

温度对铁皮石斛组培苗质量的影响

刘雪兰, 孙长生, 朱虹*, 李利霞, 李婷婷, 龙祥友
(贵阳药用植物园, 贵阳 550002)

[摘要] **目的:**考察温度对铁皮石斛组培苗质量的影响,为该药材的人工栽培提供参考。**方法:**将增殖阶段和生根阶段的铁皮石斛组培苗在湿度、光照强度、光照时间可控的环境条件下,设置温度分别为15,20,25,30,35℃共5个梯度进行实验,观察组培苗生长状况,利用Pearson相关性分析增殖阶段温度与苗株数、株高,生根阶段温度与株高、茎粗、叶片数、根数、根长的相关性,并对每个温度间生长指标差异性进行方差分析。**结果:**25~30℃的组培苗质量较好,表现出良好的生长和繁殖能力;Pearson相关性分析显示在增殖阶段温度跟苗株数和株高在0.01水平上显著相关;在生根阶段温度跟株高、叶片数、根数在0.01水平上显著相关。LSD多重比较显示在增殖阶段苗株数、株高的差异性明显;生根阶段叶片数、根数、株高差异性明显。**结论:**温度是影响铁皮石斛组培苗质量的关键因子,最适温度25℃。

[关键词] 铁皮石斛; 组培苗; 温度; 质量指标

[中图分类号] S723.1+3;R282.2;R282.71 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)08-0089-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015080089

Influence of Temperature on Quality of Dendrobii Officinalis Caulis Tissue Culture Seedlings LIU Xue-lan, SUN Chang-sheng, ZHU Hong*, LI Li-xia, LI Ting-ting, LONG Xiang-you (Guiyang Medical Plants Garden, Guiyang 550002, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate influence of temperature on quality of Dendrobii Officinalis Caulis tissue culture seedlings and provide a reference for artificial cultivation of this medicinal herb. **Method:** Dendrobii Officinalis Caulis tissue culture seedlings at multiplicative and rooting stage were setted in the environment of humidity, light intensity and illumination time controlled, setting temperature were 15, 20, 25, 30, 35℃, growth conditions of tissue culture seedlings were observed. Pearson correlation was analyzed, variance analysis was adopted to analyze growth index difference among each temperature. **Result:** Tissue culture seedlings's quality was good at 25-30℃ and they showed good growth and reproductive capacity. Pearson correlation analysis showed that temperature with seedling number and plant height were significantly correlated at 0.01 level in proliferation stage; temperature with plant height, leaf number and root number were significantly correlated at 0.01 level in rooting stage. LSD multiple comparison showed that difference of seedling number and plant height were obvious in proliferation stage, difference of leaf number, root number and plant height were obvious in rooting stage. **Conclusion:** Temperature is the key factor for quality of Dendrobii Officinalis Caulis tissue culture seedlings and the most suitable temperature is 25℃.

[Key words] Dendrobii Officinalis Caulis; tissue culture seedlings; temperature; quality indicators

铁皮石斛是益胃生津的滋补良药,具有抗癌和提高人体免疫力的功能^[1-3]。但该药材对生长环境要求特殊,自然环境下生长繁殖缓慢^[4-5],自然产量极为稀少,而市场需求过大,掠夺性采挖致使其野生

资源已濒临灭绝^[6-7]。利用植物组织培养方式进行铁皮石斛种苗生产,便成为快速解决这一供需矛盾的有效途径。近年已有较多学者对铁皮石斛的组织培养进行了研究^[8-10],但多以基本培养基、植物生长

[收稿日期] 20140624(005)

[基金项目] 贵阳市科技计划项目[筑科合同(2012401)社-1号];贵阳市高技术产业发展专项(2012)

[第一作者] 刘雪兰,硕士,研究实习员,从事药用植物栽培及研究,Tel:13984107105,E-mail:liuxuelan-1985@163.com

[通讯作者] *朱虹,高级工程师,从事药用植物资源研究,Tel:13985433017,E-mail:cosc006@sinlang.com

调节物质、添加物的筛选为主^[11-14], 针对某一特定环境因子对铁皮石斛组培苗质量影响的研究鲜见报道。组织培养育苗虽已被广泛接受, 但组培苗的质量会直接影响苗下田以后的生长, 且组织培养阶段的生长状况研究可为大田苗的生长环境控制提供实验依据。故本实验在可控环境下, 探讨温度对铁皮石斛组培苗质量各项指标的影响, 为该药材人工栽培环境的控制提供参考。

1 材料

GXZ-280B 型智能光照培养箱(宁波江南仪器厂)。铁皮石斛组培苗由贵阳药用植物园组培室提供, 经贵阳药用植物园孙长生高级工程师, 鉴定为兰科植物铁皮石斛 *Dendrobium officinale*。

2 方法与结果

在湿度、光照强度、光照时间可控的智能光照培养箱设置 15, 20, 25, 30, 35 °C 共 5 个梯度, 每个梯度设置 30 个平行样, 即每个梯度 30 瓶铁皮石斛组培苗, 连续培养 90 d, 利用直尺测量组培苗的株高, 游标卡尺测量组培苗的茎粗和组培苗的根长。利用 Excel 2003 和 SPSS 17.0 软件进行数据的处理及分析。

2.1 组培苗生长状况 光照培养箱内 35 °C 培养 90 d 后铁皮石斛死亡, 故该温度不做考察。其余 4 个梯度(15, 20, 25, 30 °C)的铁皮石斛组培苗生长状况各不相同, 见表 1。结果显示在增殖阶段, 苗株数在 25 °C 时最多; 株高随着温度的升高而逐渐增高, 30 °C 时株高达最大值, 这与艾娟等^[15] 研究结果一致。在生根阶段, 株高与增殖阶段结果一致, 随着温度的升高而逐渐增高, 30 °C 时株高达最大值; 叶片数也随着温度的升高而逐渐增多, 30 °C 时达最大值; 而茎粗、根数和根长均在 25 °C 时达最大值。

表 1 不同温度对铁皮石斛组培苗增殖与生根阶段质量指标的影响
Table 1 Effects of different temperatures on quality indicators of *Dendrobii Officinalis Caulis* tissue culture seedlings in proliferation and rooting stage

温度 /°C	株高 /cm	茎粗 /mm	叶片数	根数	根长	苗株数	株高 /cm
15	1.57	2.14	2.42	2.31	1.46	37.37	1.085
20	1.70	2.21	2.94	3.57	0.95	54.40	1.172
25	2.02	3.47	4.00	4.80	1.58	63.53	1.296
30	2.72	2.26	5.19	3.39	1.03	63.17	1.786

2.2 Pearson 相关性分析 使用 SPSS 17.0 软件对 4 个梯度的铁皮石斛组培苗的各项生长指标数据进行 Pearson 相关性分析, 见表 2, 3。结果显示在增殖

阶段, 温度与苗株数、株高在 0.01 水平上显著相关, 说明温度是影响苗株数及苗高的一个重要因素; 苗株数与苗高在 0.05 水平上显著相关。在生根阶段, 温度与株高、叶片数、根数在 0.01 水平上显著相关, 说明温度是影响这 3 个生长指标的关键性因素; 株高与叶片数、茎粗与根长、茎粗与根数均在 0.01 水平上显著相关; 叶片数与根数在 0.05 水平上显著相关。

表 2 不同温度对铁皮石斛组培苗增殖阶段影响的 Pearson 相关性分析

Table 2 Pearson correlation analysis of different temperatures on *Dendrobii Officinalis Caulis* tissue culture seedlings in proliferation stage

	温度	株高	苗株数
温度	1	0.870 ²⁾	0.784 ²⁾
株高		1	0.511 ¹⁾
苗株数			1

注: ¹⁾ 在 0.05 水平(双侧)上显著相关, ²⁾ 在 0.01 水平(双侧)上显著相关。表 3 同。

表 3 不同温度对铁皮石斛组培苗生根阶段影响的 Pearson 相关性分析

Table 3 Pearson correlation analysis of different temperatures on *Dendrobii Officinalis Caulis* tissue culture seedlings in rooting stage

	温度	株高	茎粗	叶片数	根数	根长
温度	1	0.857 ²⁾	0.321	0.979 ²⁾	0.532 ²⁾	-0.222
株高		1	0.125	0.912 ²⁾	0.294	-0.092
茎粗			1	0.241	0.839 ²⁾	0.521 ²⁾
叶片数				1	0.444 ¹⁾	-0.229
根数					1	0.189
根长						1

2.3 LSD 多重比较 利用 SPSS 17.0 软件对 4 个梯度铁皮石斛组培苗的各项生长指标数据进行 LSD 多重比较, 方差分析见表 4, 5。结果显示在增殖阶段, 苗株数中 15 与 20, 25, 30 °C 差异极显著; 20 与 25, 30 °C 差异显著; 25 与 30 °C 差异不显著。株高中 15 与 25, 30, 20 与 30, 25 与 30 °C 差异极显著, 20 与 25 °C 差异显著, 15 与 20 °C 差异不显著。在生根阶段, 株高中 15 与 25, 30, 20 与 30, 25 与 30 °C 均差异极显著, 20 与 25 °C 差异显著; 15 与 20 °C 差异不显著; 茎粗中 15 与 25, 20 与 25, 25 与 30 °C 差异极显著; 15 与 20, 30, 20 与 30 °C 差异不显著; 叶片数中 15, 20, 25, 30 °C 相互间均差异极显著; 根数中除去 20 与 30 °C 差异不显著外, 其他相互间均为差异极显著。根长中除去 15 与 25, 20 与 30 °C 差异不显著外, 其他相互间均差异极显著。

表 4 不同温度对铁皮石斛组培苗增殖阶段影响的 LSD 多重比较

Table 4 LSD multiple comparison for effects of different temperatures on *Dendrobii Officinalis* Caulis tissue culture seedlings in proliferation stage

因变量	温度(I)/°C	温度(J)/°C	均值(I-J)	标准误	P	95% 置信区间	
						下限	上限
苗株数	15	20	-17.03 ¹⁾	3.977	0.000	-25.329	-8.738
		25	-26.17 ¹⁾	3.977	0.000	-34.462	-17.871
		30	-25.80 ¹⁾	3.977	0.000	-34.096	-17.504
	20	25	-9.13 ¹⁾	3.977	0.033	-17.429	-0.838
		30	-8.77 ¹⁾	3.977	0.039	-17.062	-0.471
		25	0.37	3.977	0.927	-7.929	8.662
株高	15	20	-0.09	0.057	0.143	-0.205	0.032
		25	-0.21 ¹⁾	0.057	0.001	-0.330	-0.093
		30	-0.75 ¹⁾	0.057	0.000	-0.865	-0.628
	20	25	-0.13 ¹⁾	0.057	0.040	-0.244	-0.006
		30	-0.66 ¹⁾	0.057	0.000	-0.779	-0.541
		25	-0.54 ¹⁾	0.057	0.000	-0.654	-0.416

注: ¹⁾ 均值差的显著性水平为 0.05。表 5 同。

表 5 不同温度对铁皮石斛组培苗生根阶段影响的 LSD 法多重比较

Table 5 LSD multiple comparison for effects of different temperatures on *Dendrobii Officinalis* Caulis tissue culture seedlings in rooting stage

因变量	温度(I)/°C	温度(J)/°C	均值(I-J)	标准误	P	95% 置信区间	
						下限	上限
株高	15	20	-0.133	0.132	0.325	-0.409	0.142
		25	-0.453 ¹⁾	0.132	0.003	-0.729	-0.178
		30	-1.148 ¹⁾	0.132	0.000	-1.424	-0.873
	20	25	-0.320 ¹⁾	0.132	0.025	-0.596	-0.044
		30	-1.015 ¹⁾	0.132	0.000	-1.291	-0.739
		25	-0.695 ¹⁾	0.132	0.000	-0.971	-0.419
茎粗	15	20	-0.070	0.066	0.303	-0.208	0.068
		25	-1.325 ¹⁾	0.066	0.000	-1.463	-1.187
		30	-0.117	0.066	0.093	-0.255	0.021
	20	25	-1.255 ¹⁾	0.066	0.000	-1.393	-1.117
		30	-0.047	0.066	0.489	-0.185	0.091
		25	1.208 ¹⁾	0.066	0.000	1.070	1.346
叶片数	15	20	-0.630 ¹⁾	0.099	0.000	-0.836	-0.424
		25	-1.562 ¹⁾	0.099	0.000	-1.768	-1.355
		30	-2.775 ¹⁾	0.099	0.000	-2.981	-2.569
	20	25	-0.932 ¹⁾	0.099	0.000	-1.138	-0.725
		30	-2.145 ¹⁾	0.099	0.000	-2.351	-1.939
		25	-1.213 ¹⁾	0.099	0.000	-1.420	-1.007
根数	15	20	-1.262 ¹⁾	0.199	0.000	-1.677	-0.846
		25	-2.488 ¹⁾	0.199	0.000	-2.904	-2.073

续表 5

因变量	温度(I)/℃	温度(J)/℃	均值(I-J)	标准误	P	95% 置信区间	
						下限	上限
根长	20	30	-1.077 ¹⁾	0.199	0.000	-1.492	-0.661
		25	-1.227 ¹⁾	0.199	0.000	-1.642	-0.811
		30	0.185	0.199	0.364	-0.230	0.600
	25	30	1.412 ¹⁾	0.199	0.000	0.996	1.827
		15	20	0.512 ¹⁾	0.138	0.001	0.225
	20	25	-0.115	0.138	0.413	-0.402	0.172
		30	0.438 ¹⁾	0.138	0.005	0.151	0.725
		25	-0.627 ¹⁾	0.138	0.000	-0.914	-0.340
		30	-0.073	0.138	0.600	-0.360	0.214
		25	30	0.553 ¹⁾	0.138	0.001	0.266

3 讨论

试验结果显示在 15, 20 ℃ 时, 铁皮石斛组培苗的各项质量指标均未达到最大值, 表现为植株矮小、茎秆纤弱、叶片数少、叶色浅绿, 说明低温时铁皮石斛组培苗的质量不好。30 ℃ 时组培苗的质量一般, 株高与叶片数达最大值, 但茎粗值较小, 说明高温有利于铁皮石斛高度及叶片数的增长, 但会使茎秆纤弱, 不利于铁皮石斛苗以后的生长。25 ℃ 时铁皮石斛组培苗的质量较好, 具有较强的繁殖力与生理活性, 形态上表现为茎秆粗壮、叶片硬挺、叶色碧绿而有光泽、新生根较多。贵州省在每年的 4 月底至 10 份, 温度持续在约 25 ℃, 这种气候特点非常适合铁皮石斛的种植。LSD 多重比较结果表明温度对铁皮石斛组培苗的影响效果显著, 每一个梯度间差异性显著, 这也验证了温度是铁皮石斛组培苗质量的关键因素之一的观点。光照与温度的作用不能截然分开, 二者相互影响, 本文参考了前人研究结果^[3,5]并结合实际生产经验, 设定光照强度和光照时间为固定值, 单独针对温度进行了研究, 为铁皮石斛的质量控制提供参考。

[参考文献]

[1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典. 一部[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 70.
 [2] 包雪声, 顺庆生, 陈立钻. 中国药用石斛[M]. 上海: 复旦大学出版社, 2001: 13-28.
 [3] 张宇斌, 郭菊, 罗天霞, 等. 不同温度和湿度条件下光照强度对铁皮石斛光合速率的影响[J]. 北方园艺, 2013(8): 119-122.

[4] 吕献康, 徐春华, 舒小英. 3 种石斛的光合特性研究[J]. 中草药, 2004, 35(11): 1296-1298.
 [5] 鲍顺淑, 贺冬仙, 郭顺星. 可控环境下光照时间对铁皮石斛组培苗生长发育的影响[J]. 中国农业科技导报, 2007, 9(6): 90-94.
 [6] 斯金平, 诸燕, 朱玉球. 铁皮石斛人工栽培技术研究与进展[J]. 浙江林业科技, 2009, 29(6): 66-70.
 [7] 张宇斌, 罗天霞, 张习敏, 等. 湿度对铁皮石斛幼苗生长及光合作用的影响[J]. 贵州农业科学, 2013, 41(9): 79-81.
 [8] 袁正仿, 张卫明, 丁小余, 等. 铁皮石斛的组织培养研究[J]. 中国医学生物技术应用, 2002(3): 58-60.
 [9] 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.
 [10] 周俊辉, 钟雪锋, 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.
 [11] 孟志霞, 房慧勇, 郭顺星, 等. 营养因子对铁皮石斛幼苗生长的影响[J]. 中国药学杂志, 2008, 43(9): 665-668.
 [12] 梁淑颖, 令杰. 组培条件下铁皮石斛幼芽分蘖和生根的影响因素研究[J]. 北方园艺, 2013(1): 112-114.
 [13] 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.
 [14] 赵兴兵, 吴维佳, 庞璐, 等. 珍稀濒危药材铁皮石斛组培快繁关键技术研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2012, 32(3): 27-20.
 [15] 艾娟, 严宁, 胡虹, 等. 温度对铁皮石斛生长及生理特性的影响[J]. 云南植物研究, 2010, 32(5): 420-426.

[责任编辑 刘德文]