

铁皮石斛快繁技术体系研究

常美花¹, 金亚征¹, 王莉²

1. 河北北方学院 园艺系, 河北 张家口 075000

2. 唐山师范学院滦州分校, 河北 唐山 063700

摘要: 目的 以铁皮石斛 *Dendrobium officinale* 带芽茎段为材料, 对铁皮石斛的组织培养进行系统研究, 以期建立铁皮石斛的快繁技术体系。**方法** 采用植物组织培养的方法对铁皮石斛外植体的消毒方法、原球茎的诱导、增殖、分化、幼苗生根及瓶苗移栽等进行研究。**结果** 铁皮石斛外植体最佳的消毒方式为 75%乙醇消毒 30 s, 再用 0.1% HgCl₂ 消毒 10 min; 铁皮石斛带芽茎段原球茎诱导的最佳培养基为 MS+1.0 mg/L 6-BA+0.5 mg/L NAA+2 g/L AC, 诱导率达到 34.98%; 原球茎增殖的最佳培养基为 MS+0.5 mg/L 6-BA+0.8 mg/L 2, 4-D+2 g/L AC, 增殖率达到 89.6%; 原球茎分化的最佳培养基为 MS+1.2 mg/L 6-BA+0.2 mg/L IBA+2 g/L AC, 分化率达到 89.6%; 幼苗生根的最佳培养基配方为 1/2 MS+2.5 mg/L NAA+15%土豆汁+2 g/L AC, 生根率达到 90.4%~92.8%; 瓶苗移栽最佳方式为大苗、树皮块苔藓草做基质、基质中添加 0.03 mg/L 赤霉素, 并接种适量菌根真菌 *Epulorhiza* sp. **结论** 建立了铁皮石斛的快繁技术体系, 为铁皮石斛的工业化生产奠定技术基础。

关键词: 铁皮石斛; 快繁技术; 幼苗移栽; 增殖; 分化

中图分类号: R282.21

文献标志码: A

文章编号: 0253-2670(2012)07-1412-06

Rapid propagation technique system of *Dendrobium officinale*

CHANG Mei-hua¹, JIN Ya-zheng¹, WANG Li²

1. Department of Horticulture, Hebei North University, Zhangjiakou 075000, China

2. Luanzhou Branch, Tangshan Normal College, Tangshan 063700, China

Abstract: Objective Budding stems of *Dendrobium officinale* were used as the test materials to systematically investigate tissue culture and establish a rapid propagation technique system. **Methods** Disinfectant method of explants, induction, proliferation, differentiation, seedling rooting, and transplanting of protocorm in *D. officinale* were researched with tissue culture. **Results** The best disinfectant method of explants is to disinfect by 75% ethanol for 30 s and then by 0.1% HgCl₂ for 10 min. The best culture medium of budding stems induction was MS + 1.0 mg/L 6-BA + 0.5 mg/L NAA + 2 g/L AC with inductivity of 34.98%. The best culture medium of proliferation was MS + 0.5 mg/L 6-BA + 0.8 mg/L 2, 4-D + 2 g/L AC of which proliferation rate could be up to 89.6%. The best culture medium for protocorm differentiation was MS + 1.2 mg/L 6-BA + 0.2 mg/L IBA + 2 g/L AC with differentiation rate at 89.6%. The best culture medium for seedling rooting was 1/2 MS + 2.5 mg/L NAA + 15% potato juice + 2 g/L AC with rooting rate at 90.4%—92.8%. The best way for seedling transplanting was to adopt substratum of big seedling and bark moss as base with 0.03 mg/L gibberellin and *Epulorhiza* sp. **Conclusion** Rapid propagation technique system is established in order to lay technique foundation for industrial production of *D. officinale*.

Key words: *Dendrobium officinale* Kimura et Migo; rapid propagation; seedling transplanting; proliferation; differentiation

铁皮石斛 *Dendrobium officinale* Kimura et Migo 是我国的名贵中药材, 素有“中华仙草”、“药中黄金”之美称, 是《中国药典》2010年版收载的主要

石斛品种, 具有滋阴清热、生津益胃、润肺止咳、润喉明目、延年益寿之功效。现代研究表明, 铁皮石斛对治疗咽喉疾病、白内障、糖尿病和抑制肿瘤

收稿日期: 2012-01-15

基金项目: 河北省科技攻关计划项目 (052201124)

作者简介: 常美花 (1968—), 女, 河北涿鹿人, 硕士, 副教授, 主要从事花卉学和组织培养的教学与科研工作。

Tel: 18931318563 E-mail: cmhzhk@163.com

生长具有显著疗效。铁皮石斛是生产石斛夜光丸、脉络宁注射液、通塞脉片、清睛粉等数十种中成药及保健品的必要原料,以铁皮石斛加工成的枫斗在国内外享有很高的声誉^[1-2]。过去我国的铁皮石斛药材主要来自野生资源,过度采集使野生资源量急剧下降,濒临灭绝。同时铁皮石斛采用传统的分株繁殖法,繁殖速度比较慢,难以满足日益增长的市场需求,因此通过组织培养技术,对铁皮石斛进行快速繁殖是保护和利用铁皮石斛资源的必要途径。本实验筛选出铁皮石斛最佳外植体消毒方式、最佳培养基配方,最佳瓶苗移栽方式从而建立稳定、高效的铁皮石斛组织培养快繁技术体系,以便定时、定量、定质出苗,满足市场需求。

1 材料与方法

1.1 材料

选取我国云南省普洱市山区野生铁皮石斛 *Dendrobium officinale* Kimura et Migo 种苗,由河北北方学院药物研究所张进顺教授鉴定,在河北北方学院园艺温室进行栽培。选取一年生茎段作为外植体进行组织培养研究。

1.2 方法

1.2.1 外植体的消毒 选取生长旺盛、无病害的铁皮石斛健康植株的一年生茎段,每2节为一段,放入500 mL的烧杯中,用纱布单层棚口,扎紧,冲洗30 min,冲水量调整到能使铁皮石斛茎段在水中漂动为好。

将上述预处理后的材料带到无菌室超净工作台上,并将带茎段的腋芽的苞叶拨去,分别采用3种消毒方式进行消毒灭菌2次,3种消毒方式见表1。

1.2.2 无菌体系的建立 将上述材料剪成每1节为一段,去掉药物浸透的茎段部分,最后将茎段接种到培养基(MS+6-BA 2.5 mg/L)^[3]试管中,每试管接种一个茎段,进行培养。培养条件为温度26℃,光照时间12 h,光照强度2 000 Lx。建立铁皮石斛的无菌体系,待侧芽萌发后,再进行铁皮石斛原球茎诱导、增殖、分化、生根和瓶苗移栽等试验。每天记录铁皮石斛污染率,统计45 d。

污染率=污染的个数/接种的个数

1.2.3 原球茎的诱导 用得到的无菌体系进行培养,待苗长至3~4节茎段时,剪取其带芽茎段,叶片去掉,作为外植体,进行原球茎的诱导培养。

原球茎诱导培养基设计见表2,基本培养基为MS+2%活性炭(AC),激素配方采用6-BA和NAA

的完全随机设计,共8个处理,每个处理5个重复,每个重复5瓶培养基,每瓶接入5个茎段。45 d调查原球茎的诱导率及原球茎数量。

原球茎的诱导率=产生原球茎的茎段数/接种茎段数

1.2.4 原球茎增殖 将诱导形成的原球茎接种在原球茎增殖培养基上。基本培养基为MS+2%活性炭(AC),激素配方采用BA和2,4-D的完全随机设计,处理方法见表3,共9个处理,每个处理5个重复,每个重复5瓶培养基,每瓶接入原球茎5块。然后在无菌条件下进行增殖试验30 d后统计增殖率。

原球茎增殖率^[4]=增殖的原球茎块数/接种原球茎块数

1.2.5 原球茎分化 将增殖的充分成熟的较大原球茎块切割成直径3~8 mm左右的小块,接种在芽分化培养基上。基本培养基为MS+2% AC,激素配方采用6-BA和NAA的完全随机设计,处理方法见表4,共10个处理,每个处理5个重复,每个重复5瓶培养基,每瓶接入原球茎5块,然后在无菌条件下进行分化培养,第45天统计分化率。

幼苗分化率^[4]=分化出幼苗的原球茎块数/接种原球茎块数

1.2.6 幼苗生根 将原球茎分化出的幼苗接种于生根培养基上,基本培养基为1/2 MS+15%土豆汁+2% AC,激素配方采用NAA的完全随机设计,处理方法见表5,共6个处理,每个处理5个重复,每个重复5瓶培养基。然后在无菌条件下进行生根培养,第45天统计幼苗生根率。

幼苗生根率=生根幼苗数/接种幼苗数

1.2.7 瓶苗的移栽 将生根瓶苗在移栽前放在温室大棚中炼苗15~20 d后,洗净组培苗根上培养基,用0.1%灭菌灵消毒,以防栽培后的石斛苗根腐烂^[5]。

1.2.8 考察不同栽培基质对铁皮石斛瓶苗移栽成活率的影响 将组培苗分为大、中、小3类^[6]。选择大苗,基质主要应用不同的材料和不同的组合方法,其次基质中加0.03 mg/L赤霉素(GA),处理方法见表6。12个月后调查不同基质铁皮石斛移栽成活率及高度和长度。

1.2.9 GA和菌根真菌对铁皮石斛移栽成活率的影响 选择大苗,基质中添加GA和菌根真菌,处理方法见表7。12个月后调查不同基质铁皮石斛移栽成活率及高度和长度。

1.2.10 考察瓶苗大小对移栽成活率的影响 选择大、中、小3种瓶苗进行移栽试验,基质为树皮块加苔藓草,基质中添加0.03 mg/L GA和菌根真菌,处理方法见表8。12个月后调查不同基质铁皮石斛

移栽成活率及高度和长度。

1.2.11 培养条件 培养基 pH 值在 5.4~5.8, 琼脂粉 0.6%~0.8%, 并加入 0.2% AC 防止褐变, 培养室温度控制在 (25±1) °C, 相对湿度 40%, 光照 12 h/d, 光照强度为 2 000 Lx。

2 结果与分析

2.1 不同消毒方式对外植体污染率的影响

由表 1 可知, 铁皮石斛带芽茎段经单一消毒剂消毒后, 污染率较高; 而经复合消毒剂处理后污染率显著降低。所以建立铁皮石斛无菌体系较好的消毒方式为 70%乙醇处理 30 s 后再用 0.1% HgCl₂ 处理 10 min。用这种消毒方式处理铁皮石斛带芽茎段可大量获得铁皮石斛的无菌苗。

表 1 不同消毒方式对外植体污染率的影响

Table 1 Effects of different disinfectant methods on pollution rate of explants

处理方式	接种茎段数	污染茎段数	污染率 / %
75%乙醇	100	86	86 aA
75%乙醇+2% NaClO	100	57	57 bB
75%乙醇+0.1% HgCl ₂	100	29	31 cC

小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$), 大写字母表示差异很显著 ($P < 0.01$), 下同

Lowercase letters mean significant difference ($P < 0.05$), uppercase letters mean very significant difference ($P < 0.01$), same as below

2.2 不同激素配方对铁皮石斛原球茎诱导的影响

从结果可以看出 (表 2), 不加激素的 MS 培养基铁皮石斛的原球茎诱导率为 0, 培养基中加入 6-BA

表 2 不同激素配方对铁皮石斛原球茎诱导的影响

Table 2 Effects of different hormone formulas on protocorm induction of *D. officinale*

组别	6-BA / (mg·L ⁻¹)	NAA / (mg·L ⁻¹)	接种茎段数	诱导出原球茎的茎段数	原球茎诱导率 / %	原球茎数量
1 (CK)	0.0	0.0	0	0	0 gF	
2	0.2	0.5	125	20	16.0 fE	+
3	0.4	0.5	125	24	19.6 eD	+
4	0.6	0.5	125	25	20.8 dD	++
5	0.8	0.5	125	32	25.6 cC	+++
6	1.0	0.5	125	44	35.2 aA	++++
7	1.2	0.5	125	34	27.2 bB	+++
8	1.4	0.5	125	32	25.6 cC	+

“++++”-表示形成的原球茎数量最多 “+++”-表示形成的原球茎数量较多 “++”-表示形成的原球茎数量多 “+”-原球茎数量较少

“++++”-protocorm formation with the largest number “+++”-protocorm formation with more number “++”-protocorm formation with reasonable number “+”-protocorm formation with undesirable number

和 NAA 的各处理都有不同数量的原球茎产生, 经方差分析配方 6: MS+1.0 mg/L 6-BA+0.5 mg/L NAA+2 g/L AC 原球茎诱导率显著的高于其他处理, 且诱导率达到 35.2%, 6-BA 的质量浓度在 0.2~1.0 mg/L, 随着质量浓度的提高原球茎的诱导率升高, 6-BA 在 1.0~1.4 mg/L, 随质量浓度的提高原球茎的诱导率逐渐降低。培养基加入 2 g/L AC 可以有效的降低褐变率。

2.3 不同激素配方对铁皮石斛原球茎增殖的影响

从表 3 可以看出, 不加任何激素的 MS 培养基铁皮石斛的原球茎增殖率为 16.8%, 加 6-BA 和 2, 4-D 对铁皮石斛原球茎增殖有显著的促进作用, 经方差分析配方 2: MS+BA 0.5 mg/L+2, 4-D 0.8 mg/L+2 g/L AC 增殖率显著的高于其他处理, 且增殖率达到 89.6%。其次是配方 5: MS+BA 1.0 mg/L+2, 4-D 0.8 mg/L+2 g/L AC 增殖率为 72.0%。

从本实验结果来看, 2, 4-D 和 6-BA 促进铁皮石斛原球茎的增殖效果非常好。试验中还观察到, 在原球茎增殖的继代培养中, 20~25 d 原球茎未充分成熟, 增殖率较高, 且颜色为鲜绿色; 30 d 以后原球茎增殖率有所降低, 颜色转为深绿色; 原球茎切割块的大小以直径 0.5 cm 为适宜, 过小易死亡降低增殖率, 过大增殖率也有所降低。

2.4 不同激素配方对铁皮石斛原球茎分化的影响

从结果可以看出 (表 4), 不加任何激素的 MS 培养基铁皮石斛的原球茎分化率为 0, 加入 6-BA 和 IBA 以后, 各处理均有不同程度的分化, 说明 6-BA 和 IBA 对铁皮石斛原球茎分化有促进作用。在 IBA 质量浓度一定时, 铁皮石斛原球茎的分化率随着 6-BA 质量浓度的升高而升高, 当 6-BA 质量浓度为 1.2 mg/L 时, 其分化率最高为 89.9%, 当 6-BA 质量浓度超过 1.2 mg/L 随质量浓度的升高分化率逐渐降

表 3 不同激素配方对铁皮石斛原球茎增殖的影响

Table 3 Effects of different hormone formulas on protocorm proliferation of *D. officinale*

组别	6-BA / (mg·L ⁻¹)	2, 4-D / (mg·L ⁻¹)	接种块数	增殖块数	增殖率 / %
0	0.0	0.0	125	21	16.8 gF
1	0.5	0.4	125	85	68.0 cC
2	0.5	0.8	125	112	89.6 aA
3	0.5	1.2	125	83	66.5 cA
4	1.0	0.4	125	68	54.4 dD
5	1.0	0.8	125	90	72.0 bB
6	1.0	1.2	125	66	52.8 eD
7	1.5	0.4	125	31	24.8 fE
8	1.5	0.8	125	29	23.6 fE
9	1.5	1.2	125	26	20.8 gfEF

表 4 不同激素配方对铁皮石斛原球茎分化的影响

Table 4 Effects of different hormone formulas on protocorm differentiation of *D. officinale*

组别	6-BA / (mg·L ⁻¹)	IBA / (mg·L ⁻¹)	接种块数	丛芽分化数	丛芽分化率 / %
0	0.0	0.0	125	0	0 eE
1	0.6	0.2	125	98	78.4 dD
2	0.9	0.2	125	101	80.8 cC
3	1.2	0.2	125	112	89.6 aA
4	1.5	0.2	125	109	87.4 bB
5	1.8	0.2	125	97	77.6 dD

低。经方差分析配方 3: MS+6-BA 1.2 mg/L+IBA 0.2 mg/L+2 g/L AC 的分化率显著高于其他处理。从试验中还可以看到分化培养时原球茎切割的块越大分化的越早, 幼苗长得越壮; 同一培养基中培养的时间越长分化率越高。在分化培养的过程中有少部分幼苗已经生根。

2.5 不同激素配方对铁皮石斛丛生苗生根的影响

由表 5 可以看出, 不加任何激素的 1/2 MS 培养基铁皮石斛丛生芽的生根率为 18.4%, 加入 NAA 以后, 各处理丛生芽的生根率均有不同程度提高, 生根时间有不同程度的提前。说明 NAA 对铁皮石斛丛生芽生根有促进作用, 而且 NAA 的质量浓度在一定程度上影响着铁皮石斛组培苗的生根时间、生根率和瓶苗生长情况等。经方差分析配方 4 和 5: 1/2 MS+2~2.5 mg/L NAA+15%土豆汁+2 g/L AC 的生根率显著高于其他处理, 且生根率达到 90.4%~92.8%, 生根时间最早, 接种后第 5~7 d; 根系发达, 苗木生长健壮。加入 15%土豆汁有利于促进生根及幼根的生长^[7], 加入 2 g/L AC 有利于减轻褐化。用茎段外植体繁育的瓶苗在分化期间就有根系出现, 进入生根培养基培养后, 基部的气生根

更发达, 根系数量多达 20~30 条, 且在根系上有白色粉末状, 瓶苗叶片光亮, 茎粗, 节多, 有利移栽。

2.6 铁皮石斛瓶苗移栽成活率

2.6.1 不同基质对铁皮石斛移栽成活率的影响 目前铁皮石斛瓶苗移栽成活率低, 极大地制约着铁皮石斛生产规模的扩大和生产水平的提高。本试验从不同的栽培基质, 不同的添加剂, 不同规格的瓶苗 3 个方面研究了影响铁皮石斛瓶苗移栽成活率的主要因素。

从表 6 中可看出, 在几种不同的基质中, 不论成活率、粗壮程度和茎长, 都是木块与苔藓的组合极显著的高于其他处理。生长良好的依次是: 树皮块与苔藓>树皮块与锯末>树皮块与腐叶土>锯末与河沙>锯末与腐叶土。

2.6.2 基质中添加 GA 和菌根真菌对铁皮石斛移栽成活率的影响 从表 7 可以看出, 0.03 mg/L GA 和菌根真菌对提高铁皮石斛瓶苗移栽的成活率及促进幼苗生长有良好调节作用。与对照相比使用 0.03 mg/L GA, 铁皮石斛瓶苗成活率提高 10.6%~10.8%。与对照相比接种菌根真菌, 铁皮石斛瓶苗成活率提高 11.7%~12.9%。尤其是接菌的铁皮石斛

表 5 不同激素配方对铁皮石斛丛生苗生根的影响

Table 5 Effects of different hormone formulas on seedling rooting of *D. officinale*

组别	NAA / (mg·L ⁻¹)	接种丛芽数	始根时间 / d	生根的丛芽数	生根率 / %	生根瓶苗生长情况
0	0.0	125	15	23	18.4 fF	苗绿, 根少、细小
1	0.5	125	12	85	68.0 eE	根少, 细小, 弱长
2	1.0	125	9	90	72.0 dD	根长, 苗易黄化
3	1.5	125	9	108	86.4 bB	根长, 细小, 伴有黄化
4	2.0	125	5	116	92.8 aA	根系发达, 粗壮, 茎粗、长, 节多
5	2.5	125	7	113	90.4 aA	根系发达, 粗壮, 茎粗、长, 节多
6	3.0	125	10	94	75.2 cC	苗绿, 根多、细小

表 6 不同基质对铁皮石斛瓶苗移栽成活率的影响

Table 6 Effects of different substrata on seedling transplanting survival rate of *D. officinale*

基 质	空气湿度 / %	成活率 / %	茎最长 / cm	茎最粗 / cm
树皮块苔藓	90	92.6 aA	16.8 aA	1.15 aA
树皮块锯末	90	74.3 bB	12.7 bB	0.74 bB
树皮块腐叶土	90	50.2 cC	8.6 cC	0.45 cC
锯沫腐叶土	90	48.5 cC	5.4 eD	0.37 dD
锯沫河沙	90	43.9 dD	6.8 dD	0.38 dD

表 7 基质中加入赤霉素和菌根真菌对铁皮石斛移栽成活率的影响

Table 7 Effects of gibberellin with *Epulorhiza* sp. added in substrata on transplanting survival rate of *D. officinale*

基 质	空气湿度 / %	成活率 / %	茎最长 / cm	茎最粗 / cm
树皮块苔藓	90	81.5 cB	12.8 dCD	0.83 bB
树皮块苔藓+0.03 mg/L GA	90	92.3 bA	16.9 bB	1.25 aA
树皮块苔藓+菌根真菌	90	93.2 aA	18.2 aA	1.34 aA
树皮块锯末	90	64.9 eD	8.9 dD	0.51 dD
树皮块锯末+0.03 mg/L GA	90	75.5 deC	12.7 eE	0.72 cC
树皮块锯末+菌根真菌	90	77.8 dBC	13.4 cC	0.81 bB

苗生长势旺盛, 苗色浓绿, 茎粗壮呈红紫色, 产生新根多, 根系发达。

2.6.3 试管苗大小对铁皮石斛成活率的影响 从表 8 可以看出, 瓶苗的大小与移栽成活率、茎长、茎粗关系极为明显。大苗的移栽成活率最高, 达 97.6%, 茎长达 23.5 cm, 茎粗达 1.52 cm, 极显著高于中苗和小苗。因此提高铁皮石斛瓶苗移栽成活率培养壮苗是关键技术之一。综上所述, 铁皮石斛瓶苗移栽最佳方式为: 大苗、树皮块苔藓草做基质、

基质中添加 0.03 mg/L GA, 并接种适量菌根真菌。

3 讨论

目前对于铁皮石斛组织培养快繁技术的研究很多, 但是真正能够用于商品化生产的技术很少, 因此目前铁皮石斛人工生产量很少, 远远不能满足市场的需要。其原因主要是在于铁皮石斛组织培养过程中存在着许多的问题。

第一, 若用种子做外植体进行组培繁育, 无法预计培育的后代性状是否优良。而以铁皮石斛茎段

表 8 试管苗的大小对成活率的影响

Table 8 Effects of tube seedling size on survival rate of *D. officinale*

苗型	空气湿度 / %	成活率 / %	茎最长 / cm	茎最粗 / cm
大苗	90	97.6 aA	23.5 aA	1.52 aA
中苗	90	82.5 bB	17.6 bB	0.74 bB
小苗	90	58.7 cC	8.9 cC	0.39 cC

作为外植体,可以防止新一代幼苗发生变异能使幼株有效地保持母株的优良性状^[8],且诱导出的原球茎繁殖系数极高,2个月内的增殖倍数达到20~30,原球茎较粗壮。

第二,李进进等^[9]研究发现,铁皮石斛特殊的基因型及固有的生理特性导致试管苗在培养过程中易衰老退化,原球茎增殖4代以后或者茎段丛芽增殖6代以后会逐渐衰老并影响生根率和移栽成活率。在本试验过程中也发现类似的现象。所以以茎段诱导的原球茎增殖继代培养不能超过5代,否则生根率和移栽成活率都会降低。此外,在原球茎增殖的继代培养中,20~25 d产生的原球茎未充分成熟,增殖率较高;30 d以后产生的原球茎增殖率会有所降低,因此20~25 d继代1次较为合适;原球茎切割块的大小以直径0.5 cm为适宜,过小易死亡降低增殖率,过大增殖率也有所降低。所以在铁皮石斛组织培养过程中不光是培养基配方影响试验的成败,一些操作细节也会影响试验结果。

第三,李宏博等^[1]认为,铁皮石斛快繁过程中,转接培养次数多(至少3次),周期长,消耗了大量人力和原材料。因此,在生产上,应在保证苗的质量的前提下,从各个方面降低成本。本试验过程中发现在分化培养的过程中有少部分幼苗已经生根。若调节培养基配方使得分化和生根同步进行,将四步培养成苗变为三步成苗,即缩短了培养时间又降低了成本。

第四,瓶苗移栽成活率低是限制铁皮石斛规模化栽培的关键问题。要想解决这个问题,必须从以下几个方面入手:优化各个环节的培养条件,获得健壮的瓶苗,尤其瓶苗根系要发达(3~5条5 cm以上的根系)。出瓶前炼苗(15~20 d)不可忽视。选择合适的栽培基质,并添加适当的菌根真菌^[10]和GA,本试验中发现同时添加菌根真菌和GA能显著的提高瓶苗移栽成活率。栽培环境的空气湿度也是影响移栽成活率的关键因素之一,本试验中发现栽培环境的空气相对湿度为90%以上,有利于提高瓶苗的成活率,这可能是和铁皮石斛原产在高湿的环境有关。

本研究只在铁皮石斛繁殖方面做了分析,还有待于进行组培苗成年个体的性状差异跟踪调查,组培成品苗有效成分含量、提取及分析等方面进行全

面的、更详细的研究。

从本试验结果可以看出,在铁皮石斛组培快繁过程中:铁皮石斛外植体最佳的消毒方式为75%乙醇消毒30 s,0.1% HgCl₂,消毒10 min;铁皮石斛带芽茎段原球茎诱导的最佳培养基为MS+1.0 mg/L 6-BA+0.5 mg/L NAA+2 g/L AC且诱导率达到34.98%;原球茎增殖的最佳培养基为MS+0.5 mg/L 6-BA+0.8 mg/L 2,4-D+2 g/L AC,且增殖率达到89.6%;原球茎分化的最佳培养基为MS+1.2 mg/L 6-BA+0.2 mg/L IBA+2 g/L AC;且分化率达到89.6%;幼苗生根的最佳培养基配方:1/2 MS+2~2.5 mg/L NAA+15%土豆汁+2 g/L AC,且生根率达到90.4%~92.8%;瓶苗移栽最佳方式为:大苗、树皮块苔藓草做基质、基质中添加0.03 mg/L GA,并接种菌根真菌。

参考文献

- [1] 李宏博,张宏宇,朴钟云.铁皮石斛组织培养技术研究[A].中国植物学会.第九届全国药用植物及植物药学术研讨会论文集[C].北京:中国科学技术出版社,2010.
- [2] 王福喜.铁皮石斛的组织培养研究[J].阴山学刊,2011,25(1):31-34.
- [3] 袁正仿,张为明,丁小余,等.铁皮石斛的组织培养研究[J].中国医学生物技术应用杂志,2002,58(3):58-60.
- [4] 黄君红,黄小彬,郭志.激素对大花蕙兰原球茎增殖及幼苗分化的影响[J].湛江师范学院学报,2007,28(3):87-90.
- [5] 赵天榜,陈志秀,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.
- [6] 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,2003,34(2):177-179.
- [7] 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):83-97.
- [8] 张启香,方炎明.铁皮石斛组织培养及试管苗营养器官和原球茎的结构观察[J].西北植物学报,2005,25(9):1761-1765.
- [9] 李进进,廖俊杰,许继勇,等. AgNO₃ 在铁皮石斛组织培养中抗衰老作用[J].中草药,2007,38(6):914-917.
- [10] 金辉,许忠祥,陈金花,等.铁皮石斛组培苗与菌根真菌共培养过程中的相互作用[J].植物生态学报,2009,33(3):433-441.