

NAA 和 KT 对铁皮石斛原球茎增殖与分化的影响

尹明华, 聂凤琴, 胡文韬, 邓小艳, 熊文娟

(上饶师范学院 生命科学学院, 江西 上饶 334001)

摘要:为探讨铁皮石斛原球茎再生的理想培养基,以铁皮石斛原球茎为试材,研究了 NAA 和 KT 对铁皮石斛原球茎增殖与分化的影响。结果表明:铁皮石斛原球茎增殖较理想的培养基为 MS+KT 1.0 mg·L⁻¹+NAA 0.5 mg·L⁻¹。铁皮石斛原球茎分化较理想的培养基为 MS+KT 1.0 mg·L⁻¹+NAA 0.1 mg·L⁻¹。

关键词:铁皮石斛;原球茎;KT;NAA;增殖;分化

中图分类号:S567.239

文献标识码:A

文章编号:1002-2767(2011)08-0025-02

铁皮石斛(*Dendrobium candidum*)为兰科石斛属多年生常绿草本植物,是一种名贵药材^[1]。铁皮石斛的药用部分是新鲜或干燥茎,具有益胃生津、滋阴清热的功效^[2]。目前,有关铁皮石斛原球茎的研究主要集中于无机盐浓度、碳源以及有机附加物等对其增殖和分化的影响,而关于细胞分裂素和生长素不同浓度配比对其增殖和分化影响的研究较少。现以铁皮石斛原球茎为研究材料,进一步研究 NAA 和 KT 对其增殖和分化的影响,以期能为铁皮石斛原球茎的再生提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为铁皮石斛原球茎(由上饶师范学院植物组织培养室提供)、生长促进剂 NAA 和 KT。

1.2 方法

铁皮石斛原球茎增殖与分化培养基为:①MS;②MS+KT 1.0 mg·L⁻¹+NAA 0.1 mg·L⁻¹;③MS+KT 2.0 mg·L⁻¹+NAA 0.1 mg·L⁻¹;④MS+KT 1.0 mg·L⁻¹+NAA 0.5 mg·L⁻¹;⑤MS+KT 2 mg·L⁻¹+NAA 0.5 mg·L⁻¹。培养基高压灭菌(121℃,0.1 MPa,20 min)后可放入培养室放置3 d,没有细菌和真菌污染,则可对铁皮石斛原球茎进行接种。每个三角瓶中分别接种4个生长良好的0.5 cm×0.5 cm 原球茎块,培养条件为:温度(25±1)℃,光照 14 h·d⁻¹,光照强度1 000~2 000 lx,湿度 70%~80%。3次重复。

每天观察一次,记录原球茎分化的芽数、芽长、颜色,并比较不同培养基上铁皮石斛原球茎的大小。

2 结果与分析

2.1 NAA 和 KT 对铁皮石斛原球茎增殖的影响

由表1和图1可知:原球茎在5种培养基上均能增殖,但添加了NAA和KT均能促进原球茎增殖;当NAA浓度为0.1 mg·L⁻¹时,添加1.0 mg·L⁻¹KT的效果比2.0 mg·L⁻¹KT的效果好,且原球茎的质量更好,色泽嫩绿;当KT浓度为1.0 mg·L⁻¹时,添加0.5 mg·L⁻¹NAA的效果比0.1 mg·L⁻¹NAA的效果好。因此,铁皮石斛原球茎较为理想的增殖培养基为MS+KT 1.0 mg·L⁻¹+NAA 0.5 mg·L⁻¹。

表1 NAA 和 KT 对石斛原球茎增殖的影响(65 d)

培养基序号	增殖程度	原球茎生长状况
①(CK)	+	簇生、松散、黄绿、无根、原先接种的原球茎后期变黑
②	++++	簇生、较为致密、浅绿、无根、原先接种的原球茎后期变黑
③	++	簇生、很松散、黄绿、无根、原先接种的原球茎后期变黑
④	+++++	簇生、较为致密、绿、无根、原先接种的原球茎后期变黑
⑤	+++	簇生、较为松散、黄绿、无根、原先接种的原球茎后期变黑

注: + 的多少表示增殖的多少。

2.2 NAA 和 KT 对铁皮石斛原球茎分化的影响

由表2和图2可知,MS培养基无论添加或不添加激素,铁皮石斛原球茎均可分化,但对照组分化程度最低,添加NAA和KT均能促进原球茎分化。当NAA浓度为0.1 mg·L⁻¹时,添加1.0 mg·L⁻¹KT比2.0 mg·L⁻¹KT有利于分化;当KT浓度为1.0 mg·L⁻¹时,添加0.1 mg·L⁻¹

收稿日期:2011-04-10

基金项目:2009年江西省高校省级教改立项资助项目(JXJG-09-16-10)

第一作者简介:尹明华(1973-),女,江西省吉安市人,硕士,讲师,从事生物技术研究。E-mail:yinminghua04@163.com。

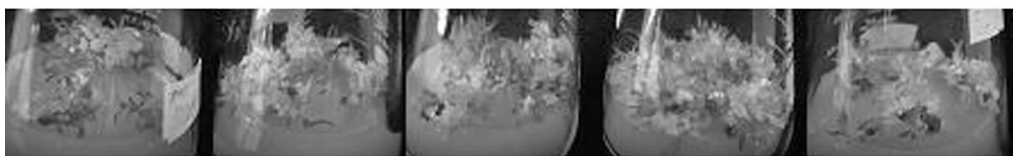


图 1 NAA 和 KT 对石斛原球茎增殖的影响(65 d)(从左到右为①→⑤培养基)



图 2 NAA 和 KT 对石斛原球茎增殖的影响(65 d)(从左到右为①→⑤培养基)

NAA 比 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA 有利于分化;由此得出,铁皮石斛原球茎较理想的分化培养基为 MS+KT $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +NAA $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

表 2 NAA 和 KT 对石斛原球茎分化的影响(65 d)

培养基序号	平均芽数/个	平均芽长/cm
①(CK)	22	1.2
②	33	2.0
③	28	1.7
④	31	1.8
⑤	25	1.5

3 结论与讨论

在组织培养中,外植体愈伤组织的形成及分化与外源激素的作用密不可分,其中适当浓度配比的生长素和细胞分裂素最为重要^[3]。实验表明,KT 和 NAA 配合使用可以对内源激素产生影响,使愈伤组织中的 IAA 含量发生变化,有利于细胞分裂^[4]。该试验结果表明,当培养基中不含激素时,原球茎均可增殖与分化;添加一定浓度的 NAA 和 KT 后,增殖程度、分化芽数增大;但随着 NAA 浓度的增大,点有利增殖但不利于分化;随

着 KT 浓度增大,既不利增殖也不利分化。同时,该试验还发现,随着培养时间的延长,培养基逐渐消耗,原球茎得不到充足的养分,生长趋势下降,逐渐出现变黑现象,甚至死亡。在该培养条件下,铁皮石斛原球茎增殖较为理想的培养基为 MS+KT $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +NAA $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$;铁皮石斛原球茎分化较为理想的培养基为 MS+KT $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +NAA $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。并建议铁皮石斛原球茎在增殖培养至 45 d 时及时转瓶以保证其继续生长。

参考文献:

- [1] 张红梅,刘建东,王岩花,等.铁皮石斛茎段快繁技术研究[J].山西农业大学学报(自然科学版),2010,30(6):495-499.
- [2] 鲍腾飞,徐步青,王芬,等.铁皮石斛类原球茎液体悬浮培养增殖体系构建[J].东北林业大学学报,2010,38(12):49-50,53.
- [3] 王忠敏,付淑琴,张莉华,等.迎春花无菌体系的建立以及茎段和叶片愈伤组织的诱导[J].上饶师范学院学报,2008,28(3):61-66.
- [4] 张启香,方炎明,张晓平.蝴蝶兰的组织培养和快速繁殖与幼苗分化的影响[J].湛江师范学院学报,2007,28(3):87-90.

Effects of KT and NAA on the Proliferation and Differentiation of *Dendrobium candidum* Protocorm

YIN Ming-hua, NIE Feng-qin, HU Wen-tao, DENG Xiao-yan, XIONG Wen-juan

(Life Science College of Shangrao Normal University, Shangrao, Jiangxi 334001)

Abstract: The effects of KT and NAA on the proliferation and differentiation of *Dendrobium candidum* protocorm were studied to provide theoretical basis for the regeneration of *Dendrobium candidum* protocorm. The results showed that the relatively ideal proliferation culture medium of *Dendrobium candidum* protocorm was MS+KT $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +NAA $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$. The relatively ideal differentiation culture medium of *Dendrobium candidum* protocorm was MS+KT $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +NAA $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$.

Key words: *Dendrobium candidum*; protocorm; KT; NAA; proliferation; differentiation