a	54.18	a
Dt5	29.15	b	58.35	a	77.10	a
Dt8	12.50	a	42.93	a	60.00	a

表 3 小区试验中不同接种处理对组培苗株高的影响

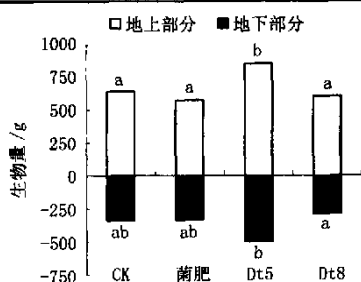
Table 3 Effect of inoculations on height of test-tube plantlets in plot test

处 理	株高增加的百分数/%					
	30 d	检 验	60 d	检 验	90 d	检 验
CK	39.60	b	108.75	b	167.00	b
菌肥	46.35	bc	104.51	b	187.62	b
Dt5	58.56	c	103.90	b	152.92	ab
Dt8	20.73	a	69.70	a	122.12	a

表4 小区试验中不同接种处理对组培苗茎粗的影响

Table 4 Effect of inoculations on diameter of test-tube plantlets in plot test

处 理	茎粗增加的百分数/%					
	30 d	检 验	60 d	检 验	90 d	检 验
CK	45.00	a	119.75	a	147.73	a
菌肥	75.00	b	157.93	a	222.22	b
Dt5	64.59	ab	144.89	a	218.75	b
Dt8	43.75	a	120.00	a	165.56	a

图1 小区试验中不同接种处理对组培苗生物量的影响 (不同小写字母表示部分生物量差异显著 $P < 0.05$)Fig. 1 Effect of inoculations on biomass of test-tube plantlets in plot test (different letters mean significant difference, $P < 0.05$)

中地上部分鲜质量达到 852.00 g/100 丛, 比对照增加 32.78%; 地下部分鲜质量达到 496.67 g/100 丛, 比对照增加 49.30%, 而接种 Dt8、接种细菌菌肥对生物量都没有显著影响。

从小区试验来看, 菌根真菌 Dt5 是杯鞘石斛组培苗的有益共生菌, 接种效果在整个试验阶段都明显, 能与根系形成共生关系而持续发挥作用, 增加根

际范围, 促进石斛对基质养分的吸收。细菌菌肥在施用后一段较短的时间内, 对组培苗茎的生长有促进作用, 但由于没有追施, 在根际的特殊效应不能持续, 付开聪等^[4]也有相似的看法。随着土著微生物群的恢复和发展, 菌肥的接种效应会被逐渐削弱, 因而试验进行一年后细菌菌肥对石斛生物量的作用并不显著。

3 小结

通过杯鞘石斛组培苗接种细菌菌肥和菌根真菌的盆栽和小区试验, 可以发现兰科菌根真菌 Dt5 的接种效果最好, 对入药部分茎的生长有显著促进作用, 年产量明显高于对照和其他接种处理。另外, 施用细菌菌肥的短期效果比较明显, 能在一定程度上增加石斛组培苗的株高和茎粗。

References:

- [1] Zhang Z G, Liu H, Wang L, et al. Studies on culture condition for proliferation of *Dendrobium candidum* protocorm [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1992, 23(8): 431-433.
- [2] Fan L, Guo S X, Cao W O, et al. Isolation, culture, identification and biological activity of *Mycena orchidicola* sp. Nov. in *Cymbidium sinense* (Orchidaceae) [J]. *Acta Mycol Sin* (真菌学报), 1996, 15(4): 251-255.
- [3] Guo S X, Cao W Q, Cao H H. Isolation and biological activity of mycorrhizal fungi from *Dendrobium candidum* and *D. nobile* [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2000, 25(6): 338-340.
- [4] Fu K C, Feng D Q, Zhang S Y, et al. Studies on high production technology in scale cultivation of *Dendrobium officinale* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 2003, 34(4): 177-179.

HPLC-ELSD 法测定黄芪药材中黄芪甲苷

徐希科, 李慧梁, 柳润辉, 苏 娟, 张 川, 周 耘, 张卫东*

(第二军医大学药学院, 上海 200433)

黄芪为常用补气药, 是我国重要的传统药材。《中国药典》规定, 药用黄芪为豆科植物蒙古黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge var. *nongholicus* (Bunge) Hsiao 及膜荚黄芪 *A. membranaceus* (Fisch.) Bunge 的干燥根。黄芪中含有多数化学成分, 如皂苷类、黄酮类、木脂素类、氨基酸

类、多糖类及多种微量元素等^[1]。研究表明黄芪甲苷具有降血压、镇静、镇痛及抗氧化等作用^[2~4], 是黄芪的主要活性成分, 因此黄芪甲苷常作为指标性成分应用于黄芪药材的质量监控。我国黄芪药用资源丰富, 在华北大部分省区均有大面积种植。本实验采用 HPLC-ELSD 法对全国 5 个省共 10 个产地的人

收稿日期: 2005-01-23

基金项目: 国家“863”项目 (2003AA2Z3507); 上海市科技发展基金攻关项目 (02DZ19147, 03DZ19503, 04DZ19843-3, 04DZ19856, 04DZ19857)

* 通讯作者 张卫东 Tel: (021)25070386 E-mail: wdzhangy@hotmail.com

作者: 陈瑞蕊, 施亚琴, 林先贵, 张宁, 汤卫国
作者单位: 陈瑞蕊, 施亚琴, 林先贵(中国科学院南京土壤研究所, 江苏, 南京, 210008), 张宁, 汤卫国(云南金陵植物药业股份有限公司, 云南, 思茅, 665000)
刊名: 中草药 **ISTIC PKU**
英文刊名: CHINESE TRADITIONAL AND HERBAL DRUGS
年, 卷(期): 2005, 36(11)
被引用次数: 2次

参考文献(4条)

1. Zhang Z G;Liu H;Wang L Studies on culture condition for proliferation of Dendrobium candidum protocorm 1992(08)
2. Fan L;Guo S X;Cao W O Isolation, culture, identification and biological activity of Mycena orchidicola sp. Nov. in Cymbidium sinense (Orchidaceae) 1996(04)
3. Guo S X;Cao W Q;Cao H H Isolation and biological activity of mycorrhizal fungi from Dendrobium candidum and D. nobile 2000(06)
4. Fu K C;Feng D Q;Zhang S Y Studies on high production technology in scale cultivation of Dendrobium officinale 2003(04)

本文读者也读过(10条)

1. 吴子平 花叶开唇兰组织培养及其产业化研究[期刊论文]-中国科技成果2009, 10(15)
2. 周堂英. 李惠波. 向素琼. 梁国鲁. ZHOU Tang-ying. LI Hui-bo. XIANG Su-qiong. LIANG Guo-lu 粉葛组织培养及同源四倍体诱导[期刊论文]-中草药2005, 36(8)
3. 陈连庆. 王小明. 裴致达. CHEN Lian-qing. WANG Xiao-ming. PEI Zhi-da 石斛菌根化组培苗对碳素吸收利用的研究[期刊论文]-生态环境2005, 14(3)
4. 蔬菜大棚养蜈蚣(上)[期刊论文]-河南科技2009(4)
5. 卢国栋. LU Guo-dong 药用蜈蚣的生态习性与临床应用[期刊论文]-四川动物2006, 25(1)
6. 莫昭展. 施福军. 梁海清. 符韵林. MO Zhao-zhan. SHI Fu-jun. LIANG Hai-qing. FU Yun-lin 细叶石斛原球茎组培褐化抑制与试管苗生根[期刊论文]-林业科技开发2009, 23(2)
7. 丁立威 蜈蚣价格节节走高[期刊论文]-农村百事通2009(21)
8. 黄亮. 曹春水 蜈蚣咬伤[期刊论文]-中国实用乡村医生杂志2007, 14(6)
9. 何雯婷 四种常用中草药再生体系的建立及甘肃马先蒿中PPG的初步测定[学位论文]2006
10. 陈连庆. 裴致达. 韩宁林. 张守英 三种石斛菌根形态结构及元素构成的研究[期刊论文]-林业科学研究2002, 15(1)

引证文献(2条)

1. 崔虹. 宋希强 菌根真菌对春石斛幼苗生长发育的影响[期刊论文]-西南林业大学学报 2011(2)
2. 王亚妮. 王丽琨. 苗宗保. 刘红霞 兰科石斛属植物菌根真菌研究进展[期刊论文]-热带亚热带植物学报 2013(3)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zcy200511048.aspx