

天水地区铁皮石斛组织培养试验研究

雷颖, 任俞新, 吴利红

(甘肃林业职业技术学院, 甘肃 天水 741020)

摘要: 以温室盆栽的铁皮石斛茎切段为外植体, 采用交叉分组设计方法, 在MS培养基中, 添加不同浓度的植物生长调节剂2.4-D、NAA、IBA和6-BA诱导铁皮石斛丛生芽并观察对丛生芽增殖和生根的影响。结果表明, 铁皮石斛丛生芽诱导的最适培养基为MS+6-BA 2.0 mg/L+2.4-D 1.0 mg/L; 最适丛生芽增殖的培养基为MS+6-BA 1.5 mg/L+NAA 1.0 mg/L; 最适生根壮苗培养基为1/2 MS+IBA 1.5 mg/L, 移栽基质为珍珠岩、森林腐叶土、松针叶质量比1:1:1。

关键词: 铁皮石斛; 组织培养; 筛选; 天水地区

中图分类号: S813.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1463(2019)09-0039-04

doi: 10.3969/j.issn.1001-1463.2019.09.010

Experimental Study on Tissue Culture of *Dendrobium officinale* in Tianshui area

LEI Ying, REN Yuxing, WU Lihong

(Gansu Forestry Professional Technology College, Tianshui Gansu 741020, China)

Abstract: The top bud of *Dendrobium officinale* potted in greenhouse were used as explants, the method of cross-grouping design was adopted. and cultured in MS + mashed bananas puddle. The different concentrations of plant growth regulators 2.4-D, NAA, IBA and 6-BA were added in MS medium to induce the bushy buds of *Dendrobium officinale*, and the effects on the proliferation and rooting of bushy buds were observed. The results showed that the best medium for inducing cluster buds of *Dendrobium officinale* were MS+6-BA 2.0 mg/L+2.4-D 1.0 mg/L and MS+6-BA 1.5 mg/L+NAA 1.0 mg/L. The optimum medium for multiplication of cluster buds was MS+6-BA 1.5 mg/L+NAA 1.0 mg/L. The optimum medium for multiplication of cluster buds was MS+6-BA 1.5 mg/L+NAA 1.0 mg/L. The transplanting matrix was perlite, forest leaf mould and pine needle mass ratio 1 : 1 : 1.

Key words: *Dendrobium officinale*; Tissue culture; Scree; Tianshui area

铁皮石斛(*Dendrobium officinale*)是重要的传统中药材和四大洋兰之一。作为兰科植物, 由于其种子缺少胚乳, 自然萌发率极低, 很难用实生苗栽培。传统的分株、扦插等方式的繁殖率极低, 加上无节制地采挖, 其野生资源已濒临灭绝, 因此被列为国家重点保护的药用植物之一。通过组织培养技术使其大量繁殖, 是保护和利用铁皮石斛资源的重要途径。铁皮石斛在我国特别是在浙江、安徽、云南等省区已形成重要产业。近年来铁皮石斛人工种植迅速北上, 在京津冀

已有保护地种植, 但在西北地区还未见大面积种植, 所以, 铁皮石斛这一源自热带亚热带地区的植物如何在西北地区发展, 其快速繁育技术的研发显得尤为紧迫^[1]。鉴于此, 我们于2018年在甘肃林业职业技术学院进行了铁皮石斛组织培养试验, 以期铁皮石斛的组织培养与快速繁殖探究最佳技术方案。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试铁皮石斛为盆栽苗, 采自甘肃林业职业技术学院花卉基地。

收稿日期: 2019-04-29

作者简介: 雷颖(1966—), 女, 甘肃天水人, 副教授, 主要从事园林植物栽培与养护教学与研究。联系电话: (0)18093859308。Email: leiyinggl@163.com。

1.2 试验方法

试验可分 3 个阶段。

1.2.1 诱导培养 主要探究 2, 4-D 与 6-BA 对丛生芽诱导的影响^[2], 以 MS 为基本培养基, 设计 NAA 与 6-BA 各 3 个浓度水平, 共 9 个剂量组合, 具体方案见表 1。每组 3 次重复, 每个重复 10 瓶培养基, 每瓶接种 1 个外植体。

1.2.2 增殖培养 探究 NAA 与 6-BA 对丛生芽增殖的影响, MS 培养基为基本培养基, 设计 IBA 与 6-BA 各 3 个浓度水平, 共 9 个剂量组合, 具体方案见表 1。每组 3 次重复, 每个重复 10 瓶培养基, 每瓶接种 10 个单芽。

1.2.3 生根培养 探究 NAA 与 IBA 对壮苗与生根的影响, 以 1/2 MS 为基本培养基^[3], 设计 6 个剂量组合, 具体方案见表 2。每组 3 次重复, 每重复 10 瓶培养基, 每瓶接种 10 个单芽。

1.3 试验步骤

1.3.1 材料处理与外植体灭菌 选择生长旺盛无病虫害感染的优良盆栽母株, 剪取叶色嫩绿生长均匀的茎条, 除去叶片及下段老茎, 在流水中冲洗干净后, 剪成 2~3 cm 小段放入消毒瓶中, 在超净工作台上, 倒入 70% 的酒精 30 s 后, 无菌水冲洗 5 遍, 转入饱和漂白粉上清液中消毒 15 min 后, 无菌水冲洗 5 次, 取出后放在铺有滤纸的接种盘中。

1.3.2 丛生芽的诱导 在超净工作台上将消毒好的茎段切成 1.0~1.5 cm 的带节小段, 接种于丛生芽诱导培养基上, 培养基中植物生长调节物质的配比见表 1。试验过程中, 每 7 d 观察 1 次, 记录生长状况, 培养 60 d 后统计各培养基中丛生芽的诱导数和诱导率。

1.3.3 丛生芽的增殖 取正常诱导的丛生芽, 将其切成单芽接种于增殖培养基中, 培养基中植物生长调节物质的配比见表 1。培养 60 d 后观察各培养基中铁皮石斛的增殖情况。

1.3.4 生根与壮苗 截取增殖阶段生长旺盛

的丛生芽, 将其切成单芽接种于 1/2 MS 基本培养基, 植物生长调节剂选用 NAA、IBA。培养 60 d 后观察各培养基中铁皮石斛的生根情况。

以上各种培养基中均附加入 3% 蔗糖、6% 琼脂, 适量香蕉泥^[4]、pH 调至 5.5~6.0。

1.3.5 组培苗的培养 在温度 (25±1) °C, 光照时间 12 h/d, 光照强度为 1 500~2 000 lx 的培养条件下使试管苗正常生长^[5]。

1.3.6 组培苗的移栽 控制温室温度在 20~25 °C, 湿度 80%~100%, 采用珍珠岩: 森林土: 粉碎松针叶按质量比 1:1:1 配制的移栽基质。将生根的瓶苗不开盖在温室放置 3 d, 然后开盖放置 3 d^[6], 取出苗后洗净根部培养基, 移栽到基质上, 30 d 后观察其成活率及生长情况。

表 1 诱导培养及组织培养试验方案

编号	植物生长调节剂浓度 /mg/L		植物生长调节剂浓度 /mg/L	
	6-BA	2, 4-D	6-BA	NAA
1	1.0	0.5	0.5	0.5
2	1.0	1.0	0.5	1.0
3	1.0	1.5	0.5	1.5
4	2.0	0.5	1.0	0.5
5	2.0	1.0	1.0	1.0
6	2.0	1.5	1.0	1.5
7	3.0	0.5	1.5	0.5
8	3.0	1.0	1.5	1.0
9	3.0	1.5	1.5	1.5

表 2 生根培养试验方案

编号	NAA /mg/L		IBA /mg/L	
	/(mg/L)		/(mg/L)	
1	0		1.0	
2	1.0		0	
3	0		1.5	
4	1.5		0	
5	0		2.0	
6	2.0		0	

2 结果与分析

2.1 2, 4-D 与 6-BA 对丛生芽诱导的影响

通过表 3 可以看出, NAA 与 6-BA 诱导铁皮石斛丛生芽分化的最适配比为 MS + 6-BA 2.0 mg/L + 2, 4-D 1.0 mg/L, 此时铁皮石斛分化率最高, 为 88.31%, 平均芽数最

多, 为 18.01 个。

表 3 6-BA 与 2,4-D 不同浓度对比对丛生芽分化的影响

编号	植物生长调节剂浓度/(mg/L)		分化率/%	平均芽数/个
	6-BA	2, 4-D		
1	1.0	0.5	35.15	2.96
2	1.0	1.0	56.33	4.36
3	1.0	1.5	54.66	2.52
4	2.0	0.5	77.12	9.80
5	2.0	1.0	88.31	18.01
6	2.0	1.5	79.65	13.50
7	3.0	0.5	45.13	3.21
8	1.0	0.5	35.15	2.96
9	1.0	1.0	56.33	4.36

2.2 NAA 与 6-BA 对丛生芽增殖的影响

通过表 4 可以看出, NAA 与 6-BA 诱导铁皮石斛丛生芽增殖的最适浓度配比为 MS + 6-BA 1.5 mg/L + NAA 1.0 mg/L, 此时铁皮石斛丛生芽增殖倍数最高, 为 11.35 倍, 平均苗高最高, 为 5.01 cm。

表 4 6-BA 与 NAA 不同浓度对比对丛生芽增殖的影响

编号	植物生长调节剂浓度/(mg/L)		增殖倍数/倍	平均苗高/cm
	6-BA	2, 4-D		
1	1.0	0.5	3.56	2.11
2	1.0	1.0	5.38	4.85
3	1.0	1.5	4.10	3.79
4	1.5	0.5	6.67	2.27
5	1.5	1.0	11.35	5.01
6	1.5	1.5	10.66	3.55
7	2.0	0.5	6.90	1.65
8	2.0	1.0	9.25	2.31
9	2.0	1.5	5.12	1.22

2.3 IBA 与 NAA 对铁皮石斛壮苗与生根的影响

通过表 5 可以看出, 铁皮石斛壮苗与生根的最适浓度配比为 1/2 MS + IBA 1.5 mg/L,

表 5 NAA 与 IBA 不同浓度对比对丛生芽壮苗与生根的影响

编号	NAA 与 IBA 浓度/(mg/L)		生根率/%	平均根数/株	平均芽数/株
	NAA	IBA			
1	0	1.0	88.61	2.82	1.50
2	1.0	0	95.50	3.23	2.21
3	0	1.5	100	9.80	3.65
4	1.5	0	100	6.51	3.34
5	0	2.0	100	3.03	2.52
6	2.0	0	95.00	2.51	2.10

生根率为 100%, 平均根数最多, 为 9.80 条, 平均芽数可达 3.65 株。

3 小结与讨论

试验选择生长健壮旺盛的优良盆栽母株, 剪取叶色嫩绿生长均匀的茎条为外植体, 经过试验分析, 筛选出了最适合诱导铁皮石斛丛生芽分化的培养基为 MS + 6-BA 2.0 mg/L + 2, 4-D 1.0 mg/L, 此条件下, 铁皮石斛分化率为 88.31%, 平均芽数为 18.01 个。最适合促进丛生芽增殖的培养基为 MS + 6-BA 1.0 mg/L + IBA 1.0 mg/L, 此条件下铁皮石斛丛生芽增殖倍数为 11.35 倍, 平均苗高为 5.01 cm。最适合壮苗与生根的培养基为 1/2MS + IBA 1.5 mg/L, 试管苗移栽至珍珠岩、森林土、粉碎松针叶质量比为 1:1:1 配制的基质上, 30 d 后成活率达 90% 以上。

2, 4-D 与 6-BA 在一定配比下对铁皮石斛丛生芽的诱导发挥重要作用, 但 6-BA 的影响高于 2, 4-D; 2, 4-D 虽然在丛生芽的分化过程中起重要的作用, 几乎能促进所有外植体产生愈伤组织, 但对于丛生芽分化的效果不显著, 且有部分丛生芽呈玻璃状, 因此在芽苗增殖培养过程中采用了 NAA 则获得了较好的结果。在增殖培养中获得的丛生芽也能产生一定幼根, 但苗细根弱, 根茎处还有少量愈伤组织, 为获得壮苗以提高移栽成活率, 本试验设计了壮苗与生根试验, IBA 对铁皮石斛的生根与壮苗起到了重要作用。

参考文献:

- [1] 任建武, 史秋杰, 宾宇波, 等. 北方地区铁皮石斛快速繁育技术[J]. 北京农业, 2016(2下): 82.
- [2] 邓成华, 滕梅芳, 陈锦凤, 等. 植物生长调节剂对铁皮石斛组织培养的影响[J]. 河南农业, 2017(1中): 27-28.
- [3] 刘敏. 花卉组织培养与工厂化生产[M]. 北京: 地质出版社, 2002.
- [4] 柳泽鑫, 詹潮安, 肖泽鑫. 环境因子对铁皮石斛组织培养和大棚种植影响的研究进展[J]. 广东林业科技, 2014, 30(6): 62-66.

绵羊ADRA1B基因生物信息学分析

李 娜¹, 王维民^{1,2}, 张德印¹, 张小雪¹

(1. 甘肃农业大学动物科学技术学院, 甘肃 兰州 730070; 2. 甘肃省肉羊繁育生物技术工程实验室, 甘肃 民勤 733300)

摘要: 利用生物信息学数据库及软件, 对绵羊 *ADRA1B* 基因进行生物信息学分析, 初步了解其结构并进行预测。结果表明, 绵羊 *ADRA1B* 基因含有 1 个 1548 bp 的开放阅读框, 编码 515 个氨基酸残基。*ADRA1B* 蛋白分子质量为 56 385.55 KDa, 理论等电点 PI 为 9.53。亚细胞主要定位于质膜, 不属于分泌蛋白。不存在信号肽序列。存在七段跨膜结构且有 2 段低复杂性区域, 二级结构以无规卷曲为主, 三级结构主要由无规卷曲缠绕折叠形成。参与心肌、血管、肌肉的收缩调节。

关键词: 绵羊; *ADRA1B* 基因; 生物信息学分析

中图分类号: S826 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1463(2019)09-0042-07

doi: 10.3969/j.issn.1001-1463.2019.09.011

Bioinformatics Analysis of Sheep *ADRA1B* Gene

LI Na¹, WANG Weimin^{1,2}, ZHANG Deyin¹, ZHANG Xiaoxue¹

(1. College of Animal Science and Technology, Gansu Agricultural University, Lanzhou Gansu 730070, China; 2. Engineering Laboratory of Mutton Sheep Breeding and Reproduction Biotechnology in Gansu Province, Minqin Gansu 733300, China)

Abstract: The bioinformatics analysis of sheep *ADRA1B* gene was carried out by using bioinformatics database and software, and its structure was preliminarily understood and predicted. The results showed that sheep *ADRA1B* gene contained an open reading frame of 1 548 bp, encoding 515 amino acid residues. The molecular mass of *ADRA1B* protein was 56 385.55 KDa, and the theoretical isoelectric point PI was 9.53. The subcells were mainly located in plasma membrane and did not belong to secretory protein. There are no signal peptide sequences; There are seven segments of transmembrane structure and two segments of low complexity regions. The secondary structure is mainly random crimp, and the tertiary structure is mainly formed by random crimp, winding and folding. Involved in the regulation of contraction of myocardium, blood vessels and muscles.

Key words: Sheep; *ADRA1B* gene; Bioinformatics analysis

α -1 肾上腺素能受体(α -1 B adrenergic receptor, ADRA1B)是 G 蛋白偶联受体家

收稿日期: 2019-07-10

基金项目: 甘肃农业大学学生科研训练计划项目(201904030); 甘肃农业大学盛彤笙科技创新基金(GSAU-ST-1618); 甘肃省农业生物技术专项(GNSW-2016-10)。

作者简介: 李 娜(1998—), 女, 甘肃民勤人, 本科在读, 研究方向为动物科学。联系电话: (0)18219912367。Email: 1626548660@qq.com。

通信作者: 张小雪(1984—), 女, 湖北武汉人, 助教, 主要从事动物遗传育种与繁殖工作。联系电话: (0931)7631225。Email: zhangxx@gsau.edu.cn。

[5] 张金艳, 赵红艳, 郝苏玉, 等. 铁皮石斛的阶段式培养和栽培模式研究[J]. 湖北农业科学, 2014, 53(7): 1599-1601.

[6] 雷 颖, 吴利红, 任俞新. 丽格海棠叶片优

化培养高效再生体系的研究[J]. 农业科学研究, 2015, 36(2): 91-93.

(本文责编: 陈 伟)