

金线莲腋芽增殖培养条件的优化

郝丽丽, 乙引*, 申刚, 张习敏

(贵州师范大学 生命科学学院, 贵州 贵阳 550001)

[摘要] 为筛选出金线莲腋芽增殖的最适培养基, 以 MS 为基本培养基, 利用正交试验设计探讨 6-苄氨基嘌呤(6-BA)、萘乙酸(NAA)、玉米素(ZT)和激动素(KT)对金线莲腋芽增殖的影响。结果表明, 金线莲腋芽增殖的最适培养基为 MS+3.5 mg/L 6-BA+0.2 mg/L NAA+0.6 mg/L ZT+0.5 mg/L KT, 外加 30 g/L 蔗糖、8 g/L 琼脂(pH 6.0), 培养 35 d 后腋芽增殖 6.7 倍。经方差分析表明, 植物生长调节剂 ZT 对金线莲腋芽的分化和增殖具有显著的促进作用, 当 ZT 浓度为 0.6 mg/L 时, 腋芽生长正常, 叶绿, 健壮。

[关键词] 金线莲; 腋芽; 增殖培养

[中图分类号] S567.2

[文献标识码] A

Optimization of Proliferation Culture Condition of *Anoectochilus roxburghii* Axillary Buds

HAO Li-li, YI Yin*, SHEN Gang, ZHANG Xi-min

(College of Life Sciences, Guizhou Normal University, Guiyang, Guizhou 550001, China)

Abstract: The orthogonal experiment design was used to study the effect of 6-BA, NAA, ZT and KT on proliferation of axillary buds of *Anoectochilus roxburghii* for screening the optimum medium. The results showed that the optimum medium for proliferation of its axillary buds was MS + 3.5 mg/L 6-BA + 0.2 mg/L NAA + 0.6 mg/L ZT + 0.5 mg/L KT + 30 g/L sucrose + 8 g/L agar (pH 6.0) and the proliferation time of axillary buds could be up to 6.7 after 35 d culture. The results of variance analysis showed that ZT was of significant promotion effect on differentiation and proliferation of *Anoectochilus roxburghii* axillary buds. The axillary buds could grow normally and strong with green leaves when ZT concentration was 0.6 mg/L.

Key words: *Anoectochilus roxburghii*; axillary bud; proliferation culture

金线莲 [*Anoectochilus roxburghii* (Wall.) Lindl.] 为兰科开唇兰属多年生草本, 具有显著的清热解毒、凉血平肝、固肾等功效, 是极其珍稀的中药材。金线莲喜阴凉、潮湿, 尤喜生长于有常绿阔叶树木的沟边、石壁、土质松散的潮湿地带^[1]。金线莲为典型的阴性药用植物, 因其种子小、种胚发育不全^[2], 发芽率很低, 对生长条件要求严格, 加上人为采挖, 金线莲在自然状态下难以大量繁殖, 野生资源濒危, 利用组织培养进行繁殖可以保存种源及适用于商品化生产^[3]。为此, 采用植物组织培养技术, 以金线莲茎尖外植体诱导的腋芽为试材, 以 MS 作为基本培养基, 通过添加不同浓度和种类的植物生长调节剂, 研究对金线莲腋芽增殖的影响, 旨在筛选出金线莲腋芽增殖的最适培养基, 为金线莲的产业化扩繁提供有效途径与技术保障。

1 材料与方法

1.1 试验材料

金线莲: 以 12 月中旬刚萌发的茎尖为外植体, 以外植体诱导的腋芽作为中间繁殖体。增殖培养

基: 以 MS 为基本培养基, 分别添加不同浓度的 6-苄氨基嘌呤(6-BA)、萘乙酸(NAA)、玉米素(ZT)、激动素(KT), 外加 30 g/L 蔗糖、8 g/L 琼脂(pH 6.0)

1.2 试验方法

采用 4 因素 3 水平 $L_9(3^4)$ 正交设计方案进行试验(表 1)。每瓶接种 1 个外植体, 每处理重复 3 次。接种 7 d 后观察腋芽苗的生长情况, 35 d 后统计增殖倍数。培养温度 $(26 \pm 2)^\circ\text{C}$, 光照时间为 12 h/d, 光照强度 1500~2000 lx。记录数据采用 SPSS 16.0 进行统计分析。

表 1 金线莲腋芽增殖 $L_9(3^4)$ 正交试验设计

Table 1 The orthogonal experimental design for proliferation of axillary buds of *A. roxburghii* mg/L

水平 Level	试验因子 Factor			
	A(6-BA)	B(NAA)	C(ZT)	D(KT)
1	3.0	0.1	0.2	0.5
2	3.5	0.2	0.4	1.0
3	4.0	0.3	0.6	1.5

2 结果与分析

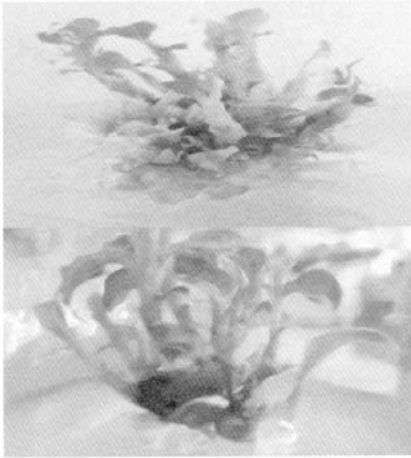
金线莲腋芽接种 10~12 d 后, 基部腋芽开始突

[收稿日期] 2010-02-25; 2010-06-21 修回

[基金项目] 贵州省科技创新人才团队项目“贵州省特色植物资源保护与可持续利用科技创新人才团队”[黔科合人才团队(2009)4007]

[作者简介] 郝丽丽(1986-), 女, 在读硕士, 研究方向: 环境以及植物生理生态。

* 通讯作者: 乙引(1967-), 男, 博士, 教授, 从事生物化学及植物生理生态研究。E-mail: yiyin@gznu.edu.cn



图示 培养 35 d 后的腋芽

Fig. Diagrammatic presentation of axillary buds after 35 d culture

表 2 35 d 后金线莲腋芽正交试验结果

Table 2 The orthogonal result of proliferation of axillary buds of *A. roxburghii*

试验号 Treatment	试验因子 Factor				接种芽数/个 No. of Inoculated buds	增值芽数/个 No. of proliferated buds	增值倍数 Proliferation time	生长状况 Growth status
	A(6-BA)	B(NAA)	C(ZT)	D(KT)				
1	3.0	0.1	0.2	0.5	20	66	4.3	+
2	3.0	0.2	0.4	1.0	20	72	4.6	++
3	3.0	0.3	0.6	1.5	20	88	5.4	+
4	3.5	0.1	0.4	1.5	20	92	5.6	++
5	3.5	0.2	0.6	0.5	20	114	6.7	+++
6	3.5	0.3	0.2	1.0	20	64	4.2	++
7	4.0	0.1	0.6	1.0	20	86	5.3	++
8	4.0	0.2	0.2	1.5	20	76	4.8	++
9	4.0	0.3	0.4	0.5	20	80	5.0	++
K ₁	14.4	15.3	13.2	15.9				
K ₂	16.5	16.2	15.3	14.1				
K ₃	15.0	14.7	17.4	15.9				
M ₁	4.8	5.1	4.4	5.3				
M ₂	5.5	5.4	5.1	4.7				
M ₃	5.0	4.9	5.8	5.3				
R	0.7	0.5	1.4	0.6				

注:①接种芽数不包括污染和褐化材料。增值芽数=总芽数-接种芽数;增值倍数=总芽数/接种芽数。②“+”表示生长状况一般,叶色淡绿;“++”表示生长状况良好,叶色浓绿;“+++”表示健壮饱满,叶色浓绿。

3 小结与讨论

1) 组织培养中器官发生受外界因素和体内生理生化因素的调节^[5]。在金线莲的培养过程中,影响腋芽增殖的一个关键因素是培养基中激素浓度的配比。本研究采用正交试验设计方案筛选出金线莲腋芽增殖的最适培养基为 MS+3.5 mg/L 6-BA+0.2 mg/L NAA+0.6 mg/L ZT+0.5 mg/L KT,外加 30 g/L 蔗糖、8 g/L 琼脂(pH 6.0),培养 35 d 后可得到大量的增殖腋芽。

2) 6-BA、NAA、KT 和 ZT 是组织培养快速繁殖的 4 种常用生长调节剂,范子南等^[6]认为,6-BA 对金线莲芽分化具有促进作用,且随着 6-BA 浓度的提高其促进芽分化的作用加强;刘润东等^[7]认为,6-BA 和 NAA 浓度过高不利于芽丛的发生,在加入 1.0 mg/L 6-BA 的 MS 培养基上,添加低浓度的 ZT 能明显促进芽丛的发生。本试验结果表明,ZT 对腋芽的分化和增殖具有显著的促进作用,当 ZT 浓

度为 0.6 mg/L 时,腋芽生长健壮;6-BA、NAA 和 KT 对其增殖影响不大。

出并明显增长,35 d 后出现大小各异、数目不等的增殖腋芽(图示)。
从表 2 可知,金线莲对 6-BA 不敏感,但在培养过程中仍有一定的积累效应,随其浓度的增加,腋芽增殖倍数有相应增加的趋势,与高燕等^[4]的研究结果一致;NAA 和生长调节剂 KT,对金线莲腋芽增殖效果不明显,可能与植物本身的遗传特性有关;生长调节剂 ZT 则对腋芽增殖有较大的影响,当 ZT 浓度为 0.6 mg/L 时,腋芽生长正常,叶绿,健壮。同时从表 2 可看出,金线莲腋芽增殖培养的最佳培养基为 MS+3.5 mg/L 6-BA+0.2 mg/L NAA+0.6 mg/L ZT+0.5 mg/L KT,其增值芽数最多(为 114 个),增值倍数最大(为 6.7 倍)。对不同因子处理的腋芽增殖倍数进行方差分析,生长调节剂 ZT 对金线莲腋芽增殖的 $F=4.468$,表明在 $\alpha=0.05$ 时有显著差异,说明,ZT 可以显著促进金线莲腋芽的分化和增殖。

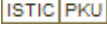
度为 0.6 mg/L 时,腋芽生长健壮;6-BA、NAA 和 KT 对其增殖影响不大。

[参 考 文 献]

- [1] 赵元藩. 金线莲的开发利用价值及林下栽培技术初步研究[J]. 林业调查规划, 2008, 33(3): 61-63.
- [2] 杨柏云, 高荫楠, 李春华, 等. 金线莲原球茎的诱导与快速繁殖[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(10): 3999-4001.
- [3] 闫世超, 张明生, 李 花. 金线莲丛生芽诱导研究[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(3): 981-982.
- [4] 高 燕, 白燕冰, 赵云翔. 金线莲组织培养几种培养基的筛选[J]. 热带农业科技, 2004, 27(3): 12-14.
- [5] 鲁涤非. 花卉学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1998: 356-357.
- [6] 范子南, 肖华山, 范晓红, 等. 金线莲组织培养研究[J]. 福建师范大学学报: 自然科学版, 1997, 13(2): 82-87.
- [7] 刘润东, 郭文杰, 林忠宁. 金线莲组织培养及营养成分的分析研究[J]. 广西农业科学, 2006, 37(5): 506-509.

(责任编辑: 冯 卫)

金线莲腋芽增殖培养条件的优化

作者: [郝丽丽](#), [乙引](#), [申刚](#), [张习敏](#), [HAO Li-li](#), [YI Yin](#), [SHEN Gang](#), [ZHANG Xi-min](#)
 作者单位: [贵州师范大学](#), [生命科学学院](#), [贵州](#), [贵阳](#), [550001](#)
 刊名: [贵州农业科学](#) 
 英文刊名: [GUIZHOU AGRICULTURAL SCIENCES](#)
 年, 卷(期): 2010, 38(7)
 被引用次数: 2次

参考文献(7条)

1. [赵云藩](#) [金线莲的开发利用价值及林下栽培技术初步研究](#)[期刊论文]-[林业调查规划](#) 2008(03)
2. [杨柏云](#); [高荫榆](#); [李春华](#) [金线莲原球茎的诱导与快速繁殖](#)[期刊论文]-[安徽农业科学](#) 2008(10)
3. [闫世超](#); [张明生](#); [李花](#) [金线莲丛生芽诱导研究](#)[期刊论文]-[安徽农业科学](#) 2009(03)
4. [高燕](#); [白燕冰](#); [赵云翔](#) [金线莲组织培养几种培养基的筛选](#)[期刊论文]-[热带农业科技](#) 2004(03)
5. [鲁涤非](#) [花卉学](#) 1998
6. [范子南](#); [肖华山](#); [范晓红](#) [金线莲组织培养研究](#) 1997(02)
7. [刘润东](#); [郭文杰](#); [林忠宁](#) [金线莲组织培养及营养成分的分析研究](#)[期刊论文]-[广西农业科学](#) 2006(05)

本文读者也读过(10条)

1. [江建铭](#). [俞旭平](#). [沈晓霞](#). [沈宇峰](#) [金线莲组培快繁技术研究](#)[期刊论文]-[时珍国医国药](#)2009, 20(2)
2. [杨柏云](#). [高荫榆](#). [李春华](#). [罗丽萍](#). [蔡奇英](#) [金线莲原球茎的诱导与快速繁殖](#)[期刊论文]-[安徽农业科学](#)2008, 36(10)
3. [何云芳](#). [杨霞](#). [余有祥](#) [金线莲组培快繁技术](#)[期刊论文]-[浙江林学院学报](#)1999(2)
4. [吴荣哲](#). [WU Rong-zhe](#) [生物反应器在金线莲扩繁中的应用](#)[期刊论文]-[农业科学与技术\(英文版\)](#)2010, 11(9)
5. [罗晓青](#). [吴明开](#). [查兰松](#). [敖茂宏](#). [王晓敏](#). [蒙秋伊](#). [卢加举](#). [LUO Xiao-qing](#). [WU Ming-kai](#). [ZHA Lan-song](#). [AO Mao-hong](#). [WANG Xiao-min](#). [MENG Qiu-yi](#). [LU Jia-ju](#) [珍稀药用植物金线莲研究现状与发展趋势](#)[期刊论文]-[贵州农业科学](#) 2011, 39(3)
6. [王丽芳](#). [WANG Li-fang](#) [不同培养基及添加物对金线莲生长量的影响](#)[期刊论文]-[北方园艺](#)2011(5)
7. [孟志霞](#). [郭顺星](#). [于雪梅](#). [陈晓梅](#). [肖培根](#). [MENG Zhi-xia](#). [GUO Shun-xing](#). [YU Xue-mei](#). [CHEN Xiao-mei](#). [XIAO Pei-gen](#) [植物生长调节剂对福建金线莲丛生芽增殖的影响](#)[期刊论文]-[中国药学杂志](#)2008, 43(23)
8. [何春年](#). [王春兰](#). [郭顺星](#). [杨峻山](#). [肖培根](#). [HE Chun-nian](#). [WANG Chun-lan](#). [GUO Shun-xing](#). [YANG Jun-Shan](#). [XIAO Pei-gen](#) [福建金线莲的化学成分研究](#)[期刊论文]-[中国药学杂志](#)2005, 40(8)
9. [阚世超](#). [张明生](#). [李花](#) [金线莲丛生芽诱导研究](#)[期刊论文]-[安徽农业科学](#)2009, 37(3)
10. [周玉美](#). [陈丽](#). [崔永一](#). [白基焯](#). [Zhou Yumei](#). [Chen Li](#). [Cui Yongyi](#). [Paek Keeyoeup](#) [台湾金线莲\(Anoectochilus formosanus\)快繁体系的构建](#)[期刊论文]-[东北林业大学学报](#)2009, 37(12)

引证文献(2条)

1. [王雅英](#). [林小华](#). [洪璇](#) [金线莲外植体筛选及愈伤组织诱导研究](#)[期刊论文]-[亚热带植物科学](#) 2011(3)
2. [罗晓青](#). [吴明开](#). [查兰松](#). [敖茂宏](#). [卢加举](#). [王晓敏](#) [贵州药用植物野生金线莲资源调查](#)[期刊论文]-[西南农业学报](#) 2011(2)

本文链接: http://d.g.wanfangdata.com.cn/Periodical_gznykx201007006.aspx