

徐忠传,倪歆晨,蔡国超,等. 不同光质条件下磁处理水对铁皮石斛原球茎生长的影响[J]. 江苏农业科学,2013,41(8):226-228.

不同光质条件下磁处理水对铁皮石斛原球茎生长的影响

徐忠传¹,倪歆晨¹,蔡国超^{1,2},徐式近^{1,2}

(1. 常熟理工学院生物与食品工程学院,江苏常熟 215500; 2. 苏州大学金螳螂建筑与城市环境学院,江苏苏州 215123)

摘要:以铁皮石斛原球茎为研究对象,研究了不同光质条件下磁处理水对铁皮石斛原球茎生长的影响,筛选最佳光质条件和磁处理水条件。结果表明,不同光质条件和磁处理水强度对铁皮石斛原球茎的增重作用不一样,主次因素和最佳条件为红光、1.0 T。

关键词:光质;磁处理水;铁皮石斛;原球茎;生长

中图分类号: S567.23⁺9.043 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)08-0226-03

铁皮石斛(*Dendrobium officinale* Kimura et Migo)为多年生草本植物,多糖含量高达 21.7%^[1],是名贵的中草药,有重要的药用价值,主要成分为石斛多糖与石斛碱,具有滋阴清热、生津益胃、止咳润肺之功效。但野生铁皮石斛自然结实率很低,很难用实生苗栽培,而传统的分株、扦插等方式的繁殖率极低,加上过度采挖,该物种已濒临灭绝。1984 年首次报道获得了霍山石斛试管苗^[2],此后经过许多学者研究,植物组织培养技术已被广泛用于铁皮石斛的人工种植中。

光质是影响植物生长发育的重要因子之一,如 Seibert 等发现蓝光能促进烟草叶组织培养中愈伤组织增重^[3],毛学文等发现蓝光下毛地黄愈伤组织增殖量最大^[4];也有人认为蓝光不利于愈伤组织生长且降低生物产量,如张君诚对银杏愈伤组织^[5]、赵德修等对水母雪莲愈伤组织^[6]的研究结果就是如此。而红光通常不利于愈伤组织的增殖,对其生长有抑制作用,但对某些植物如银杏、石刁柏^[7]、番茄^[8]有促进生长的作用。王为发现不同光质下培养 42 d 每 1 g 鲜重的增长率顺序为:白光>蓝光>红光 No.1>绿光>红光 No.2>黑暗^[9]。在混合光的研究中,Huan 等^[10]研究表明,红蓝光比例为 3:1 时愈伤组织生长最好,但 100% 的红光对愈伤组织的诱导率最高。

另外,磁处理水技术也在生物农业生产方面得到应用并取得了成效^[11-12]。根据徐忠传等报道,将磁处理水应用于植物组培中可以促进菊花试管苗的生长^[13]。因此,本试验以铁皮石斛原球茎为研究对象,研究不同光质条件下磁处理水对铁皮石斛原球茎生长的影响,旨在筛选最佳光质条件和磁处理水条件,为铁皮石斛快速繁殖提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

(1)植物材料:铁皮石斛组培苗原种,来自常熟理工学院生物与食品工程学院。(2)主要试验仪器:EI204 型分析天平[梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司]、LX-C50L 型高压蒸汽灭菌锅(合肥华泰医疗有限公司)、ZY04170 及

ZX99317 型移液枪[赛默飞世尔(上海)仪器有限公司]、磁处理水装置(自制)、不同光质 LED 光照培养箱(自制)、SW-CJ-1F 型无菌超净工作台(苏州安泰空气技术有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 培养基配方及制备 (1)培养基配方:1/2 MS+NAA 0.2 mg/L+6-BA 1 mg/L+KT 1 mg/L+2%蔗糖+0.2%碳粉+0.5%琼脂,pH 值 5.8。(2)培养基的制备:用一定强度的磁处理水代替蒸馏水配制上述培养基,而对照则用蒸馏水。

1.2.2 光质与磁处理水的正交试验设计 本试验中有磁处理水强度和光质 2 个因素(表 1),光质有 5 个水平(红光、蓝光、红蓝光、黑暗、白光),磁处理水的磁感应强度设置 5 个水平(0.2、0.4、0.6、0.8、1 T),不考虑交互作用,2 因素共占 2 列,选 L₂₅(5²)正交表最合适。每个处理(包括对照)重复 3 次。

表 1 铁皮石斛原球茎生长的正交试验因素水平

水平	A:光质	B:磁处理水强度(T)
1	红光	0.2
2	蓝光	0.4
3	红蓝光	0.5
4	白光	0.8
5	黑暗	1.0

1.2.3 接种与培养 在无菌超净工作台上,用灭菌过的天平精确称取呈均一鱼籽状铁皮石斛原球茎 0.3 g,接种于每瓶培养基中。然后把各瓶铁皮石斛原球茎放在不同光质的培养箱中培养 30 d,取出称量。培养条件为培养温度(25±1)℃、光照强度 50~100 μmol/(m²·s)、光-暗周期 12 h-12 h。

1.2.4 生长指标的测定 判断铁皮石斛原球茎生长的指标用增重量表示。使用分析天平测定处理并培养 30 d 后原球茎的总鲜重,然后减去原始重量 0.3 g,就得到增重量。

1.2.5 数据处理及作图 (1)测得处理和对照的数据后,计算出 3 组重复试验数据的平均值,用 Excel 软件作图。(2)用 SPSS 软件进行正交试验的方差分析。

2 结果与分析

2.1 不同光质条件下磁处理水对铁皮石斛原球茎生长的影响分析

从图 1 可以看出,磁处理水对铁皮石斛原球茎生长既有

收稿日期:20133-05-03
基金项目:江苏省苏州市科技局资助项目(编号:SYN201008)。
作者简介:徐忠传(1956—),男,安徽歙县人,博士,教授,从事植物生物技术方面的教学和科研工作。E-mail:253375634@qq.com。

促进作用又有抑制作用,其中生长最佳的条件是 0.6 T 的磁处理水在红光下培养,抑制效果最强的是 0.6 T 的磁处理水在黑暗条件下培养。

在红光条件下培养铁皮石斛原球茎的试验中,0.6 T 表现的正生物学效应最强,0.2 T 的促进作用略低于 0.6 T,其

次为 0.8、1.0 T,而 0.4 T 则表现为较弱的负生物学效应。

在蓝光条件下培养铁皮石斛原球茎的试验中,0.8 T 表现的正生物学效应最强,0.2 T 的促进作用略低于 0.8 T,1.0 T 表现为较弱的促进作用,而 0.4、0.6 T 则表现为较弱的负生物学效应,其中 0.4 T 的抑制作用略大于 0.6 T。

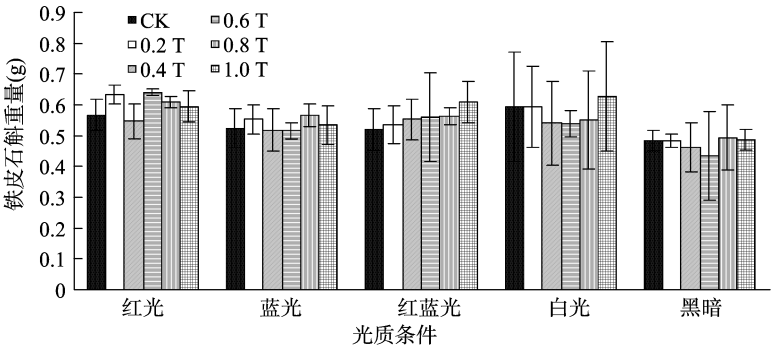


图1 不同光质条件下不同强度磁处理水对铁皮石斛原球茎生长的影响

在红蓝光条件下培养铁皮石斛原球茎的试验中,不同磁处理水强度均表现为正生物学效应,其中 1.0 T 表现的正生物学效应最强,远大于其他组别,其次是 0.8、0.6、0.4 T,这三者的促进效果相近,而 0.2 T 则表现为较弱的正生物学效应。

在白光条件下培养铁皮石斛原球茎的试验中,1.0 T 表现为正生物学效应,0.2 T 表现为很弱的正生物学效应,而 0.4、0.6、0.8 T 均表现为负生物学效应,三者的抑制效果相近,其中最强的是 0.6 T。

在黑暗条件下培养铁皮石斛原球茎的试验中,0.8 T 表现的正生物学效应最强,但较其他光质培养下的组别而言促进作用较弱。0.2、1.0 T 表现为很弱的正生物学效应,而 0.4、0.6 T 表现为较强的负生物学效应,0.6 T 的抑制效果远大于 0.4 T。

2.2 使用正交试验法分析结果

2.2.1 极差分析 采用正交试验法,不考虑交互作用,按 2 因素 5 水平安排试验(表 1),选 $L_{25}(5^2)$ 正交表最合适,试验结果见表 2。

从表 2 的 R 值可以看出在试验因素组别范围内,光质条件的极差最大,即光质条件对试验结果的影响最大,磁处理水强度对试验结果的影响为相对次要的因素。由表 2 得出影响试验结果的主次因素和较优条件为红光、1.0 T。

由表 2 还可以看出,磁处理水强度对铁皮石斛原球茎生长影响的强弱顺序是 1.0 T>0.2 T≈0.8 T>0.6 T>0.4 T。最强的是 1.0 T,其次是 0.2、0.8 T,两者的促进效果差不多,而 0.4、0.6 T 则影响较弱,其中 0.4 T 的抑制效果高于 0.6 T。

从表 2 结果直观分析,光质条件对铁皮石斛原球茎生长影响的强弱顺序是红光>白光>红蓝光>蓝光>黑暗,其中红光的促进效果最强,白光的促进作用仅次于红光,蓝光表现为很弱的促进效果,而白光和黑暗的促进效果更弱,白光的促进作用要略高于黑暗。

2.2.2 方差分析 采用 SPSS 软件进行单变量方差分析,以期把因素水平的变化所引起的试验结果间的差异与误差的波

表 2 铁皮石斛原球茎生长正交试验结果直观分析

试验编号	影响因素		平均增重 (g)
	A	B	
1	1	1	0.633
2	1	2	0.547
3	1	3	0.641
4	1	4	0.610
5	1	5	0.595
6	2	1	0.554
7	2	2	0.518
8	2	3	0.516
9	2	4	0.566
10	2	5	0.535
11	3	1	0.536
12	3	2	0.553
13	3	3	0.561
14	3	4	0.563
15	3	5	0.608
16	4	1	0.594
17	4	2	0.541
18	4	3	0.538
19	4	4	0.552
20	4	5	0.628
21	5	1	0.483
22	5	2	0.461
23	5	3	0.434
24	5	4	0.494
25	5	5	0.486
k_1	0.605	0.560	
k_2	0.538	0.524	
k_3	0.564	0.538	
k_4	0.571	0.557	
k_5	0.472	0.570	
R	0.134	0.046	

动所引起的试验结果间的差异区分开,并给出可靠的数量估计。方差分析结果见表 3。从方差分析结果可以看出,光质

的显著值为 0.000,在 $\alpha=0.05$ 水平上具有显著性意义($P<0.05$)。磁处理水强度的显著值为 0.101,大于 0.05,因此磁处理水强度对试验结果的影响不大。

表 4 为试验数据的单因素统计量表。由表 4 可知,光质选红光最佳,磁处理水强度 1.0 T 最佳。综合表 3 与表 4 可以得出,影响试验结果的主次因素和较优条件为红光、1.0 T,与极差分析结果相吻合。

表 3 铁皮石斛原球茎生长的单变量多因素方差分析					
方差来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
误差修正模型	0.057	8	0.007	9.525	0.000
截距	7.559	1	7.559	10 147.122	0.000
磁处理水强度	0.007	4	0.002	2.324	0.101
光质	0.050	4	0.012	16.726	0.000
误差	0.012	16	0.001		
总计	7.628	25			
总变差	0.069	24			

注: $R^2=0.826$ (校正 $R^2=0.740$)。

表 4 铁皮石斛原球茎生长的单因素统计量					
因素	水平	增重(g)			
		均值	标准差	95% 置信区间	
				下限	上限
光质	红光	0.605	0.012	0.579	0.631
	蓝光	0.538	0.012	0.512	0.564
	红蓝光	0.564	0.012	0.538	0.590
	白光	0.571	0.012	0.545	0.596
	黑暗	0.472	0.012	0.446	0.497
磁处理水强度	0.2 T	0.560	0.012	0.534	0.586
	0.4 T	0.524	0.012	0.498	0.550
	0.6 T	0.538	0.012	0.512	0.564
	0.8 T	0.557	0.012	0.531	0.583
	1.0 T	0.570	0.012	0.545	0.596

3 讨论与结论

本试验研究了包括黑暗条件在内的 5 种光质条件和 5 个磁处理水强度的不同组合对铁皮石斛原球茎生长的影响,试验结果表明合适的光质条件和磁处理水强度能对铁皮石斛原球茎生长表现出正生物学效应。

在磁处理水试验中,磁处理水强度的最高促进作用为 1.0 T 时,平均增重达到了 0.570 g。使用磁处理水配制的培养基进行铁皮石斛原球茎的培养,发现不同强度的磁处理水对铁皮石斛原球茎的生长有不同程度的促进和抑制作用。这与王海英等的研究结果表明磁处理水对小球藻生长无显著影响相似^[11]。

有关研究表明,合适的光照强度可促进组培苗的快速生长,又可避免受到强光抑制^[14]。但光照强度对组培苗生长的影响是相当复杂的,温度、湿度、CO₂ 浓度等环境条件发生变化,同样也会对铁皮石斛组培苗生长有影响。在光质 + 磁处

理水试验中,对铁皮石斛原球茎生长促进效果最佳的是在红光下培养,平均增重量为 0.605 g,这与王为认为的蓝光对胚性愈伤组织的生物量增长有很好的促进作用的结果相反,但与 Haun 等研究红蓝光比例为 3 : 1 时愈伤组织生长最好的结果^[10]相近。鲍顺淑的试验结果也表明:红光、蓝光和远红光(R : B : FR = 2 : 1 : 1)组成的光质较适合铁皮石斛组培苗的生长发育和繁殖^[14]。所以在对混合光的研究中,对于铁皮石斛原球茎增重,红光所占的比重要大于其他光质。不同试验中光质对铁皮石斛原球茎增重的影响不同,可能是因为每个试验中还有其他不同因素的作用,导致结果差异。

本试验研究了光质和磁处理水对铁皮石斛原球茎生长的共同作用,通过对试验数据进行正交分析、方差分析,得出影响铁皮石斛原球茎增殖的主次因素和较优条件为红光、1.0 T。

参考文献:

[1] 顾慧芬,忻晓君,周文婷,等. 铁皮石斛试管苗快速生长与栽培研究及多糖含量测定[J]. 中成药,1999,21(12):44-45.

[2] 浙江森宇公司. 我国高产栽培名贵药材“铁皮石斛”获得成功[J]. 中国药业,2004,13(2):45.

[3] Seibert M, Wetherbee P J, Job D D. The effects of light intensity and spectral quality on growth and shoot initiation in tobacco callus[J]. Plant Physiology, 1975, 56(1):130-139.

[4] 毛学文,陈 荃. 不同光质对毛地黄愈伤组织诱导和增殖的效应[J]. 植物学通报,1997,14(1):55-56.

[5] 张君诚. 银杏愈伤组织诱导与增殖的效应研究[J]. 重庆师范学院学报:自然科学版,1999,16(3):42-49.

[6] 赵德修,李茂寅. 光质、光强和光期对水母雪莲愈伤组织生长和黄酮生物合成的影响[J]. 植物生理学报,1999,25(2):127-130.

[7] 熊丽,周吉源,殷荣华. 光质对石刁柏愈伤组织培养中生长和过氧化物酶的影响[J]. 武汉植物学研究,1995,13(3):253-257.

[8] 王维荣,王咏冬,欧阳光察,等. 光质对黄瓜及番茄愈伤组织培养中分化和有关酶的影响[J]. 植物生理学报,1991,17(2):118-124.

[9] 王 为. 光质对铁皮石斛体细胞胚胎发生的影响[D]. 成都:西南交通大学,2008:1-59.

[10] Huan L V T, Tanaka M. Effects of red and blue light-emitting diodes on callus induction, callus proliferation, and protocorm-like body formation from callus in cymbidium orchid[J]. Environ Control in Biol, 2004, 42(1):57-64.

[11] 王海英,曾晓波,郭祀远. 不同磁处理方式对小球藻生长的影响[J]. 现代生物医学进展,2006,6(12):106-108.

[12] 谢 婕,吴映明. 磁处理水对两种十字花科植物种子发芽生长的影响[J]. 热带农业科学,2011,31(2):8-10.

[13] 徐忠传,施佳宏,金 波. 磁处理对菊花组培苗生长的影响研究[J]. 农业生物技术学报,2007,15(增刊):55-58.

[14] 鲍顺淑. 密闭式植物工厂中药用铁皮石斛组培生产的适宜光照环境[D]. 北京:中国农业大学,2007:1-79.