

文章编号: 1674-7054(2013)04-0374-07

# 铁皮石斛组织培养快速繁殖技术

王先花<sup>1,2</sup> 陈云<sup>1,2</sup> 谭啸<sup>2</sup> 张发坤<sup>1</sup> 李娟玲<sup>2</sup> 刘国民<sup>2</sup>

(1. 琼中宝元堂南药种植有限公司 海南 琼中 570203; 2. 海南大学 苦丁茶研究所 海口 570228)

**摘要:** 以铁皮石斛的未成熟种子作为外植体, 成功建立了无菌材料, 研究了不同用量的椰子水(CW)、马铃薯泥和 NAA 等影响因子对铁皮石斛增殖培养的影响。结果表明: 在  $1/2 MS + \varphi(CW) = 10\% + NAA 0.1 mg \cdot L^{-1}$  的培养基上, 原球茎增殖效果良好, 增殖系数高达 145.28; 铁皮石斛组培苗在壮苗培养阶段对外源 IBA, NAA 和 IAA 的质量浓度变化均不敏感, 在  $0 \sim 2.50 mg \cdot L^{-1}$  范围内, 植株的长势长相差异不明显, 其中 IBA 质量浓度为  $0.75 mg \cdot L^{-1}$  和 NAA 质量浓度为  $0.5 mg \cdot L^{-1}$  时, 植株的长势相对要好一些, 而且个体间相对较均匀;  $1/2 MS + w(\text{香蕉泥}) = 10\% + NAA 1.0 mg \cdot L^{-1}$  的培养基生根壮苗效果较好。

**关键词:** 铁皮石斛; 原球茎; 组培快繁

中图分类号: S 567.23<sup>+9</sup>; S 682.31

文献标志码: A

铁皮石斛 (*Dendrobium officinale* Kimura et Migo) 是我国传统名贵中药材, 贵州黔西南州一带称黑节草<sup>[1]</sup>。铁皮石斛对热病伤阴、胃阴不足、慢性萎缩性胃炎、心脑血管疾患、防癌抗癌、防老抗衰等有良好的效果, 其加工品“铁皮枫斗”在国际市场上售价可达 1 300 ~ 3 000 美元  $\cdot kg^{-1}$ <sup>[2-3]</sup>。由于铁皮石斛对生长环境要求苛刻, 生长缓慢, 产量低, 繁殖系数小, 自然更新能力差, 再加上生态环境恶化, 长期以来只采不种, 以及过度的采挖等原因, 已导致铁皮石斛野生资源几近枯竭, 在原分布区内已很难找到野生植株<sup>[4-7]</sup>。铁皮石斛为多年生附生草本植物, 是极其珍贵的中药材。由于铁皮石斛在自然条件下繁殖极为缓慢, 分株繁殖或扦插繁殖等传统方法提供的种苗亦极为有限, 故铁皮石斛的种苗供应远不能满足生产上的需要。为保护这一珍贵中药品种, 前人已对铁皮石斛的种子和茎尖离体培养技术进行了研究<sup>[8-14]</sup>, 但大多数情况下试管苗增殖系数较低、试管苗的茎细小、细弱、移栽成活率不高, 在一定程度上影响了铁皮石斛组培苗大规模工厂化生产的速度和生产成本。笔者在前人研究的基础上, 以铁皮石斛的未成熟种子为外植体材料, 研究了不同激素条件和不同种类与浓度的有机附加物对铁皮石斛原球茎增殖和试管苗生根壮苗等方面的影响, 其研究结果可为铁皮石斛的工厂化育苗提供技术支撑。

## 1 材料与方 法

**1.1 材料** 实验材料为 8 成熟的铁皮石斛蒴果(图版 1)。采自云南省普洱市林科所铁皮石斛种植园内, 该种植园种植的铁皮石斛来自云南省文山州广南县境内的野生原种—“广南种”(图版 2, 3), 是我国石斛产业界公认的优良种质资源。

### 1.2 方 法

**1.2.1 表面消毒及接种操作** 将铁皮石斛的蒴果先用自来水冲洗干净, 再置于洗洁精溶液中摇洗 3 次, 每次摇洗 5 min; 取出蒴果用自来水洗净<sup>[15]</sup>, 沥干水后, 在超净工作台上先用  $\varphi = 75\%$  的酒精消毒 3 min; 倒去酒精, 再用  $w = 0.15\%$  的升汞消毒 15 min; 倒去升汞消毒液, 用无菌水冲洗 4 ~ 5 次, 沥干备用。接种

收稿日期: 2013-09-20

基金项目: 海南省重大科技研发专项项目(琼科[2010]73号)

作者简介: 王先花(1986-), 女, 海南琼海人, 海南琼中宝元堂南药种植有限公司助理农艺师。

通信作者: 刘国民(1955-), 男, 湖南祁东人, 教授, 博士, 博士生导师. E-mail: 13005082258@163.com

时,将经过表面消毒的蒴果放在无菌的不锈钢盘上,切除头尾约0.5 cm部分并弃去,然后将蒴果中段沿纵轴切开,取出种子,均匀地接种到培养基表面。

1.2.2 培养条件 培养室温度为(25±2)℃,以日光灯为光源,光照强度为2 000~2 500 lx,每天照光10 h。

1.2.3 培养基配方

1) 初代培养基 (用于种子无菌萌发) 改良KC大量元素+MS微量元素+肌醇100 mg·L<sup>-1</sup>+烟酸0.5 mg·L<sup>-1</sup>+盐酸硫胺素1.0 mg·L<sup>-1</sup>+盐酸吡哆素0.5 mg·L<sup>-1</sup>+甘氨酸2.0 mg·L<sup>-1</sup>+φ(CW)=20%+6-BA 0.1 mg·L<sup>-1</sup>+蔗糖20 g·L<sup>-1</sup>+卡拉胶7 g·L<sup>-1</sup>, pH5.8。

2) 原球茎增殖培养基 培养基基本组分为:1/2 MS无机盐+肌醇100 mg·L<sup>-1</sup>+烟酸0.5 mg·L<sup>-1</sup>+盐酸硫胺素1.0 mg·L<sup>-1</sup>+盐酸吡哆素0.5 mg·L<sup>-1</sup>+甘氨酸2.0 mg·L<sup>-1</sup>+蔗糖25 g·L<sup>-1</sup>+卡拉8 g·L<sup>-1</sup>胶+活性炭1 g·L<sup>-1</sup>, pH 5.8。各个处理中不同有机附加物和NAA的用量为:①NAA 0.1 mg·L<sup>-1</sup>+φ(CW)=5%;②NAA 0.1 mg·L<sup>-1</sup>+φ(CW)=10%;③NAA 0.1 mg·L<sup>-1</sup>+φ(CW)=15%;④NAA 0.1 mg·L<sup>-1</sup>+φ(CW)=20%;⑤NAA 0.1 mg·L<sup>-1</sup>+φ(CW)=25%;⑥φ(CW)=10%+w(马铃薯泥)=10%;⑦φ(CW)=10%;CK(不添加任何有机附加物或外源激素)。每个处理接种15瓶,每瓶接种5个原球茎。

3) 壮苗培养基 供试的3种生长素(IBA, NAA, IAA)的质量浓度梯度均为:0, 0.25, 0.50, 0.75, 1.00, 1.25, 1.50, 2.00, 2.50 mg·L<sup>-1</sup>。除外源激素不同之外,各个处理的培养基中的其他组分相同,即培养基的基本组分为:1/2 MS无机盐+肌醇100 mg·L<sup>-1</sup>+烟酸0.5 mg·L<sup>-1</sup>+盐酸硫胺素1.0 mg·L<sup>-1</sup>+盐酸吡哆素0.5 mg·L<sup>-1</sup>+甘氨酸2.0 mg·L<sup>-1</sup>+蔗糖20 g·L<sup>-1</sup>+卡拉胶7 g·L<sup>-1</sup>+活性炭1 g·L<sup>-1</sup>, pH5.8(见表1)。

表1 不同种类和不同用量的外源生长素用于铁皮石斛壮苗培养的实验设计

Tab. 1 An experimental design for plantlet-invigorating culture of *Dendrobium officinale* with different exogenous auxines at various concentrations

处理编号 Treatment codes	IBA	处理编号 Treatment codes	NAA	处理编号 Treatment codes	IAA
A-1	0.25	B-1	0.25	C-1	0.25
A-2	0.50	B-2	0.50	C-2	0.50
A-3	0.75	B-3	0.75	C-3	0.75
A-4	1.00	B-4	1.00	C-4	1.00
A-5	1.25	B-5	1.25	C-5	1.25
A-6	1.50	B-6	1.50	C-6	1.50
A-7	2.00	B-7	2.00	C-7	2.00
A-8	2.50	B-8	2.50	C-8	2.50
CK		无外源生长素 No exogenous auxin			

4) 生根培养基 1/2 MS无机盐+肌醇100 mg·L<sup>-1</sup>+烟酸0.5 mg·L<sup>-1</sup>+盐酸硫胺素1.0 mg·L<sup>-1</sup>+盐酸吡哆素0.5 mg·L<sup>-1</sup>+甘氨酸2.0 mg·L<sup>-1</sup>+蔗糖20 g·L<sup>-1</sup>+卡拉胶7.5 g·L<sup>-1</sup>+活性炭1.5 g·L<sup>-1</sup>+w(香蕉泥)=10%+NAA 1.0 mg·L<sup>-1</sup>, pH5.8。

## 2 结果与分析

2.1 铁皮石斛未成熟种子的萌发与无菌材料的建立 将铁皮石斛的未成熟种子接种在初代培养基上,培养约15 d后,用肉眼可观察到在培养基表面有浅绿色的小团粒(直径0.5~1.5 mm)。这些浅绿色颗粒系原球茎体,或为少数原球茎体已萌发出子叶和第1片真叶而形成的无菌实生小苗。由于接种时未成熟种子未能完全地分散开来,故形成肉眼可见的直径为1.0~2.5 mm的浅绿色球状颗粒。再经过20~25 d的培养,大部分原球茎体已萌发,形成了具1~2片真叶的幼苗,同时也产生了一些新增殖的原球茎体。这些幼苗和原球茎体相互堆挤在一起,占满了初代培养基整个表层及表层上约1.5 cm厚的空间(图版

4)。此时,铁皮石斛无菌材料的建立即告完成,应该及时将无菌实生小苗或原球茎体转接到新配制的增殖培养基或者生根壮苗培养基上进行培养。

2.2 有机附加物和外源 NAA 对铁皮石斛原球茎体增殖的影响 建立了铁皮石斛的无菌材料后,在 1/2 MS 培养基的基础上附加不同用量的 CW  $\mu$ (马铃薯泥) = 10% 等作为调控因子,研究了有机物和外源 NAA 对铁皮石斛原球茎体增殖的影响(见表 2)。

表 2 不同用量有机附加物和外源 NAA 对铁皮石斛原球茎增殖培养的影响

Tab. 2 The effects of different concentrations of organic complements and exogenous NAA on the proliferation culture of the protocorm-like bodies in *Dendrobium officinale*

处理号 Codes of treatments	有机附加物和外源 NAA 用量 Concentrations of organic complements and of exogenous NAA	接种的原球茎/个 Number of protocorm-like bodies inoculated	增殖出的原球茎/个 Number of protocorm-like bodies proliferated	增殖系数 Proliferating coefficients
①	$\varphi(\text{CW}) = 5\% + \text{NAA } 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$	50	3 023	60.46
②	$\varphi(\text{CW}) = 10\% + \text{NAA } 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$	50	7 264	145.28
③	$\varphi(\text{CW}) = 15\% + \text{NAA } 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$	50	3 385	67.70
④	$\varphi(\text{CW}) = 20\% + \text{NAA } 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$	50	2 976	59.52
⑤	$\varphi(\text{CW}) = 25\% + \text{NAA } 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$	50	2 918	58.36
⑥	$\varphi(\text{CW}) = 10\% + w(\text{马铃薯泥}) = 10\%$	50	2 358	47.16
⑦	$\varphi(\text{CW}) = 10\%$	50	6 067	121.34
CK	0	50	2 373	47.46

注:每瓶接种 5 个原球茎体,培养 90 d 后再统计(每个处理统计 10 瓶)

Note: Five protocorm-like bodies were inoculated in each culture vessel, The protocorm-like bodies proliferated after 90 days of culture were counted up, 10 vessels each treatment

从表 2 可以看出,铁皮石斛的原球茎体具有较强的增殖能力。即使在 CK 空白处理中(即不加椰子水、马铃薯等有机物或其他任何外源激素)经 90 d 培养后,其增殖系数仍可高达 47.46。在 NAA  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的条件下,CW 的最佳用量为  $\varphi = 10\%$ 。在  $\varphi(\text{CW}) = 10\% + \text{NAA } 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  处理中(即处理②),铁皮石斛原球茎体的增殖系数高达 145.28。该处理中每瓶接入 5 个原球茎体,经 90 d 培养后,其中最多的 1 瓶增殖出的原球茎体数多达 893 个,统计 5 瓶,共增殖出 7 264 个原球茎体。而在只附加  $\varphi(\text{CW}) = 10\%$  处理中(处理⑦),原球茎体的增殖系数为 121.34。这表明,附加一定质量浓度的 NAA 对于原球茎体的增殖也有促进作用。在含有  $\varphi(\text{CW}) = 10\%$  的培养基中,加入  $w = 10\%$  的马铃薯泥之后(处理⑥),原球茎的增殖受到强烈的抑制,增殖系数降低到略低于 CK 的水平,只有 47.16。虽然 CW 对于铁皮石斛原球茎的增殖具有非常显著的促进作用,但用量过多同样会抑制原球茎体的增殖,当  $\varphi(\text{CW}) = 25\%$  时,原球茎体的增殖系数为 58.36。

2.3 不同质量浓度和不同种类的外源生长素对铁皮石斛壮苗培养的影响 铁皮石斛未成熟种子经初代培养基培养后直接获得的无菌实生小苗,或者从原球茎体增殖培养过程中获得的新增殖形成的原球茎体经萌发后形成的组培小苗,由于个体太小,不宜将其直接转接到生根培养基上培养。应该经过一个壮苗培养阶段,使小苗进一步发育成长,形成比较健壮的植株之后,才可转入生根培养。为了研究不同质量浓度和不同种类的外源生长素对铁皮石斛组培苗壮苗培养的影响,设定了以 1/2 MS 为基本培养基,在有机物、糖、卡拉胶用量以及 pH 等条件完全相同的条件下,以 IBA, NAA, IAA 作为供试的外源生长素,以不加外源激素的处理作为对照(CK)。经过 80 d 培养后,3 种供试外源生长素不同质量浓度各梯度处理的铁皮石斛组培苗的生长发育情况见表 3。

表3 不同种类和不同质量浓度的生长素对铁皮石斛试管苗壮苗培养的影响  
Tab.3 The effects of different exogenous auxins and their various concentrations on the plantlets-invigoration culture of *Dendrobium officinale*

处理编号 Treatment code	生长素/( mg · L <sup>-1</sup> ) Exogenous auxins and their concentrations	各处理组及 CK 的培养效果 Culture effects in 3 treatment groups and CK
A-1	IBA 0.25	<p>接种的每个单株培养 80 d 后,一般每丛增殖到 3.0~4.0 株,株高 3.5~4.0 cm;每丛生根 8~9 条,根长 1.2~2.0 cm,根比较细,直径约 1 mm。A-3 在 8 个处理中植株的长势相对旺盛一些,且苗比较整齐均匀,株高 4.0~4.5 cm,每株 3.5~4.0 片叶。其余 7 个处理相互间,以及与 CK 间,植株的长势长相差异不甚明显</p> <p>Each plantlet inoculated for 80 days produced generally 3.0-4.0 plantlets/cluster, 3.5-4.0 cm high; 8-9 roots/cluster, 1.2-2.0 cm long, relatively small, about 1 mm in diameter. Plants treated with A-3 grew stronger among the 8 treatments, uniform in growth and size, 4.0-4.5 cm high with 3.5-4.0 leaves per plant. No obvious difference was observed in growth vigor and size among the other 7 treatments and between each of these treatments and CK</p>
A-2	IBA 0.50	
A-3	IBA 0.75	
A-4	IBA 1.00	
A-5	IBA 1.25	
A-6	IBA 1.50	
A-7	IBA 2.00	
A-8	IBA 2.50	
B-1	NAA 0.25	<p>长势长相类似于 IBA 处理组,即各处理间植株的长势长相差异不明显,相比较而言, B-2 处理的植株较之组内其他各处理植株较旺盛一些,且相对均匀。各处理中植株的株高一般在 4.0~4.5 cm 范围;接种的每个单株发展到每丛 3~4 株;每丛发根 8~9 条,根长一般为 1.5~2.0 cm,各处理植株的生长发育状况与对照(CK)的差异不明显</p> <p>Growth was similar to that of the IBA treatment group, namely the growth vigor was not significantly different between treatments. Comparatively, B-2 treated plants grew stronger and relatively uniform, compared with those in other treatments within this treatment group. The plants in all the treatments grew 4.0-4.5 cm high. Each plant inoculated produced 3-4 plantlets/cluster, 8-9 roots/cluster with the root length of 1.5-2.0 cm. No significant difference was observed in the plant growth between each treatment and CK</p>
B-2	NAA 0.50	
B-3	NAA 0.75	
B-4	NAA 1.00	
B-5	NAA 1.25	
B-6	NAA 1.50	
B-7	NAA 2.00	
B-8	NAA 2.50	
C-1	IAA 0.25	<p>株高一般在 3.5~4.5 cm 范围内;转接时接种的单株发展到每丛 3~4 株;每株有 4~5 片叶,最多的有 6 片叶,叶片长度为 1.2~1.5 cm。该处理组内 8 个处理植株的长势长相相互间,以及与对照(CK)间的差异不明显。与 IBA 处理组和 NAA 处理组内植株的生长发育状况亦大致相同</p> <p>Plantlets grew 3.5-4.5 cm high; each plantlet inoculated when transferred produced 3-4 plantlets/cluster; each plantlet had 4-5 leaves, 6 leaves at most, and the leaf length was 1.2-1.5 cm long. The plantlets showed no obvious difference in growth between the 8 treatments within this treatment group and between each treatment and CK. This is similar to that of the plantlets treated with IBA and NAA at different concentrations</p>
C-2	IAA 0.50	
C-3	IAA 0.75	
C-4	IAA 1.00	
C-5	IAA 1.25	
C-6	IAA 1.50	
C-7	IAA 2.00	
C-8	IAA 2.50	
CK	不添加任何外源激素 No exogenous auxins	<p>在株高、叶数、叶色、根系发育及丛生苗数量等方面与附加 IBA, NAA, IAA 的各个处理无明显差异</p> <p>No obvious difference was observed in plant height, leaf number, leaf color, root development and plantlet number per cluster between CK and each treatment with IBA, NAA or IAA</p>

2.3.1 IBA 处理组 由表 3 可知,从 CK 到 A-8 处理,即 IBA 质量浓度从 0 逐步递增至 2.50 mg · L<sup>-1</sup>,植株在上势长相方面的差别不是很大。继代转接时,每瓶均接入 5 单株。80 d 后,每株形成了 1 小丛,每丛 3~4 株,发根 8~9 条。根长 1.2~2.0 cm,根比较细小,直径约 1 mm。相对而言,A-3 处理( IBA 0.75 mg · L<sup>-1</sup>)的植株长势比较旺盛,且比较均匀。各个处理的株高在 3.5~4.5 cm,每株有 3~4 片叶,叶片长度 1.2~1.5 cm。A-8 处理( IBA 2.50 mg · L<sup>-1</sup>)中有少量植株基部形成有原球茎体,且已萌发出

叶 这可能是由于 IBA 质量浓度高的缘故。

总之 在本实验的质量浓度范围内( $0 \sim 2.50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) ,铁皮石斛组培苗植株在株高 ,茎粗 ,叶数 ,叶片长度 ,根系发育等方面的长势长相均无明显差异。

2.3.2 NAA 处理组 NAA 处理组的情况与 IBA 处理组的类似 ,即从 CK 到处理 B-8 植株的长势、长相均没有太大的区别。但相对而言 ,B-2 处理( $\text{NAA } 0.50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 的植株比较粗壮 ,也相对较均匀。类似于 IBA 处理组 ,各个质量浓度梯度中的组培植株均已发根;每株均增殖出 2~4 株丛生苗 ,每丛芽发根 8~10 条 根长 1.5~2.0 cm。

2.3.3 IAA 处理组 IAA 处理组的情况与 IBA 处理组及 NAA 处理组的情况类似 ,IAA 质量浓度在  $0 \sim 2.50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的范围内 ,植株的长势、长相差别不特别明显。各处理的株高均在 3.5~4.5 cm 范围;转接时每瓶接入的 5 个单株 ,经壮苗培养后 ,每株都能形成 2~3 株新生的增殖苗。每株有 4~5 片叶 ,多达 6 片叶。叶片的长度为 1.2~1.5 cm。IAA 处理组的 8 个处理中 ,植株的高度、茎粗 ,叶数等均没有太明显的差异。这表明 ,在壮苗培养阶段 ,在  $0 \sim 2.50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  范围内 ,铁皮石斛对于 IAA 质量浓度变化的反应不敏感。

2.4 生根培养 将经过壮苗培养的铁皮石斛组培苗(图版 5) ,在超净工作台上打开瓶盖 ,将每瓶中的所有培养物用无菌镊子全部转移到无菌的钢盘上 ,从中挑选出比较粗壮的无菌苗个体转接到新配制的生根培养基上。经过 60 d 生根培养 ,可以获得理想的发根植株(图版 6,7) ,植株高度可达 4~5 cm ,每片叶长 1.2~1.5 cm ,最长者可达 2.5 cm ,叶片最宽处为 0.3~0.5 cm。

生根培养基中加有  $\text{NAA } 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + w$  (香蕉泥) = 10%。在只含有  $\text{NAA } 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的培养基中 ,例如本研究中壮苗阶段的 B-4 处理(培养基的其他组分基本一样) ,发根和壮苗的效果远远不如同时加入  $\text{NAA } 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + w$  (香蕉泥) = 10% 的处理。由此可见  $w = 10\%$  的香蕉泥对铁皮石斛的根系发育具有良好的促进作用。

### 3 结 论

1) 以铁皮石斛的未成熟种子作为外植体 ,在培养条件适宜的情况下 ,可以高效地建立高质量的无菌材料。

2) 铁皮石斛的原球茎体本身具有较强的增殖能力 ,在无任何外源激素或有机附加物的 1/2 MS 培养基上 ,经 90 d 培养 ,其增殖系数可达 47.46。

3) 椰子水(CW) 对铁皮石斛原球茎的增殖有强烈的促进作用 ,其适宜的用量为  $\varphi = 10\%$ 。在附加有  $\varphi(\text{CW}) = 10\%$  的 1/2 MS 培养基上 ,原球茎的增殖系数为 121.34。低质量浓度的 NAA( $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 与  $\varphi = 10\%$  的 CW 配合使用 ,原球茎的增殖效果良好 ,增殖系数可达 145.28。

4) 马铃薯泥对 CW 的促增殖作用有强烈的抵消效应。在附加  $\varphi = 10\%$  CW 的 1/2 MS 培养基中 ,再加入  $w = 10\%$  的马铃薯泥后 ,可导致铁皮石斛原球茎体的增殖系数骤降为 47.16 ,甚至比空白处理的增殖系数(47.46) 略低。

5) 用于铁皮石斛原球茎增殖培养的最佳培养基配方为:1/2MS(无机盐) + 肌醇  $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  + 烟酸  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  + 盐酸硫胺素  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  + 盐酸吡哆素  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  + 甘氨酸  $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  + NAA  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  +  $\varphi(\text{CW}) = 10\%$  + 蔗糖  $25 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  + 卡拉胶  $8 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  + 活性炭  $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  ,pH 5.8。

6) 在壮苗培养阶段 ,铁皮石斛无菌苗对 NAA ,IBA ,IAA 等 3 种生长素的质量浓度变化不敏感 ,在  $0 \sim 2.50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  范围内 ,各处理之间植株的长势、长相均无明显差异。

7)  $w = 10\%$  的香蕉泥对铁皮石斛的根系发育具有良好的促进作用。单纯加入  $\text{NAA } 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的处理 ,其生根和壮苗的效果远不如同时加入  $w = 10\%$  的香蕉泥 和  $\text{NAA } 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的处理。



图版说明

1. 未成熟的铁皮石斛蒴果; 2~3. ‘广南种’铁皮石斛组培苗移栽约 1 年时的生长状况; 4. 未成熟种子经过 60 d 培养后, 获得的原球茎体, 其中大部分已萌发出 1~2 片真叶; 5. 原球茎体经 60 d 壮苗培养后, 获得的铁皮石斛增殖苗; 6. 在含有  $w = 10\%$  香蕉泥的生根培养基上培养了 50 d 的生根苗; 7. 洗净了培养准备炼苗移栽的铁皮石斛组培苗

## Explain of Plate

1. The immature capsales of *Dendrobium officinale*; 2-3. The growth situations of the plants of *D. officinale* about 12 month old after the transplantation; 4. Lots of protocorm-like bodies were obtained from the immature seeds after a 60 d culture. Most of which formed 1-2 true leaves; 5. The proliferated plantlets of *D. officinale*, obtained from the protocorm-like bodies after a 60 d culture; 6. The rooting plantlets of *D. officinale* cultured for 50d on the rooting medium with 10% banana jam; 7. Some vessel plantlets of *D. officinale*. The medium stucked of the base plant of the plantlets was cleanly washed away for transplantation

## 参考文献:

- [1]陈瑞蕊,林先贵,施亚琴.药用石斛及其组培技术研究概要[J].江苏农业科学,2002(5):65-66.
- [2]张明,夏鸿西,张玉进,等.石斛组培研究进展[J].中国中药杂志,2002,25(6):323-326.
- [3]唐桂香,黄福灯,周伟军.铁皮石斛的种胚萌发及其离体繁殖研究[J].中国中药杂志,2005,30(20):1583-1586.
- [4]朱艳,秦民坚.铁皮石斛茎段诱导丛生芽的研究[J].中国野生植物资源,2003,22(2):56-57.
- [5]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.
- [6]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):539-540.
- [7]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.
- [8]王春.石斛兰组织培养及快繁技术研究[J].浙江林业科技,2002(2):38-40.
- [9]李小军,刘石泉,潘维陵,等.香蕉提取物对霍山石斛试管苗壮苗的影响[J].江苏大学学报:自然科学版,2004,25(6):469-472.
- [10]张志良.植物生理学实验指导[M].第2版.北京:高等教育出版社,1994.
- [11]沈保安.中国常用中草药石斛[M].合肥:安徽科学技术出版社,1992.
- [12]李立安.石斛组培技术的改进[J].植物杂志,1990(2):30.
- [13]曾宋君,程式君.石斛的试管苗快速繁殖[J].中药材,1996,19(10):490-491.
- [14]刘瑞驹,蒙爱东,邓锡青,等.铁皮石斛试管苗快速繁殖的研究[J].药学学报,1988,23(8):636-640.
- [15]徐云鹏,于力文.霍山石斛种子试管苗的培养[J].植物生理学通讯,1984,25(4):35.

## In-vitro rapid propagation of *Dendrobium officinale* Kimura et Migo

WANG Xianhua, CHENG Yun, TAN Xiao, ZHANG Fakun, LI Juanling, LIU Guomin  
(1. Qiongzong Baoyuantang Southern Medicinal Herbs Plantation Co., Ltd., Qiongzong, Hainan 570203, China;  
2. Kudingcha Research Institute, Hainan University, Haikou 570228, China)

**Abstract:** The immature seeds of *Dendrobium officinale* Kimura et Migo were used as explants. The explants were cultured on media supplemented with such factors as coconut water (CW), potato puree and NAA (all with different concentrations) to investigate the effect of these factors on proliferation culture of *D. officinale* Kimura et Migo. The explants cultured on  $1/2$  MS +  $\varphi$ (CW) = 10% + NAA  $0.1 \text{ mg L}^{-1}$  produced most protocorm-like bodies with a multiplication coefficient being as high as 145.28. The plantlets were not sensitive to the changes of the concentrations of exogenous auxins, such as IBA, NAA and IAA at the stage of invigorating culture, and no obvious difference was observed in plant growth vigor in the treatments at the concentrations ranging from 0 to  $2.50 \text{ mg L}^{-1}$ . However, the plantlets treated with IBA at  $0.75 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  or NAA at  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  grew better in vigor and uniform among individuals. The plantlets cultured on the rooting medium  $1/2$  MS supplemented with  $w = 10\%$  banana puree and NAA  $1.0 \text{ mg L}^{-1}$  produced better roots and grew stronger.

**Key words:** *Dendrobium officinale* Kimura et Migo; protocorm-like body; in-vitro rapid propagation