

金钗石斛试管苗生根研究*

Study on Radication of the Test-Tube Seedling of *Dendrobium nobile*

黎建玲, 黄肇宇, 詹源庆, 蒋波

LI Jian-ling, HUANG Zhao-yu, ZHAN Yuan-qing, JIANG Bo

(玉林师范学院化学与生物系, 广西玉林 537000)

(Department of Chemistry and Biology, Yulin Normal University, Yulin, Guangxi, 537000, China)

摘要:在基本培养基 MS 上分别添加不同浓度和配比的 α -萘乙酸(NAA)和 6-苄氨基嘌呤(6-BA)、吲哚丁酸(IBA)和 6-BA, 不同浓度的多效唑(PP₃₃₃);在 MS+6-BA 0.2mg·L⁻¹+NAA 1.0mg·L⁻¹+活性炭 0.1% 培养基上分别添加 10% 的香蕉汁、马铃薯汁、椰子汁、番茄汁和胡萝卜汁 5 种天然成分对金钗石斛 (*Dendrobium nobile*) 试管苗进行生根研究。结果表明: NAA 和 IBA 分别与 6-BA 配合使用均能抑制试管苗根的分化及生长, 但单独使用对促进试管苗根的分化及生长有显著的效果, NAA 的浓度为 0.5~1.0 mg·L⁻¹ 时, 试管苗生根效果较佳, 当 IBA 浓度为 0.2mg·L⁻¹ 时, 试管苗生根率达 100%, 且根数多而粗壮, NAA 和 IBA 均可单独作为促进金钗石斛试管苗生根培养的理想植物激素; PP₃₃₃ 2~4 mg·L⁻¹ 可促进再生植株根的形成, 但抑制根的伸长生长, 建议与其他激素配合使用; 5 种天然成分均对试管苗根的分化、长度和粗壮度有明显的促进作用, 其中附加 10% 香蕉汁对试管苗的生根效果最好。

关键词: 金钗石斛 试管苗 生根

中图分类号: Q945.5 文献标识码: A 文章编号: 1002-7378(2006)02-0087-03

Abstract: We had researched the radication of the test-tube seedling of *Dendrobium nobile* through adding different concentration and proportion of combination of NAA and 6-BA, IBA and 6-BA, as well different concentration of PP₃₃₃ into the basic culture medium of MS and through adding 10% banana juice, potato juice, coconut juice, tomato juice and carrot juice respectively into the culture medium of MS+6-BA 0.2 mg·L⁻¹+NAA 1.0 mg·L⁻¹+active carbon 0.1 percent. Results; the mixture of 6-BA had mixed with NAA and IBA respectively could restrain the differentiation and growth of the test-tube seedling's root, but by using NAA and IBA singly, they had took remarkable effect on accelerating the differentiation and growth of the test-tube seedling's root. When the concentration of NAA had reached 0.5~1.0 mg·L⁻¹ it was an advantage for test-tube seedling radication. When the concentration of IBA was 0.2 mg·L⁻¹, the rate of radication of the test-tube seedling was 100 percent, and the amount of the roots was very much and the roots of the test-tube seedling were stronger. In addition, NAA and IBA both were fine hormone for accelerating the radication of the test-tube seedling. PP₃₃₃ 2~4 mg·L⁻¹ promoted the development of regenerated plant root, but the root length growing was restrained, we proposed that it should associate with the other hormone; Five kinds of natural composition could remarkably accelerate the differentiation, the length and the strong of the test-tube seedling's root; adding in 10% banana juice had the best effect than others.

Key words: *Dendrobium nobile*, test-tube seedling, radication

金钗石斛 (*Dendrobium nobile*) 为兰科石斛属多年生附生草本植物, 是我国传统的名贵中药, 具有较高的药用价值, 加上其花姿优美, 花色艳丽, 又具有较高的观赏价值, 市场需求量大, 但金钗石斛对生境要求非常特殊, 常附生于温暖湿润的树林中的树干

收稿日期: 2005-11-14

修回日期: 2006-04-29

作者简介: 黎建玲(1969-), 女, 广西桂平人, 实验师, 理学学士, 在职硕士研究生, 主要从事植物生理、生态等方面的研究。

* 广西教育厅科研经费资助项目[2003(22号)]。

上或岩石上,本身生长十分缓慢,野生资源供不应求^[1,2]。近年来,我国科技工作者尝试利用植物组织培养的方法对石斛属植物进行研究,并成功培育出试管苗,但在试管苗移栽大田的过程中遇到了困难——试管苗不能适应外界环境而出现大量死亡的现象^[3]。影响试管苗移栽成活的因素很多,其中,使试管苗具有生长良好的根系是保证移栽成活的一个非常重要的因素。那么,如何使试管苗生长分化出粗壮、数量多、发达的根系是解决移栽成活问题的关键环节。本实验通过在 MS 培养基上添加不同浓度和配比的 α -萘乙酸(NAA)、6-苄氨基嘌呤(6-BA)、吲哚丁酸(IBA)和多效唑(PP₃₃₃)植物激素及香蕉汁、马铃薯汁、椰子汁、番茄汁和胡萝卜汁 5 种天然成分对金钗石斛试管苗生根的影响进行了研究,以期为金钗石斛试管苗移栽提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 试验材料及制备

无菌试管苗的来源:用金钗石斛老茎为外植体,接种于 MS+6-BA 4.0 mg · L⁻¹+NAA 2.0 mg · L⁻¹+椰乳 100 ml · L⁻¹的培养基上诱导出的无菌苗^[4]。

激素:6-BA 由上海丽珠东风生物技术有限公司提供,纯度 ≥ 98%;IBA 由广东台山化工厂提供,纯度 ≥ 98%;NAA 由国药集团化学试剂有限公司提供,纯度 ≥ 98%。

附加物的制取:分别取 100g 新鲜的香蕉、马铃薯、番茄、胡萝卜(香蕉、马铃薯已去皮)切成小块后用捣碎机以 3000 r/min 的速度将其捣碎,制成 1g/ml 的提取物,将 1g/ml 提取物冷冻(4℃)离心(4000r/min)20min,分别取上清液。

1.2 试验方法

选取相同条件下生长而且苗的形态大小相近的无菌试管苗植株,去除基部老化组织及生长的小根,接种到附加不同种类和配比的植物激素及某些天然成分的 MS 培养基上进行生根培养,其中植物激素研究使用基本培养基 MS;附加天然成分使用 10%的香蕉汁、马铃薯汁、椰子汁、番茄汁和胡萝卜汁,培养基成分为 MS+6-BA 0.2 mg · L⁻¹+NAA 1.0 mg · L⁻¹+活性炭 0.1%。培养基 pH 值均调至 5.8,培养温度为(26±1)℃,光照强度 1200 lx,每天连续光照 12h。本文所有实验均重复 3 次,每次每种培养基接种 10 瓶,每瓶接种 6 株试管苗,定期观察、记录试管苗根的生长分化情况,60 天后,每种处理分别随机取出 5 瓶进行统计记录生根率、生根数、根

长和根粗壮程度,数据取平均值。

2 结果与分析

2.1 植物激素对试管苗生根的影响

2.1.1 NAA 与 6-BA 对试管苗生根的影响

从表 1 可以发现,生长素 NAA 能促进金钗石斛试管苗根的分化,并且生根率与 NAA 的浓度

表 1 NAA 与 6-BA 对试管苗生根的影响

激素浓度(mg · L ⁻¹)		生根率 (%)	平均每株生根数(条)	平均根长(cm)	粗壮程度
NAA	6-BA				
0.2	0	95.8	6.5	2.1	粗壮
0.5	0	100	7	3.4	粗壮
1.0	0	100	6.9	4.5	粗壮
0.2	2.0	52.5	2.1	2.9	细小
0.5	0.1	57.5	3.4	2.6	细小
1.0	0.2	100	5.1	1.2	一般

成正比关系,当 NAA 的浓度为 0.5 mg · L⁻¹和 1.0 mg · L⁻¹时,金钗石斛试管苗根的分化率均为 100%,试管苗根生长粗壮,生根数量较多,根的长度较长,说明 NAA 0.5~1.0 mg · L⁻¹有利于金钗石斛试管苗根的生长和分化。NAA 和 6-BA 配合使用时,6-BA 能抵消 NAA 促进试管苗生根的作用,并随着 6-BA 使用浓度的升高,其抑制作用就越强。值得一提的是在培养基中单独添加外源激素 NAA 时,有些试管苗在培养过程中由于某些物理因素导致小苗的根尖部位的组织出现坏死,但经过一段时间的培养后,却能够从根尖的坏死部位附近重新分化出根尖的组织结构来,说明 NAA 对诱导金钗石斛试管苗根的分化有较强的作用。

2.1.2 IBA 与 6-BA 对试管苗生根的影响

表 2 结果表明,IBA 能促进金钗石斛试管苗根的分化,其促进生根的效果与 NAA 大致相似,并且与 6-BA 配合使用时,6-BA 同样抑制试管苗根的分化及生长。在低浓度时,相同用量(0.2 mg · L⁻¹) IBA 对金钗石斛在根的分化率上稍微优于 NAA,但在平均根数、平均根长、根粗壮程度方面没有太大的差异,说明 IBA 和 NAA 均可作为金钗石斛试管苗生根培养的理想植物激素。

表 2 IBA 与 6-BA 对试管苗生根的影响

激素浓度(mg · L ⁻¹)		生根率 (%)	平均每株生根数(条)	平均根长(cm)	粗壮程度
NAA	6-BA				
0.2	0	100	6.6	2.3	粗壮
0.2	0.1	30	1.2	2.5	一般
0.5	0.1	97.5	3.8	0.6	一般

2.1.3 PP₃₃₃对试管苗生根的影响

在含有不同浓度 PP₃₃₃的 MS 培养基中,经过 7~8d 的培养后,金钗石斛试管苗出现再生芽的分

化,离培养基表面较近的节上先出现再生芽的分化,继续培养 10~15d,再生芽高度达 0.5~1cm 后,即出现根的分化,而未加 PP₃₃₃ 的培养基的试管苗在培养基下的节上有再生芽的分化与生根的现象,其原因可能是使用 PP₃₃₃ 导致植株体内内源激素的配比和分布发生变化有关。表 3 表明:2~4 mg·L⁻¹ PP₃₃₃ 可促进再生植株根的形成,生根率、平均每株生根数、根粗壮程度增加明显,但根的生长受抑制伸长。随着 PP₃₃₃ 处理浓度的增加,再生芽的生根率和根的粗壮度也随之提高,当 PP₃₃₃ 的浓度达 3mg·L⁻¹ 时生根率最高,为 91.3%,但再生植株的根明显粗短,生长速度缓慢,以上现象与陈龙清等^[5] 研究 PP₃₃₃ 对地被菊试管苗生根影响的结果相类似;当 PP₃₃₃ 的浓度增加到 5mg·L⁻¹ 时,再生苗的生根率、生根的数量、根长和根的粗壮度均与未使用 PP₃₃₃ 处理的结果没有明显的差异。另外在实验中发现,使用 PP₃₃₃ 处理后出现生根的植株绝大部分为试管苗的再生植株,而原来接种的试管苗母本极少或未出现根的分化,其原因可能是使用 PP₃₃₃ 后导致试管苗植株体内的内源激素 IAA、GA₃ 和 ZT 含量下降,乙烯释放量增加,ABA 含量在 PP₃₃₃ 浓度低时上升,当 PP₃₃₃ 浓度过高时下降^[6,7],并且 ABA 向下运输而在植株基部积累,从而抑制不定根的形成。

表 3 不同浓度的 PP₃₃₃ 对再生植株生根的影响

PP ₃₃₃ 浓度 (mg·L ⁻¹)	生根率 (%)	平均每株生 根数(条)	平均根长 (cm)	粗壮程度
0	83.3	3.6	1.2	细小
1	86.7	4.7	1.5	粗壮
2	89.2	10.1	0.7	十分粗壮
3	91.3	9.3	0.3	较粗壮
4	90.0	7.8	0.8	粗壮
5	85.7	3.4	1.0	细小

2.2 不同天然成分对试管苗生根的影响

表 4 表明:5 种天然成分对金钗石斛试管苗的生根均有促进作用,生根率达 100%,尤其是在根的长度和粗壮度方面有促进作用,其中以添加有香蕉汁的培养基的生根效果最好,生长出的根的数量多且十分粗壮。从平均每株生根数来看,添加香蕉汁的生根数量最多,添加马铃薯汁的生根数量最少,而添加椰子汁、番茄汁、胡萝卜汁的生根数量与对照并无

表 4 不同天然成分对试管苗生根的影响

附加天 然成分	生根率 (%)	平均每株生 根数(条)	平均根长 (cm)	粗壮程度
无	100	4.6	0.4	一般
香蕉汁	100	8.3	2.3	十分粗壮
马铃薯汁	100	3.8	2.1	粗壮
椰子汁	100	4.3	1.2	粗壮
番茄汁	100	4.2	2.1	粗壮
胡萝卜汁	100	4.5	3.6	粗壮

明显差异;从平均根长和根的粗壮程度来看,5 种天然成分均明显优于对照,其中添加胡萝卜汁的根最长,添加香蕉汁的根最粗,添加椰子汁的根最小,其余添加成分的平均根长和根的粗壮程度差异不大。

3 小结与讨论

本次试验结果表明:6-BA 分别与 NAA 和 IBA 配合使用均能抑制试管苗根的分化及生长,但单独使用 NAA 和 IBA 对促进试管苗根的生长及分化有显著的效果,并且两者的生根效果相差不大,当 NAA 的浓度为 0.5~1.0 mg·L⁻¹ 时,试管苗生根效果较佳;当 IBA 浓度为 0.2mg·L⁻¹ 时,试管苗生根率达 100%,且根数多而粗壮,比高培元等^[8] 用 MS+IBA0.3mg·L⁻¹+NAA0.1mg·L⁻¹ 培养基进行生根培养的效果好。据对金钗石斛生根研究的相关资料发现多使用 NAA,使用 IBA 进行生根培养的研究少见报道,而使用 IBA 进行生根培养的最佳浓度有待做更深一步的研究。PP₃₃₃ 2~4 mg·L⁻¹ 可促进金钗石斛再生植株根的形成,但抑制根的伸长生长,高浓度的 PP₃₃₃ 是对再生植株根的形成有抑制作用,建议与其他激素配合使用,其生根效果可能会更好;PP₃₃₃ 可促进再生植株根的形成作用机理有待进一步研究。香蕉汁、马铃薯、椰子汁、番茄汁、胡萝卜汁与 6-BA、NAA 和活性炭配合使用均对金钗石斛试管苗的生根有促进作用,生根率达 100%,尤其是对试管苗根的长度和粗壮度有明显的促进作用,其中添加有香蕉汁的培养基生根效果最好,是金钗石斛试管苗生根培养较理想的添加物。

参考文献:

- [1] 王琳,叶庆生,刘伟.金钗石斛研究概况(综述)[J].亚热带植物科学,2004,33(2):73-76.
- [2] 管志斌,李再林,里二.珍稀名贵中药——金钗石斛[J].中国野生植物资源,2002,21(4):36-37.
- [3] 卢炯林.“神药”金钗[J].人与生物圈,2002,3:20-22.
- [4] 黄肇宇,蒋波,杨存亮,等.金钗石斛老茎诱导无菌苗的初步研究[J].玉林师范学院学报:自然科学,2004,25(5):76-79.
- [5] 陈龙清,张雨琴,袁芳亭,等.PP₃₃₃及矮壮素对地被菊试管苗生根的影响(简报)[J].植物生理学通讯,2000,36(5):425-427.
- [6] 郭延平,李嘉瑞.多效唑诱导猕猴桃离体试管苗生长及内源激素的影响[J].园艺学报,1994,21(1):26-30.
- [7] 郭延平,李嘉瑞.多效唑诱导猕猴桃试管苗生根的作用机理初探[J].园艺学报,1995,22(2):189-190.
- [8] 高培元,陈健妙,甘铨.金钗石斛的茎段组织培养与植株再生[J].中草药,2002,33(11):1031-1033.