

doi:10.11937/bfyy.20182317

报春石斛组培快繁技术体系的建立

仇 硕, 赵 健, 赵志国, 夏 科, 李 菲, 唐凤鸾

(广西植物功能物质研究与利用重点实验室, 广西壮族自治区中国科学院 广西植物研究所, 广西 桂林 541006)

摘 要:以报春石斛蒴果为外植体,通过对种子无菌萌发和原球茎诱导、原球茎增殖及丛生芽诱导、生根壮苗以及移栽驯化的研究,以期建立报春石斛的组培快繁技术体系。结果表明:培养基 MS+6-BA $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +NAA $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +蔗糖 $20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 最适报春石斛种子无菌萌发和原球茎的诱导;原球茎增殖及丛生芽诱导的最佳培养基为 MS+6-BA $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +NAA $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +香蕉泥 $100 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ +蔗糖 $20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,继代培养 45 d,增殖系数达 8.2;最佳生根壮苗培养基为 MS+6-BA $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +KT $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +NAA $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +香蕉泥 $100 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ +蔗糖 $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ +活性炭 $1.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,培养 3 个月,生根率达 100%,根系较长,苗壮;3—4 月是桂林地区移栽报春石斛组培苗的最佳季节,生根苗在栽培基质Ⅰ(树皮:水苔:珍珠岩:蛭石=10:2:1:1,体积比)的长势好于栽培基质Ⅱ(树皮:珍珠岩:蛭石=10:1:1,体积比),成活率为 92.3%。

关键词:报春石斛;无菌播种;原球茎增殖;生根壮苗;移栽驯化

中图分类号:S 682.1⁺5 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2019)03-0078-06

报春石斛(*Dendrobium primulinum* Lindl.) 属兰科石斛属(*Dendrobium*) 多年生草本植物。我国产自云南南部至西南部,生于海拔 1 100~1 700 m 的山地林中树干上^[1]。报春石斛花多色艳,花姿优雅,具有较高的观赏价值,也是杂交育种的重要亲本之一。此外,报春石斛作为傣药有悠久的历史,具有清热除湿、消肿止痛、杀虫止痒、补土滋水等功效^[2],梅媛等^[3]也报道了报春石斛含有生物碱类的化学成分。报春石斛虽然未被中国药典收载,但民间常作为石斛药用品种广

泛使用,致使目前野生资源数量剧减。众所周知,石斛类兰花传统分株繁殖种苗速度很慢,为了满足市场需求,报春石斛种苗组培快繁技术已见初步报道,张莹等^[4-5]利用茎尖和茎段为外植体研究了组培快繁技术及离体培养再生体系。李媛等^[6]以无菌播种苗茎段为外植体,发现不定芽诱导的适宜培养基为 $1/2\text{MS}+6\text{-BA } 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}+\text{NAA } 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}+\text{椰乳 } 100 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$,诱导率 90%;生根培养基为 $\text{MS}+\text{NAA } 0.75 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}+\text{土豆泥 } 100 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,生根率高达 100%。然而,利用茎段做外植体或诱导不定芽存在增殖系数较低的问题,目前报道不足 $4.0^{[4-6]}$ 。随着石斛属植物无菌播种技术的成熟,规模化生产多采取“无菌播种及原球茎诱导-原球茎增殖及丛生芽诱导-丛生苗生根壮苗-移栽驯化”的技术体系进行优良种苗的繁育^[7-9]。据报道,报春石斛种子最适萌发温度为 25°C ,适宜原球茎诱导和幼苗分化的培养基为 $\text{KC}+\text{NAA } 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1[10]}$ 。但通过无菌播种进行规模化快繁种苗的技术体系仍有待完善,特别是关于原球茎增殖技术的研究尚鲜见报道。鉴于

第一作者简介:仇硕(1977-),男,博士,副研究员,现主要从事园林植物栽培生理和分子生物学等研究工作。

E-mail:qiushuo001@163.com.

责任作者:唐凤鸾(1978-),女,本科,副研究员,现主要从事植物生物技术等研究工作。E-mail:1251657759@qq.com.

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31560567);广西壮族自治区科技攻关资助项目(桂科攻 1598006-3-11);广西植物研究所基本业务费资助项目(桂植业 15001)。

收稿日期:2018-09-25

此,该研究以报春石斛自交结实的种子为试材,研究无菌播种及原球茎诱导、原球茎增殖及丛生芽诱导、生根壮苗以及移栽驯化等规模化快繁种苗的关键技术,旨在建立一套通过无菌播种规模化生产种苗的快繁技术体系,为其商业化推广奠定基础,也为资源保护提供解决方法。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试报春石斛于2013年引自云南文山,种植于桂林市雁山区广西植物研究所兰花种质资源圃,2015年4—5月进行人工自交授粉,10月采收种子。

1.2 试验方法

1.2.1 报春石斛种子消毒及接种

2015年10—11月,将快成熟的未开裂蒴果采回后,用洗洁精清洗蒴果表面,自来水冲洗30 min,置于超净工作台上,用75%(V/V)酒精浸泡1 min,无菌水冲洗1次,0.1% HgCl₂ 浸泡15 min,无菌水冲洗5次,备用。

1.2.2 种子萌发和原球茎诱导

将经过消毒的石斛种子接种于种子萌发和原球茎诱导培养基上,基本培养基选用MS, NAA 0.1 mg·L⁻¹, 琼脂 5.0 g·L⁻¹, 蔗糖 20 g·L⁻¹, 6-BA 浓度分别设置为1.0、2.0、4.0 mg·L⁻¹, 共3个配方, pH 5.8。每个配方播种20瓶。播种后置于组培室暗培养,待种子萌动变绿后转到光下培养。

1.2.3 原球茎增殖和丛生芽的诱导

将萌发的原球茎转接到原球茎增殖和丛生芽诱导的培养基中。1)以MS+NAA 0.1 mg·L⁻¹+蔗糖 20 g·L⁻¹为基础配方,开展6-BA浓度对原球茎增殖和丛生芽诱导效果研究,6-BA浓度分别为1.0、2.0 mg·L⁻¹。2)在培养基MS+6-BA 1.0 mg·L⁻¹+NAA 0.1 mg·L⁻¹+蔗糖 20 g·L⁻¹的基础上,观察附加物100 g·L⁻¹的马铃薯泥或香蕉泥对原球茎增殖和丛生芽诱导的影响。除个别处理组因组培瓶较大,每瓶接种约200个原球茎,其它处理接种约150个原球茎,每个处理接种20瓶,重复3次, pH 5.8。培养条件, LED光源,光照时间12 h、光强1 500~2 000 lx、温

度(25±2)℃。继代培养45 d左右,随机挑选无污染的5瓶统计增殖系数,取平均值。

1.2.4 生根壮苗

当丛生芽长出2~3片叶子、高2~3 cm,转接到生根壮苗培养基中,培养基配方为1)1/2MS+NAA 0.8 mg·L⁻¹+香蕉 200 g·L⁻¹+蔗糖 30 g·L⁻¹+活性炭 1.0 g·L⁻¹;2)MS+6-BA 1.0 mg·L⁻¹+KT 0.5 mg·L⁻¹+NAA 0.2 mg·L⁻¹+香蕉 100 g·L⁻¹+蔗糖 30 g·L⁻¹+活性炭 1.0 g·L⁻¹。每瓶接种15~20个丛生芽,每个处理接种30瓶以上,重复3次, pH 5.8。培养条件, LED光源,光照时间12 h、光强1 500~2 000 lx、温度(25±2)℃。培养90 d后,随机挑选无污染的10瓶统计生根率、根长及株高等,取平均值。

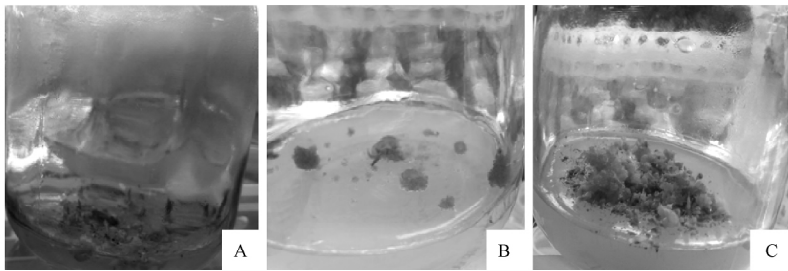
1.2.5 移栽驯化

将生根试管苗分别于2016年12月至2017年1月和2017年3—4、6—7、9—10月共4个时间段进行移栽驯化。室外练苗15~30 d,洗净根部培养基,移栽到经经甲基托布津消毒处理的移栽基质中,移栽基质Ⅰ,树皮:水苔:珍珠岩:蛭石=10:2:1:1(V/V);移栽基质Ⅱ,树皮:珍珠岩:蛭石=10:1:1(V/V)。用底部带孔的塑料育苗盘(54 cm×28 cm)或塑料杯(9 cm×10 cm)种植,每处理种植60株(丛)以上,3个重复。置于塑料大棚内,夏季用70%遮阳网遮阴。移栽6个月后统计成活率及生长情况。

2 结果与分析

2.1 报春石斛种子萌发及原球茎的诱导

经过20~30 d的暗培养,报春石斛种子逐渐变绿,再经过30~50 d,膨大形成原球茎,观察统计种子在各种培养基中的萌发情况。结果发现,报春石斛在含不同浓度6-BA的培养基中均能萌发,其中含1.0 mg·L⁻¹ 6-BA培养基的报春石斛种子萌发生长情况最好,其次是含2.0 mg·L⁻¹ 6-BA培养基(图1A和图1B)。然而随着6-BA浓度的升高,报春石斛种子在含6-BA 4.0 mg·L⁻¹的培养基中容易黄化,甚至出现原球茎死亡的现象(图1C)。种子变绿后,再过30 d左右,原球茎能够增殖甚至长出丛生芽(图1A)。



注: A. $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 6-BA 培养基; B. $2.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 6-BA 培养基; C. $4.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 6-BA 培养基。
Note: A. The medium with $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 6-BA; B. The medium with $2.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 6-BA; C. The medium with $4.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 6-BA.

图1 报春石斛无菌播种

Fig. 1 Aseptic seed germination of *D. primulinum*

2.2 报春石斛原球茎增殖及丛生芽的诱导

由表1可知,原球茎分别接种到含6-BA 1.0 、 $2.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的培养基上,继代培养45 d后,原球茎增殖系数均较高,分别达到7.5、10.6,生长情况良好,但丛生芽生长相对较慢(图2A、D)。而在含同样6-BA $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的培养基中分别添加 $100\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 马铃薯泥或香蕉泥后,增殖系数变化不是很大,但丛生芽生长状况更好,特别是添加 $100\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 香蕉泥,叶色深绿,苗壮,表现最好,增殖系数达到8.2(图2C)。因此,4个原球茎增殖及丛生芽的诱导培养基配方效果均比较好,其中添加 $100\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的香蕉泥效果最佳,即MS+6-BA $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +NAA $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +蔗糖 $20\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ +香蕉 $100\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

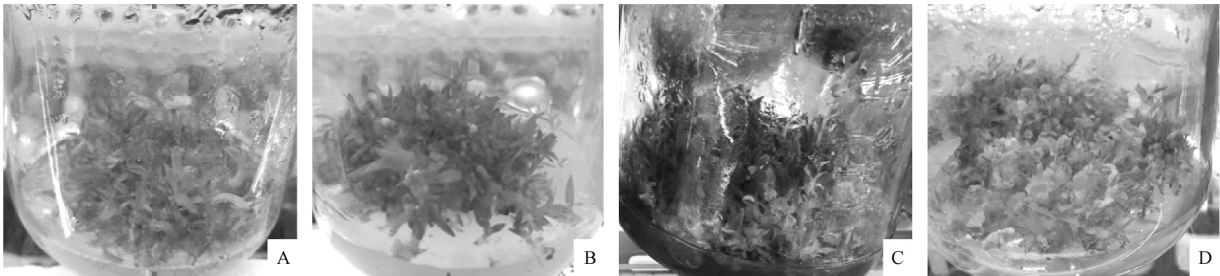
表1 报春石斛原球茎增殖及丛生芽的诱导结果

Table 1 Results of proliferation of protocorm and shoot induction of *D. primulinum*

序号 No.	6-BA /($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	附加物及浓度 Appendices and concentration /($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	增殖系数 Coefficient of propagation	生长情况 Growth
1	1.0	0	$7.5\pm0.95\text{bc}$	良好,生长较慢
2	1.0	马铃薯泥 100	$6.5\pm0.50\text{cd}$	良好,生长快
3	1.0	香蕉泥 100	$8.2\pm0.45\text{b}$	最好,生长快, 叶色深绿
4	2.0	0	$10.6\pm0.75\text{a}$	良好,生长较慢

注:数据为平均值±标准差, $n=3$;同列数据中不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。下同。

Note: The data are the means of every plot±standard deviations, $n=3$; different lowercase letters in each column indicate significant differences at 0.05 level. The same as below.



注: A. MS+6-BA $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +NAA $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +蔗糖 $20\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$; B. MS+6-BA $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +NAA $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +马铃薯泥 $100\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ +蔗糖 $20\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$; C. MS+6-BA $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +NAA $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +香蕉泥 $100\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ +蔗糖 $20\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$; D. MS+6-BA $2.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +NAA $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +蔗糖 $20\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

Note: A. MS+6-BA $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +NAA $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +sugar $20\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$; B. MS+6-BA $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +NAA $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +mashed potatoes $100\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ +sugar $20\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$; C. MS+6-BA $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +NAA $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +mashed banana $100\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ +sugar $20\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$; D. MS+6-BA $2.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +NAA $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +sugar $20\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$.

图2 报春石斛原球茎增殖及丛生芽的诱导

Fig. 2 Proliferation of protocorm and shoot induction of *D. primulinum*

2.3 报春石斛生根壮苗试验

选择生长健壮、苗长 2~3 cm 的报春石斛丛生芽接种到生根壮苗培养基中,1 个月和 3 个月

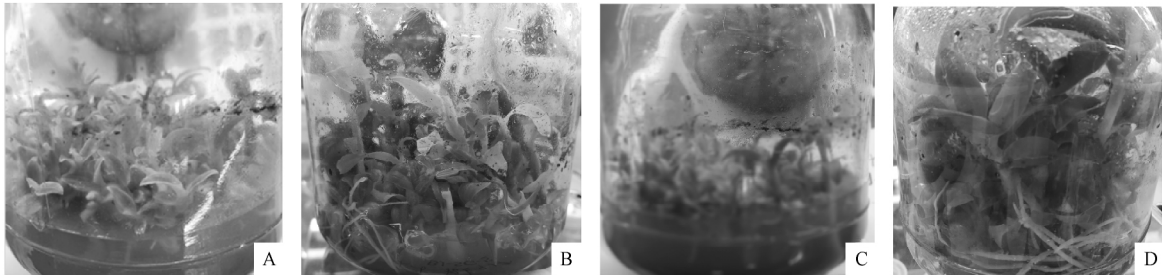
后分别观察统计组培苗的生根壮苗情况(表 2)。随着培养时间的延长,报春石斛丛生芽在 1/2MS+NAA 0.8 mg·L⁻¹+香蕉泥 200 g·L⁻¹+蔗糖 30 g·L⁻¹+活性炭 1.0 g·L⁻¹ 培养基上生根

率虽为 100%,但植株生长较差,根系短,根长为 6.8 cm,株高为 5.7 cm(图 3A、B)。而在培养基 MS+6-BA 1.0 mg·L⁻¹+KT 0.5 mg·L⁻¹+NAA 0.2 mg·L⁻¹+香蕉泥 100 g·L⁻¹+蔗糖 30 g·L⁻¹+活性炭 1.0 g·L⁻¹ 的生长则表现越来越好,组培苗叶片呈深绿色,100%生根,根长为 10.6 cm,株高为 9.5 cm(图 3C、D)。

表 2 报春石斛生根壮苗统计结果

Table 2 The results of strengthening seedling and rooting of *D. primulinum*

基本培养基 Basal medium	激素及浓度 Phytohormone and concentration /(mg·L ⁻¹)	附加物及浓度 Appendices and concentration /(g·L ⁻¹)	生根率 Rooting rate/%	根长 Root length/cm	株高 Plant height/cm
1/2MS	NAA 0.8	香蕉泥 200	100	6.8±0.45b	5.7±0.76b
MS	6-BA 1.0+KT 0.5+NAA 0.2	香蕉泥 100	100	10.6±0.62a	9.5±1.21a



注:A. 1/2MS+NAA 0.8 mg·L⁻¹+蔗糖 30 g·L⁻¹+活性炭 1.0 g·L⁻¹,1 个月;B. 1/2MS+NAA 0.8 mg·L⁻¹+蔗糖 30 g·L⁻¹+活性炭 1.0 g·L⁻¹,3 个月;C. MS+6-BA 1.0 mg·L⁻¹+KT 0.5 mg·L⁻¹+NAA 0.2 mg·L⁻¹+香蕉泥 100 g·L⁻¹+蔗糖 30 g·L⁻¹+活性炭 1.0 g·L⁻¹,1 个月;D. MS+6-BA 1.0 mg·L⁻¹+KT 0.5 mg·L⁻¹+NAA 0.2 mg·L⁻¹+香蕉泥 100 g·L⁻¹+蔗糖 30 g·L⁻¹+活性炭 1.0 g·L⁻¹,3 个月。

Note:A. 1/2MS+NAA 0.8 mg·L⁻¹+sugar 30 g·L⁻¹+activated carbon 1.0 g·L⁻¹,1 month;B. 1/2MS+NAA 0.8 mg·L⁻¹+sugar 30 g·L⁻¹+activated carbon 1.0 g·L⁻¹,3 months;C. MS+6-BA 1.0 mg·L⁻¹+KT 0.5 mg·L⁻¹+NAA 0.2 mg·L⁻¹+mashed banana 100 g·L⁻¹+sugar 30 g·L⁻¹+activated carbon 1.0 g·L⁻¹,1 month;D. MS+6-BA 1.0 mg·L⁻¹+KT 0.5 mg·L⁻¹+NAA 0.2 mg·L⁻¹+mashed banana 100 g·L⁻¹+sugar 30 g·L⁻¹+activated carbon 1.0 g·L⁻¹,3 months.

图 3 报春石斛生根壮苗培养

Fig. 3 Strengthening seedling and rooting of *D. primulinum*

2.4 报春石斛移栽驯化

报春石斛生根后的瓶苗移栽后 6 个月统计成活率(表 3),结果发现,3—4 月移栽的报春石斛,成活率最高,2 种移栽基质配方的成活率均超过 90%,且长势很好(图 4A、B);其次是 9—10 月移栽,移栽基质 I 和移栽基质 II 的成活率分别为 85.7%和 75.0%(图 4C);6—7 月移栽成活率均在 55%左右,生长势很差,这可能与该季节高温高湿容易导致病害有关;12 月至翌年 1 月的移栽成活率分别为 66.7%和 61.1%,但成活后生长势

较弱,表现很差,这可能与冬季移栽后生长恢复较慢而影响了后期生长(图 4D)。此外,含有少量水苔移栽基质 I 表现稍好于不含水苔的移栽基质 II。

3 结论与讨论

石斛属植物大多具有较高的药用价值或观赏价值,因而针对该属植物的组培快繁技术报道较多,特别是号称“十大仙草”之一的铁皮石斛已经实现规模化生产^[9,11]。报春石斛目前研究组培快



注:A. 3—4月移栽,移栽基质Ⅰ;B. 3—4月移栽,移栽基质Ⅱ;C. 9—10月移栽,移栽基质Ⅰ;D. 12月至翌年1月移栽,移栽基质Ⅰ。

Note: A. Transplanting of tissue culture seedlings from March to April with medium I; B. Transplanting of tissue culture seedlings from March to April with medium II; C. Transplanting of tissue culture seedlings from September to October with medium I; D. Transplanting of tissue culture seedlings from December to next January with medium I.

图4 报春石斛组培苗移栽驯化

Fig 4 Transplanting and domestication of tissue culture seedlings of *D. primulinum*

表3 报春石斛组培苗移栽驯化

Table 3 Transplanting and domestication of tissue culture seedlings of *D. primulinum*

移栽时间	移栽基质	成活率	生长情况
Transplanting time	Transplanting medium	Survival rate/%	Growth
3—4月	移栽基质Ⅰ	92.3±0.91a	好
	移栽基质Ⅱ	91.4±1.32ab	好
6—7月	移栽基质Ⅰ	57.7±3.02fg	很差
	移栽基质Ⅱ	54.1±1.86gh	很差
9—10月	移栽基质Ⅰ	85.7±1.35c	较好
	移栽基质Ⅱ	75.0±2.24d	较好
12月至翌年1月	移栽基质Ⅰ	66.7±3.68e	很差
	移栽基质Ⅱ	61.1±2.82ef	很差

注:移栽基质Ⅰ. 树皮:水苔:珍珠岩:蛭石=10:2:1:1;移栽基质Ⅱ. 树皮:珍珠岩:蛭石=10:1:1。

Note: media I. pine bark: sphagna: perlite: vermiculite=10:2:1:1; media II. pine bark: perlite: vermiculite=10:1:1.

繁主要以茎段为外植体诱导,具有能够较好保持母体优良性状的优点,但诱导率较低(不足50%),比较浪费材料^[4-5]。随着石斛属以及兰科其它植物越来越多无菌播种技术的成功,发现通过无菌播种规模化快繁种苗更简单、快捷,而且育苗成本更低^[12-15]。鉴于此,报春石斛无菌播种技术也受到重视,余乐^[10]报道了报春石斛无菌播种技术,发现原球茎诱导率达到90%左右,还发现不添加激素或者激素浓度过高虽能诱导萌发,但诱导率降低,或者萌发时间推迟,甚至出现原球茎死亡的现象。该研究发现,在NAA为 $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 不变的情况下,报春石斛种子萌发质量随6-BA浓度的升高而降低,于 $6\text{-BA } 1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度下

表现最好,而高浓度($6\text{-BA } 4.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$)下会出现原球茎死亡的现象。

增殖系数的高低是组培快繁的关键技术之一。该研究结果表明,原球茎在含 $6\text{-BA } 1.0$ 、 $2.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度以及 $100\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 马铃薯或香蕉的培养基中生长60 d后,原球茎增殖系数达到6.5以上,远高于前人利用茎段进行增殖的增殖系数(不足4.0)^[4-6]。该研究还筛选了最适原球茎增殖和丛生芽诱导的培养基,即 $\text{MS}+6\text{-BA } 1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}+\text{NAA } 0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}+\text{蔗糖 } 20\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}+\text{香蕉 } 100\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$,原球茎增殖系数达到约8.2(继代培养45 d),且丛生芽生长表现良好。石斛属植物组培苗瓶内生根相对较易,未见不能生根的报道,该试验筛选的培养基 $\text{MS}+6\text{-BA } 1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}+\text{KT } 0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}+\text{NAA } 0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}+\text{香蕉 } 100\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}+\text{蔗糖 } 30\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}+\text{活性炭 } 1.0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 更适合报春石斛丛生苗的生根壮苗培养,生根率100%,根系长,组培苗健壮,叶片深绿色。

前人对报春石斛移栽驯化的研究表明,组培苗移栽到湿润的水苔中或者 $1/3$ 水苔+ $1/3$ 锯末+ $1/3$ 珍珠岩作基质,成活率均达到90%^[4-6]。然而,桂林地区阴雨天气较多,特别是高温高湿的夏季,容易引起石斛属植物根系和假鳞茎腐烂^[16],因而不宜利用水苔做基质。为此该试验选择了少用或不用水苔,同时发现在桂林地区3—4月最适合移栽报春石斛,成活率高于90%,含少

量水苔的移栽基质Ⅰ(树皮:水苔:珍珠岩:蛭石=10:2:1:1)成活率稍高于不含水苔的移栽基质Ⅱ(树皮:珍珠岩:蛭石=10:1:1)。

参考文献

- [1] 中国科学院《中国植物志》编委会. 中国植物志[M]. 1999:108.
- [2] 国家中医药管理局《中华本草》编委会. 中华本草·傣药卷[M]. 上海:上海科学技术出版社,2005.
- [3] 梅媛,叶庆华,杨培明,等. 报春石斛化学成分研究[J]. 中国医药工业杂志,2014,45(3):224-228.
- [4] 张莹,王雁,李振坚. 报春石斛的组织培养与快速繁殖[J]. 植物生理学通讯,2007,43(4):749-750.
- [5] 张莹,王雁,李振坚. 报春石斛再生体系的建立[J]. 浙江林学院学报,2009,26(4):603-606.
- [6] 李媛,朱丹红,潘会堂,等. 3种石斛兰以茎段为外植体的离体快繁技术[J]. 东北林业大学学报,2013,41(8):77-81.
- [7] 孙永玉,李恒安,闫红,等. 齿瓣石斛的无菌播种和组织培养[J]. 植物生理学通讯,2009,45(10):1017-1018.
- [8] 陈小强,新楠,孙宁,等. 龙石斛种子萌发及原球茎增殖的研究[J]. 种子,2015,34(10):34-38.
- [9] 张华通,孙同高,林晓萍,等. 铁皮石斛种子组织培养研究[J]. 林业与环境科学,2016,32(6):40-43.
- [10] 余乐,流苏,金钗,报春石斛种子非共生萌发以及流苏石斛离体保存的研究[D]. 重庆:西南大学,2009.
- [11] 杨柳平,刘畅庆,赵仁发,等. 铁皮石斛种子诱导原球茎组培快繁体系的研究[J]. 广东农业科学,2012,48(7):54-57.
- [12] 郑晓君,叶静,管常东,等. 兰科植物种子萌发研究进展[J]. 北方园艺,2010,34(19):206-209.
- [13] 付传明,赵志国,黄宁珍,等. 铁皮石斛无菌播种产业化繁育技术研究[J]. 广西植物,2012,32(2):238-242.
- [14] 叶秀仙,黄敏玲,林榕燕,等. 素心建兰无菌播种快繁技术研究[J]. 福建农业学报,2015,30(10):939-943.
- [15] 仇硕,赵志国,赵健,等. 翅萼石斛组织培养及快繁技术研究[J]. 广东农业科学,2018,45(9):48-52.
- [16] HAO Z, QI G, QING F G, et al. First report of stem and root rot of the medicinal herb *Dendrobium officinale* (Orchidaceae) caused by *Ceratobasidium* sp. AG-R in Guangxi, China[J]. Plant Disease, 2017, 101(9):1679-1680.

Establishment of Tissue Culture and Rapid Propagation System of *Dendrobium primulinum*

QIU Shuo, ZHAO Jian, ZHAO Zhiguo, XIA Ke, LI Fei, TANG Fengluan

(Guangxi Key Laboratory of Functional Phytochemicals Research and Utilization/Guangxi Institute of Botany, Guangxi Zhuang Autonomous Region and Chinese Academy of Sciences, Guilin, Guangxi 541006)

Abstract: In order to establish a rapid propagation system of *D. primulinum*, immature seeds of *Dendrobium primulinum* Lindl. were used as explants for tissue culture, and mediums for aseptic seed germination, subculture of protocorm, rooting and growth of strong plantlets were screened. The results showed that the medium MS+6-BA 1.0 mg·L⁻¹+NAA 0.1 mg·L⁻¹+sugar 20 g·L⁻¹ was optimum for seed germination. The optimum subculture medium that for proliferation of protocorm and shoot induction was MS+6-BA 1.0 mg·L⁻¹+NAA 0.1 mg·L⁻¹+mashed banana 100 g·L⁻¹+sugar 20 g·L⁻¹, the propagation coefficient was 8.2 after subcultured 45 days. The optimum rooting medium was MS+6-BA 1.0 mg·L⁻¹+KT 0.5 mg·L⁻¹+NAA 0.2 mg·L⁻¹+mashed banana 100 g·L⁻¹+sugar 30 g·L⁻¹+activated carbon 1.0 g·L⁻¹, the rooting rate reached 100% and the roots had higher quality and more quantity after cultured 90 days. The best time for the transplantation of root regeneration plants was March to April in Guilin area, the rooted plants grew better in media I (pine bark:sphagna:perlite:vermiculite=10:2:1:1) than that in media II (pine bark:perlite:vermiculite=10:1:1), and the survival rate was 92.3%.

Keywords: *Dendrobium primulinum*; aseptic seed germination; proliferation of protocorm; strengthening seedling and rooting; transplanting and domestication