

董燕婧,李 博,程波翔,等.不同添加物对铁皮石斛组培幼苗生长的影响[J].江苏农业科学,2017,45(6):135-137.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.06.034

不同添加物对铁皮石斛组培幼苗生长的影响

董燕婧,李 博,程波翔,程 访,方香香,张寿文

(江西中医药大学中药资源与民族药研究中心,江西南昌 330004)

摘要:以铁皮石斛试管小苗为材料,以 MS+0.5 mg/L 6-BA+0.5 mg/L NAA+20 g/L 蔗糖+6 g/L 琼脂为基础培养基,采用正交试验设计方法研究 3 种不同添加物(普通香蕉汁、食用马铃薯汁、活性炭)对铁皮石斛幼芽生长的影响。结果表明,香蕉汁对铁皮石斛的鲜质量、根数、茎高有促进作用,在促进茎的伸长方面效果较为显著;马铃薯汁对铁皮石斛的根长、茎粗影响不大,但在鲜质量和茎高等方面有显著性促进作用;添加一定量的活性炭可以促进铁皮石斛根的生长。在基础培养基里添加 30% 香蕉汁、10% 马铃薯汁、0.6 g/L 活性炭,有利于铁皮石斛的壮苗生根;添加 10% 马铃薯汁、0.2 g/L 活性炭,有利于铁皮石斛原球茎的增殖和芽的分化。

关键词:正交试验;铁皮石斛;组培幼苗;添加物

中图分类号:S567.23+9.04 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2017)06-0135-03

铁皮石斛(*Dendrobium officinale* Kimura et Migo)是兰科石斛属多年生草本植物,以新鲜或干燥的茎入药,为名贵药用植物。《神农本草经》将石斛列为上品^[1],《本草纲目》记载其主治伤中,除痹下气,补五脏虚劳赢瘦,强阴益精^[2]。现代药理研究表明,铁皮石斛具有增强机体免疫力、抗肿瘤、降血糖、抗氧化等作用^[3-4]。因其药用价值和观赏价值高,加之其生长周期长、存活低,导致野生铁皮石斛资源紧缺。为了实现铁皮石斛资源的可持续性发展和利用,目前已经成功采用植物组织培养技术对其进行大规模的繁殖和生产^[5],但生产中依然存在试管苗质量不高、移栽成活率低等问题,很大程度上阻碍了铁皮石斛生产规模扩大的步伐。本试验则采用正交试验来优化添加物对铁皮石斛的影响,以期能筛选出较为适合铁皮石斛生长并能促进生长的配方,解决铁皮石斛产业化难、成本高的问题,为其进一步研究提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本试验所采用的试验材料为江西中医药大学中药资源与民族药研究中心组培室继代保存的铁皮石斛幼苗。幼苗刚分化不久,具有 2~3 片真叶,茎高为 7~15 mm,茎粗约为 1 mm,茎节数为 2 节,呈绿色,无根。

基础培养基为 MS+0.5 mg/L 6-BA+0.5 mg/L NAA+20 g/L 蔗糖+6 g/L 琼脂。添加物分别为普通香蕉汁、食用马铃薯汁、活性炭。香蕉剥皮后称质量,切片加水煮 25~35 min,然后用纱布过滤掉残渣,留汁备用;马铃薯去皮称质

量,切丁加水煮 30~45 min,去渣留汁备用。

1.2 试验方法

为了优化添加物对铁皮石斛的影响,本试验在前期预试验的基础上,采用正交设计 $L_{16}(4^3)$ 对香蕉汁、马铃薯汁、活性炭等 3 种添加物各取 4 个水平进行考察,其因素水平如表 1 所示,正交试验安排如表 2 所示。

培养温度 $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$,湿度 50%~70%,光照时间为 10~12 h/d,强度为 1 500~2 000 lx。幼苗接种于培养基上培养 90 d 后,测量铁皮石斛的鲜质量(培养后-培养前)、根长(整棵苗的最长根长)、根数、茎高(从茎基部到顶芽的高度)、茎粗等 5 个指标,利用 SPSS 19.0 软件对正交试验结果进行直观分析与方差分析。

表 1 不同添加物对铁皮石斛生长影响的因素及水平

水平	因素		
	A:香蕉汁 添加量(%)	B:马铃薯汁 添加量(%)	C:活性炭 添加量(g/L)
1	0	0	0
2	10	10	0.2
3	20	20	0.4
4	30	30	0.6

注:表中 10%、20%、30% 分别代表培养基中加入 100、200、300 g/L 香蕉汁或马铃薯汁。

2 结果与分析

在正交试验的 16 组试验中,以第 4、5、10、11、14、16 组铁皮石斛幼苗整体长势较好,茎高增长率高,茎较膨大,根较长,苗呈墨绿色。第 2、6、7、8、12、13 组铁皮石斛生长良好,茎高一般,有根,根长相对较长,苗呈绿色。第 1、3、9、15 组铁皮石斛生长一般,苗较小,无根,呈绿色。从每组每瓶中随机选苗对 5 个指标进行测量,结果如表 3 所示。

采用 Excel 软件对铁皮石斛鲜质量、根长、根数、茎高、茎粗等 5 个考察指标进行正交试验数据直观分析,探究香蕉汁、马铃薯汁、活性炭各个水平对以上 5 个指标影响的差异性,其

收稿日期:2016-05-25

基金项目:2014 年江西中医药大学校级研究生创新专项资金(编号:JZYCI4B08)。

作者简介:董燕婧(1992—),女,江西婺源人,硕士研究生,研究方向为中药资源开发与利用。E-mail:990464593@qq.com。

通信作者:张寿文,博士,教授,研究方向为中药资源开发与利用。
E-mail:546572890@qq.com。

表 2 不同添加物对铁皮石斛生长影响的正交试验安排

试验号	A	B	C
1	3	3	1
2	3	2	3
3	1	2	1
4	4	3	2
5	4	2	4
6	2	4	1
7	2	2	2
8	2	1	3
9	4	1	1
10	2	3	4
11	1	3	3
12	1	1	4
13	3	1	2
14	4	4	3
15	1	4	2
16	3	4	4

表 3 不同添加物对铁皮石斛生长影响的正交试验结果

试验号	鲜质量 (g)	根长 (mm)	根数 (个)	茎高 (mm)	茎粗 (mm)
1	12.77	0	0	32.10	1.96
2	10.97	26.65	5	37.29	1.79
3	5.42	0	0	25.37	1.70
4	28.00	21.50	6	66.10	1.77
5	17.11	60.76	8	79.05	2.26
6	19.94	25.40	1	55.81	1.83
7	8.05	20.61	4	37.83	1.86
8	8.79	28.07	5	34.32	2.34
9	11.60	0	0	38.14	2.10
10	12.70	59.00	8	62.69	1.58
11	11.86	56.37	5	45.15	2.11
12	5.68	14.00	6	17.08	2.24
13	12.69	14.10	2	29.08	2.03
14	36.12	31.30	5	83.81	2.15
15	9.40	0	0	24.91	1.76
16	19.17	43.57	3	72.72	2.22

直观分析结果如表 4 所示。

2.1 不同添加物对鲜质量的影响

由表 4 可知,3 个因素对鲜质量的影响大小顺序依次是香蕉汁>马铃薯汁>活性炭。香蕉汁、马铃薯汁的水平 4 比水平 1、水平 2、水平 3 对鲜质量的影响更为明显,即加入 30% 的香蕉汁、马铃薯汁对鲜质量的影响要大于添加 0、10%、20% 的香蕉汁、马铃薯汁。分析不同水平的活性炭对石斛鲜质量的影响,发现添加 0.4 g/L 活性炭较有利于石斛鲜质量的生长。

2.2 不同添加物对根长和根数的影响

由表 4 可知,3 个因素对根长的影响大小顺序依次是活性炭>马铃薯汁>香蕉汁。活性炭、马铃薯汁、香蕉汁分别以水平 4、水平 3、水平 2 效果较好,即添加 0.6 g/L 活性炭、20% 马铃薯汁、10% 香蕉汁对根长的影响较好。3 个因素对根数的影响大小顺序依次是活性炭>马铃薯汁>香蕉汁,但马铃薯汁和香蕉汁对根数的影响差别不大。活性炭、马铃薯汁、香

蕉汁分别以水平 4、水平 3、水平 4 效果较好,即选择 0.6 g/L 活性炭、20% 马铃薯汁、30% 香蕉汁对根数增加作用较大。

表 4 不同添加物对铁皮石斛生长影响的正交试验直观分析结果

指标	项目	香蕉汁	马铃薯汁	活性炭
鲜质量(g)	k_1	8.09	9.69	10.19
	k_2	12.37	10.39	14.54
	k_3	13.90	16.33	16.94
	k_4	23.21	21.16	13.67
	R	15.12	11.47	6.75
根长(mm)	k_1	14.10	14.04	6.35
	k_2	33.27	27.01	14.05
	k_3	21.08	34.22	35.60
	k_4	28.39	25.07	44.33
	R	19.18	20.18	37.98
根数(条)	k_1	2.75	3.25	0.25
	k_2	4.50	4.25	3.00
	k_3	2.50	4.75	5.00
	k_4	4.75	2.25	6.25
	R	2.25	2.50	6.00
茎高(mm)	k_1	28.13	29.66	37.86
	k_2	47.66	44.89	39.48
	k_3	42.80	51.51	50.14
	k_4	66.78	59.31	57.89
	R	38.65	29.66	20.03
茎粗(mm)	k_1	1.95	2.18	1.90
	k_2	1.90	1.90	1.86
	k_3	2.00	1.86	2.10
	k_4	2.07	1.99	2.08
	R	0.17	0.32	0.24

2.3 不同添加物对茎高和茎粗的影响

由表 4 可知,3 个因素对茎高的影响大小顺序依次是香蕉汁>马铃薯汁>活性炭。香蕉汁、马铃薯汁、活性炭均以水平 4 影响最大,即香蕉汁、马铃薯汁添加量均为 30%,加入 0.6 g/L 活性炭时促进茎高的增长效果较好。3 个因素对茎粗的影响大小顺序依次是马铃薯汁>活性炭>香蕉汁。马铃薯汁、活性炭、香蕉汁分别以水平 1、水平 3、水平 4 影响最大。即不添加马铃薯汁,添加 0.4 g/L 活性炭、30% 香蕉汁对茎粗的影响效果最好。

香蕉汁虽然对根长、根数和茎粗的影响较小,但对鲜质量和茎高有明显的影 响,当用量为 30% 时效果最好,而 10% 香蕉汁对根长、根数也有促进作用。马铃薯汁对茎粗的影响最大,选择 20% 马铃薯汁对整体指标的影响较大。活性炭的用量为 0.6 g/L 时,对根长、根数有较大的影响。

对统计结果进行方差分析,分析结果如表 5 所示,香蕉汁对根长、茎粗的影响不显著,但对鲜质量、根数、茎高的影响显著。马铃薯汁对根长、茎粗的影响不大,对鲜质量和茎高的影响显著,对根数的影响不显著。活性炭对根数、根长的影响显著,对鲜质量、茎高、茎粗的影响不显著。

综述以上分析,欲促进生根、增长根长、增加根数时,可采用 $A_2B_3C_4$ 的培养基配方;欲促进苗增高时,可用 $A_4B_4C_4$ 的培养基配方,综合 3 个因素对铁皮石斛生长的影响,整体效果最佳的培养基配方为 $A_4B_3C_4$,即添加 30% 香蕉汁、20% 马铃薯汁、0.6 g/L 活性炭。就节约成本方面而言,采用 $A_2B_3C_4$ 的配方也可达到较好的效果。

表 5 不同添加物对铁皮石斛生长影响的方差分析结果

变异来源	指标	Ⅲ型平方和	自由度	均方	F 值	P 值
香蕉汁	鲜质量	487.035	3	162.345	7.835	0.017
	根长	600.379	3	200.126	0.899	0.494
	根数	16.250	3	5.417	5.000	0.045
	茎高	3 054.331	3	1 018.110	11.816	0.006
	茎粗	0.061	3	0.020	0.387	0.767
马铃薯汁	鲜质量	350.729	3	116.910	5.642	0.035
	根长	836.104	3	278.701	1.252	0.371
	根数	14.750	3	4.917	4.538	0.055
	茎高	1 902.084	3	634.028	7.359	0.020
	茎粗	0.243	3	0.081	1.541	0.298
活性炭	鲜质量	43.422	3	14.474	0.699	0.586
	根长	3 814.781	3	1 271.594	5.712	0.034
	根数	82.250	3	27.417	25.308	0.001
	茎高	1 067.203	3	355.734	4.129	0.066
	茎粗	0.181	3	0.060	1.149	0.403

3 讨论

香蕉汁和马铃薯汁对铁皮石斛组培幼苗的增殖效果较好,对茎高、茎粗有促进作用,活性炭能促进根长、根数的生长。随着香蕉汁、马铃薯汁和活性炭添加比例的增加,其对于鲜质量、茎高、茎粗的增长显著,并且根的数目也有所增多。香蕉汁和马铃薯汁比例为 10% 或 20%,活性炭为 0.2 g/L 或 0.4 g/L 的培养基都可以满足石斛苗的正常生长,叶色正常,根系较好,原球茎增殖较多;添加 30% 与添加 10% 或 20% 的香蕉汁、马铃薯汁相比,幼苗生长速度存在明显的差异,且叶色浓绿,根系发达,茎较粗;在不添加马铃薯汁、香蕉汁的培养基中,植株生长缓慢,无活性炭时铁皮石斛几乎不长根,且随着活性炭添加量的增加,根长、根数也随之增加。当香蕉汁添加量大于马铃薯汁的量时(有活性炭),铁皮石斛生长状况较好,苗生长较快较高,茎较粗,根系较发达;而马铃薯汁添加量大于香蕉汁时(有活性炭),铁皮石斛生长一般,苗细小,有根但纤细且根数少,但原球茎增殖和芽分化较多。当只添加香蕉汁时,苗生长缓慢,细小,有根但不发达。当只加马铃薯汁时植株生长一般,苗小,但原球茎增殖多。当只加活性炭时,铁皮石斛苗高细,有少量根。香蕉汁和马铃薯汁的相互作用能够促进铁皮石斛苗的生长,活性炭能够促进其根的生长。

添加马铃薯汁能够促进铁皮石斛的增殖,这与王英姿等的试验结论^[6]相似,蒋林等研究认为,香蕉中含有各种天然营养成分及各种植物生长调节物质,能够促进铁皮石斛的生长^[7-8],宋顺等也认为经香蕉汁培养的铁皮石斛组培苗生长健壮,能够生根壮苗^[9-10]。活性炭能诱导根的生长,促进根的伸长,这与许奕等的研究结论^[11]相似。彭文书等也证明了香蕉汁和马铃薯汁对生根有一定的促进作用^[12]。罗焕明等对香蕉和马铃薯也做了研究,发现香蕉能诱导生根,马铃薯能诱导芽的增殖^[13]。马铃薯和香蕉都含有丰富的营养元素,两者的相互作用给铁皮石斛试管苗提供了较为充分的营养,对其生长有促进作用。而活性炭的添加,一方面能够起到吸附作用,吸附一些不利于铁皮石斛生长的物质,另一方面也为根的生长提供暗环境,对根的生长有积极作用。

在前人研究的基础上,本试验采用正交试验进一步探索

利于铁皮石斛生长的最优培养基配比。结果表明,添加 30% 或 20% 香蕉汁、20% 或 10% 马铃薯汁、0.6 g/L 活性炭,利于铁皮石斛根的增高、增粗,整体生长状态良好;添加 30% 或 20% 马铃薯汁、20% 或 10% 香蕉汁、0.2 g/L 或 0.4 g/L 活性炭,对于铁皮石斛原球茎的增殖较好。所以,在选择壮苗生根时,可加较多香蕉汁和较少马铃薯汁与 0.6 g/L 活性炭,而在选择原球茎的增殖时,可添加较多马铃薯汁、较少香蕉汁或不加香蕉汁、0.2 g/L 活性炭。

参考文献:

[1] 吴 普,等述,孙星衍,孙 驥,等辑. 神农本草经[M]. 北京:人民卫生出版社,1982:21.

[2] 李时珍. 本草纲目(上册)[M]. 北京:人民卫生出版社,1982:1383-1384.

[3] 李 昊,吕鼎豪. 铁皮石斛药用成分研究进展[J]. 光谱实验室,2013,30(4):1845-1849.

[4] 李 娟,李顺祥,黄 丹,等. 铁皮石斛资源、化学成分及药理作用研究进展[J]. 科技导报,2011,29(18):74-79.

[5] 常美花,金亚征,王 莉. 铁皮石斛快繁技术体系研究[J]. 中草药,2012,43(7):1412-1417.

[6] 王英姿,蒋端生,蒋祖丰,等. 不同果蔬添加物对铁皮石斛茎尖组织生长的影响[J]. 湖南农业科学,2014(10):13-15.

[7] 蒋 林,丁 平,郑迎冬. 添加剂对铁皮石斛组织培养和快速繁殖的影响[J]. 中药材,2003,26(8):539-541.

[8] 刘炜娜,赖钟雄. 香蕉泥对铁皮石斛兰原球茎增殖与分化成苗的影响[C]. 全国植物组培、脱毒快繁及工厂化生产种苗技术学术研讨会. 上海:中国农业生物技术学会,2011.

[9] 宋 顺,许 奕,王必尊,等. 不同培养基成分对铁皮石斛组织培养的影响[J]. 中国农学通报,2013,29(13):133-139.

[10] 何俊平,涂小云. 不同培养基配方对铁皮石斛生根培养的影响[J]. 江苏农业科学,2013,41(2):57-59.

[11] 许 奕,宋 顺,王安邦,等. 不同培养基对铁皮石斛壮苗生根的影响及移栽条件优化[J]. 江苏农业科学,2015,43(8):247-249.

[12] 彭文书,马 莉,赵苗苗,等. 铁皮石斛组培苗生根条件优化研究[J]. 热带农业科学,2015,35(2):13-18.

[13] 罗焕明,邓瑞云,刘晓津,等. 不同添加物及浓度对铁皮石斛组织培养的影响[J]. 广东农业科学,2014,41(7):30-32.