

铁皮石斛试管苗生根影响因素研究

陈青青^{1,2}, 赖钟雄^{1,2}, 朱金秀^{1,2}

(1. 福建农林大学园艺学院, 福建 福州 350002;
2. 福建农林大学园艺植物生物工程研究所, 福建 福州 350002)

摘要: 以铁皮石斛试管丛生苗为原料, 研究不同 pH 值、光照强度和温度对铁皮石斛苗长势和生根的影响。结果表明: 温度和光照对铁皮石斛苗株高、生根率和苗鲜重影响显著 ($P<0.05$), 而 pH 对铁皮石斛的苗株高影响不显著 ($P>0.05$), 对苗鲜重和生根率影响显著; 铁皮石斛丛生苗壮苗生根的适宜 pH 值为 5.4, 适宜温度为 25℃, 光照强度为 1 500 lx。

关键词: 铁皮石斛; 组培; 壮苗生根; 影响因素

中图分类号: S 567.23; S 603.6

文献标识码: A

Factors affecting plantlet rooting from *Dendrobium officinale* tissue culture

CHEN Qing-qing^{1,2}, LAI Zhong-xiong^{1,2}, ZHU Jin-xiu^{1,2}

(1. College of Horticulture, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, Fujian 350002, China;
2. Institute of Horticultural Biotechnology, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou,
Fujian 350002, China)

Abstract: Effects of pH, light intensity and temperature on the growth and root formation of *Dendrobium officinale* cultivated *in vitro* were studied. Results showed that the height, rate of root formation and fresh weight of *D. officinale* were affected significantly by light intensity and temperature ($P<0.05$); and that the root formation and fresh weight were significant affected by pH ($P<0.05$), but not on the plantlet height. The optimal conditions for the growth and root formation of *D. officinale* were: pH 5.4 at 25℃ with the light intensity of 1500 lx.

Key words: *Dendrobium officinale*; tissue culture; growth; rooting

铁皮石斛 *Dendrobium officinale* 是一种名贵的兰科草本植物, 具有滋阴清热、生津益胃、止咳润肺等功效, 具有很高的药用价值^[1]。但由于其在自然环境下生长缓慢, 繁殖率低, 加上近年来的掠夺性采挖, 野生资源已濒临灭绝。近年来, 很多学者对铁皮石斛的人工栽培进行了大量研究^[2-4], 同时也有研究人员提出利用组织培养培育铁皮石斛^[5], 以提高铁皮石斛的栽培成活率。但是仍存在增长率不高、移栽成活率低等许多问题。其中, 生根是组培苗进行人工栽培成活率的关键因素, 因此在组织培养过程中需要有效提高组培苗的根系生长率, 以利于组培苗的人工栽培。迄今为止, 对铁皮石斛组培的研究主要集中在培养基的选择上^[6-9], 本研究在前人研究的基础上, 选择合适的无菌小苗, 研究光照强度、pH 值以及温度条件对铁皮石

斛长势和生根的影响, 以确定适合铁皮石斛壮苗生根的最佳条件, 为铁皮石斛组培苗栽培提供科学依据和理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

铁皮石斛原球茎由福建省三明市农业科学研究所提供, 在培养基 (1/2MS + 蔗糖 25% + 椰乳 20%) 中进行增殖分化培养 60 d, 获得本试验所需的无菌试管丛生苗。

1.2 方法

1.2.1 铁皮石斛组培苗栽培的光照强度、pH 值和温度设置 综合前人研究^[5-7]采用 1/2MS + 1.0 mg · L⁻¹ 6-BA + 2.0 mg · L⁻¹ NAA + 香蕉匀浆物 100 g · L⁻¹ + 30 g · L⁻¹ 蔗糖 + 7.0 g · L⁻¹ 琼脂的

收稿日期: 2010-07-31 初稿: 2010-09-14 修改稿

作者简介: 陈青青 (1983—), 女, 硕士, 助教, 主要从事药用植物生物技术与设施农业研究

通讯作者: 赖钟雄 (1966—), 男, 博士, 研究员, 主要从事园艺植物生物技术与遗传资源研究 (E-mail: Laizx01@163.com)

基金项目: 福建省教育厅科技项目 (JA09099)

生根壮苗培养基。取株高约为1.5 cm, 具有1~2片叶片的铁皮石斛丛生苗, 接种在培养基中。每瓶接种3~4簇, 每个培养处理接种10瓶, 重复3次。

在培养基相同的条件下, pH值为5.4、温度为25℃的情况下, 将铁皮石斛无菌小苗培养在不同光照条件下, 光照强度分别设为0 lx(黑暗)、1 000 lx、1 500 lx 3种。

在培养基相同的条件下, 取上一步试验所得最佳光照条件, 分别考查pH值、温度对铁皮石斛生根壮苗的影响, 未被考查的因素取同上所设定的条件。

45 d后统计苗株高(cm)、生根率、苗鲜重(g)。通过这三个指标筛选出最适宜铁皮石斛生根壮苗的培养条件。其中生根率的计算公式为: 生根率(%)=(生根苗数/总苗数)×100%。

1.2.2 数据分析 采用DPS(3.01)进行数据统计分析。

2 结果与分析

2.1 光照强度对铁皮石斛生根壮苗的影响

培养45 d后发现丛生苗在0 lx(黑暗)条件下长势差, 白化现象严重, 培养一段时间后小苗大部分枯死; 在光照强度1 000 lx条件下, 生长缓慢, 茎干细长纤弱, 叶色浅, 叶片小而长, 节间距长, 根系细弱(图1-A); 光照强度为1 500 lx条件下, 丛生苗长势较光照强度1 000 lx的好, 叶片多, 叶色较深, 根系生长快(图1-B), 增重最多, 生根率最高, 为75.4%(表1)。不同于香蕉组培苗^[10], 光照对铁皮石斛组培苗长势和生根都有影响。光照强度1 000 lx和1 500 lx下的平均株高差异显著($P<0.05$), 平均鲜重和生根率差异极显著($P<0.01$)。

表1 光照强度对铁皮石斛壮苗生根的影响

Table 1 Effect of light intensity on growth and root formation of *D. officinale*

| 光照强度 (lx) | 平均株高 (cm) | 平均每瓶鲜重 (g) | 生根率 (%) |
|--------------|--------------|---------------|-------------|
| 0 | — | — | — |
| 1 000 | 2.01±0.14aA | 7.23±0.08aA | 48.5±0.10aA |
| 1 500 | 2.42±0.10bA | 8.75±0.13bB | 75.4±0.80bB |

注: 同列不同大小写字母分别表示差异达极显著水平($P<0.01$)和显著水平($P<0.05$)。

2.2 pH值对铁皮石斛壮苗生根的影响

在培养基相同, 光照强度为1 500 lx, 温度为25℃的条件下, 将铁皮石斛无菌小苗接种在不同pH值的培养基中(分别为5.4、5.8、6.2)培养, 试验结果如表2所示。pH值为5.4时, 铁皮石斛试管丛生苗生长迅速, 增重和生根率在3个处理中最高, 叶片较多但叶色浅, 生根较快且多(图2-A)。随着pH值增加, 丛生苗的叶色加深, 长势也更好, 但是生根情况不佳, 在pH 5.8条件下, 植株长势较好, 叶片多且颜色深绿, 后期生根缓慢(图2-B)。pH 6.2条件下, 植株较粗壮, 叶片色深, 根系生长慢且细弱(图2-C)。这可能是因为pH值越高, 培养基越硬, 影响了根的生长。

虽然平均株高随pH降低而增加(表2), 但统计分析结果表明, 不同pH条件下平均株高差异并不显著; 不同pH对生根率的影响达到极显著水平, 不同pH条件对平均鲜重的影响达到极显著水平。因此, 就铁皮石斛的壮苗、生根培养而言, 笔者认为培养基中pH值不能过高, 以5.4为宜。

表2 不同pH值对铁皮石斛壮苗、生根的影响

Table 2 Effect of pH on growth and root formation of *D. officinale*

| pH值 | 平均株高 (cm) | 平均每瓶鲜重 (g) | 生根率 (%) |
|-----|--------------|---------------|-------------|
| 5.4 | 2.32±0.09aA | 8.56±0.11aA | 79.5±0.50aA |
| 5.8 | 2.20±0.11aA | 8.14±0.08bB | 61.3±0.80bB |
| 6.2 | 2.11±0.12aA | 7.63±0.07cC | 41.2±0.90cC |

2.3 温度对铁皮石斛壮苗、生根的影响

在培养基相同, 光照强度为1 500 lx, pH值5.4的条件下, 将铁皮石斛无菌小苗在不同温度(20℃、25℃、30℃)条件下培养, 比较不同温度对铁皮石斛壮苗、生根的影响。试验结果(表3)表明, 不同温度对铁皮石斛试管苗平均株高、平均鲜重和生根率影响显著。当温度为20℃时, 植株生长较慢, 矮小细弱, 生根也缓慢, 且根系较短, 叶片少, 簇状, 不够伸展, 颜色淡绿, 白化腐烂现象较为严重(图3-A); 25℃条件下, 植株长势较好, 叶片多, 颜色深绿, 生根率最高且粗壮(图3-B); 在30℃环境下, 开始时植株正常生长, 但一段时间后慢慢出现黄化现象, 长势较弱, 培养16 d后大部分植株枯死。因此, 铁皮石斛壮苗生根培养时, 以25℃培养效果较好。

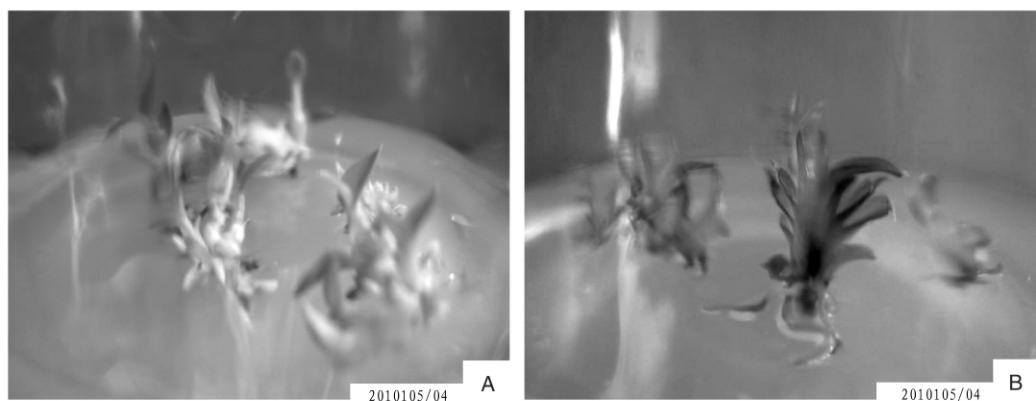


图 1 不同光照强度对铁皮石斛壮苗、生根的影响

Fig. 1 Effect of light intensity on growth and rooting of *D. officinale*

注: A、B 分别为光照 1 000 lx 和 1 500 lx 下铁皮石斛丛生苗生长状况。

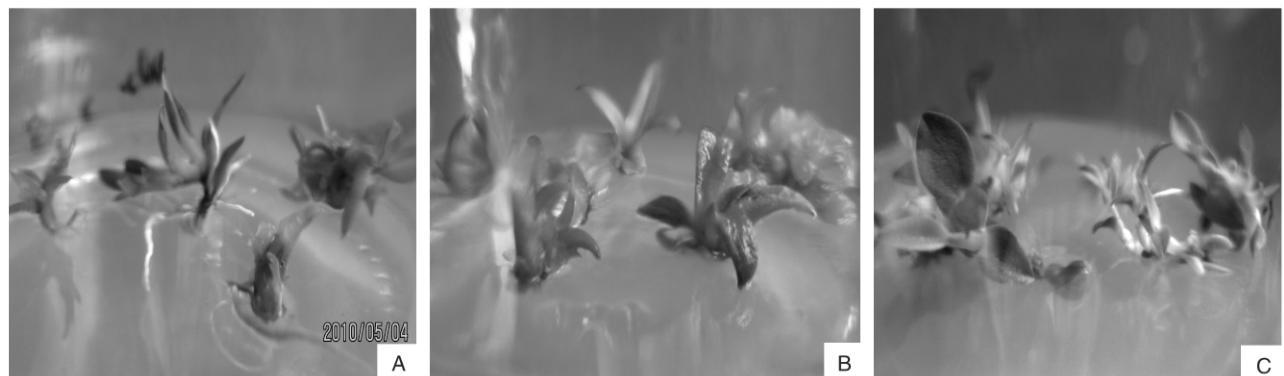


图 2 不同 pH 值对铁皮石斛壮苗、生根的影响

Fig. 2 Effect of pH on growth and rooting of *D. officinale*

注: A、B、C 分别为 pH 5.4、5.8、6.2 条件下铁皮石斛丛生苗的生长情况。

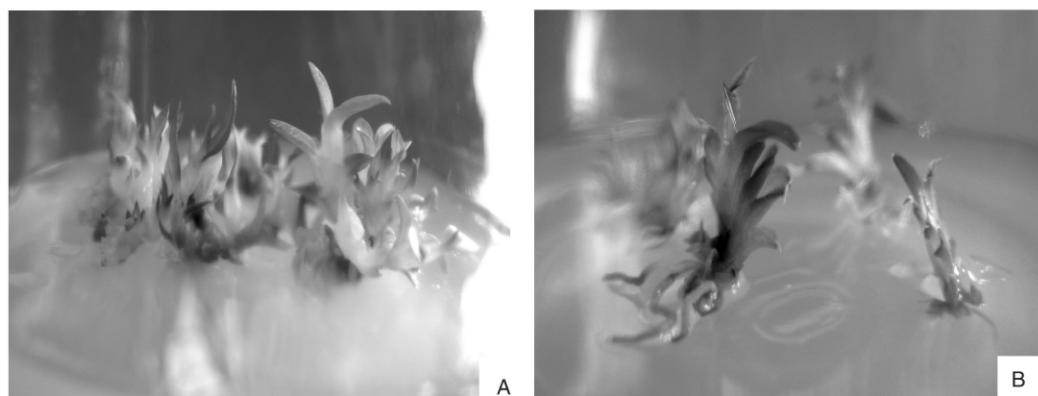


图 3 不同温度对铁皮石斛壮苗、生根的影响

Fig. 3 Effect of temperature on growth and rooting of *D. officinale*

注: A、B 为 20℃、25℃ 下铁皮石斛丛生苗的生长情况。

表3 不同温度对铁皮石斛壮苗生根的影响

Table 3 Effect of temperature on growth and root formation of *D. officinale*

| 温度 (℃) | 平均株高 (cm) | 平均每瓶鲜重 (g) | 生根率 (%) |
|-----------|--------------|---------------|-------------|
| 20 | 2.12±0.12aA | 7.98±0.08aA | 56.7±0.70aA |
| 25 | 2.45±0.13bA | 8.52±0.12bB | 74.8±0.90bB |
| 30 | — | — | — |

3 结论与讨论

近年来铁皮石斛的组织培养技术发展迅速，取得了很大的进展，但在组培环境条件的研究方面还不多。本试验从铁皮石斛试管苗生根环境中的 pH 值、温度、光照强度等几个方面进行研究，结果表明，具有 1~2 片叶片的铁皮石斛丛生苗在 $1/2\text{MS} + 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} 6\text{-BA} + 2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NAA} + \text{香蕉匀浆物 } 100 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} + 30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} \text{蔗糖} + 7.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 琼脂的生根壮苗基础培养基中，温度和光照对苗株高、生根率和苗鲜重具有显著的影响，而 pH 对铁皮石斛的苗株高影响不显著，但对苗鲜重和生根率具有显著的影响。通过试验获得铁皮石斛丛生苗壮苗生根的适宜 pH 值是 5.4，这与兰科植物适合生长在偏酸性的土壤环境中的观点相符合^[11]。学者们在进行铁皮石斛组织培养时，一般都将温度设在 $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ^[6-9]，本试验获得适宜温度为 25°C ，这也与前人的研究相一致。1 500 lx 的光照强度相对 1 000 lx 更有利于铁皮石斛的生根壮苗。而对于

1 500 lx 以上的光强对铁皮石斛是否还有影响，仍有待进一步的研究。

参考文献：

- [1] 蒙平, 张向军, 何新民. 铁皮石斛组培苗移栽新技术 [J]. 中国热带农业, 2007, (4): 52—53.
- [2] 冷佳奕. 激素、培养方式与条件对铁皮石斛类原球茎有效成分影响的研究 [D]. 广州: 华南师范大学, 2002: 9—17.
- [3] 常钰. 药用植物铁皮石斛的大规模培养和化学、药理学研究 [D]. 上海: 上海中医药大学, 2001: 50—55.
- [4] 付开聪, 冯德强, 张绍云. 铁皮石斛集约化高产栽培技术研究 [J]. 中草药, 2003, 34 (2): 177—179.
- [5] 袁正仿, 张卫明, 丁小余. 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, (3): 58—60.
- [6] 蒋向辉, 余朝文, 王善粉, 等. 不同激素浓度对铁皮石斛高效快繁体系的影响 [J]. 江苏农业科学, 2010, (1): 76—78.
- [7] 蒋波, 杨存亮, 黄捷, 等. 铁皮石斛原球茎生长分化及生根壮苗研究 [J]. 玉林师范学院学报: 自然科学版, 2005, 26 (3): 66—69.
- [8] 周俊辉, 钟雪峰, 蔡丁稳. 铁皮石斛的组织培养与快速繁殖研究 [J]. 仲恺农业技术学院学报, 2005, 18 (1): 23—26.
- [9] 冯莹, 赖钟雄. 外源激素和糖对石斛兰原球茎受体系统建立的影响 [J]. 福建农林大学学报: 自然科学版, 2009, 38 (5): 495—499.
- [10] 郑洪立, 叶春海, 王季槐, 等. 温度和光照对香蕉组培苗生长和增殖的影响 [J]. 热带作物学报, 2008, 29 (4): 455—459.
- [11] 王康正, 范磊, 高文远, 等. 药用石斛栽培的研究概况 [J]. 中国中药杂志, 1998, 23 (6): 340—343.

(责任编辑: 林海清)