

研究报告

Research Report

‘丹霞’铁皮石斛的组织培养与快速繁殖

包英华* 韩伟 白音 石海英 郑秋桦

韶关学院英东生命科学院, 韶关, 512005

* 通信作者, 463508864@qq.com

摘 要 为了解决‘丹霞’铁皮石斛的市场供需矛盾, 本研究利用植物组织培养技术, 采用 10 种不同培养基培养‘丹霞’铁皮石斛种子, 比较分析其种子萌发、原球茎形成和组培苗生长发育情况。结果表明, ‘丹霞’铁皮石斛种子活力为 89.54%, 原球茎在 1/2 MS+20%马铃薯培养基上的生长发育良好, 种子培养 49 d 后形成原球茎。其株高、分蘖数、根长和根数等指标分别可达 6.68 cm、1.96 株、5.16 cm 和 5.88 条, 均高于其他培养基。在栽后 115 d 的统计成活率可达 99.45%。说明培养基 1/2 MS+20%马铃薯适合于‘丹霞’铁皮石斛的组培苗培养和快速繁殖。本研究为‘丹霞’铁皮石斛的工厂化育苗提供技术支撑。

关键词 ‘丹霞’铁皮石斛, 培养基, 组织培养, 快速繁殖

Tissue Culture and Rapid Propagation of 'Danxia' *Dendrobium officinale*

Bao Yinghua* Han Wei Bai Yin Shi Haiying Zheng Qiuhua

Yingdong College of Life Sciences, Shaoguan University, Shaoguan, 512005

* Corresponding author, 463508864@qq.com

DOI: 10.13271/j.mpb.017.001616

Abstract In order to solve the market supply and demand contradiction of 'Danxia' *Dendrobium officinale*, plant tissue culture technology was used in this study, the seed of 'Danxia' *Dendrobium officinale* was cultivated on the 10 kinds of culture medium to discuss the seed germination, the formation of protocorms, and the growth of tissue culture seedlings in Northern Guangdong. The results showed that the seed vigor of 'Danxia' *D. officinale* in northern Guangdong is 89.54%, and the protocorm grew well on 1/2 MS+20% potato medium, and the protocorm was formed after 49 days of seed culture. The protocorms in 1/2 MS+20% potato culture medium grew best. The indexes such as plant height, number of tillers, root length and number of roots were 6.68 cm, 1.96, 5.16 cm and 5.88, respectively, which were higher than other media. And the rate of survival 99.45% is the highest 115 days after transplantation. So 1/2 MS+20% potato is fit for the tissue cultured seedling of 'Danxia' *D. officinale* in northern Guangdong. This study provided technical support for the industrialized seedling of 'Danxia' *D. officinale*.

Keywords 'Danxia' *Dendrobium officinale*, Culture medium, Tissue culture, Rapid propagation

铁皮石斛(*Dendrobium officinale* Kimura et Migo)为兰科(Orchidaceae)石斛属(*Dendrobium*)多年生附生型草本植物, 是常用名贵中药材, 具有益胃生津, 滋阴清热之功效, 用于治疗阴伤津亏、胃阴不足、阴虚火旺和目暗不明病症(中华人民共和国药典委员会, 2015, 中国医药科技出版社, pp.282-283)。野生‘丹霞’

铁皮石斛生长在广东省韶关市东北部, 在海拔 100~150 m 区域, 以陡崖的陆相红层地貌和赤壁丹崖为特色的“丹霞地貌”的悬崖上。野生‘丹霞’铁皮石斛通常由若干丛集聚在一起, 沿着水平线带状或片状分布。生长‘丹霞’铁皮石斛的岩石表面被一层白色地衣和少量植被所覆盖, 岩石腐化较严重, 表面成黑色, 周

基金项目: 本研究由广东省基础研究及应用研究重大项目(2016KZDXM010)、广东省科技计划项目(2013B040200015)、韶关市科技计划项目(韶科(2015) 72 号)和韶关学院新课程专项项目(SYJY20181918)共同资助

引用格式: Bao Y.H., Han W., Bai Y., Shi H.Y., and Zheng Q.H., 2019, Tissue culture and rapid propagation of 'Danxia' *Dendrobium officinale*, Fenzi Zhiwu Yuzhong (Molecular Plant Breeding), 17(5): 1616-1623 (包英华, 韩伟, 白音, 石海英, 郑秋桦, 2019, ‘丹霞’铁皮石斛的组织培养与快速繁殖, 分子植物育种, 17(5): 1616-1623)

围植被很少,铁皮石斛几乎完全在直射光下生长。

‘丹霞’铁皮石斛形态特征与其他居群铁皮石斛品种有着明显的差异,其茎紫红色;叶片紫绿色,茎和叶片多斑点,叶鞘脉紫红色;节不显著;花黄绿色,唇瓣具紫红色点状斑块。近年来,‘丹霞’铁皮石斛不断被采挖,其野生资源逐渐减少,处于濒危边缘。利用植物组织培养技术繁殖‘丹霞’野生铁皮石斛,即可提高其自然资源可持续发展和合理有效利用,有利于本土特色的铁皮石斛工厂化生产和大面积种植,打造地方特色的优质铁皮石斛品牌,对韶关市石斛产业的快速发展均具有重要的现实意义。

目前,关于不同居群铁皮石斛的组织培养研究比较多(刘瑞驹等, 1988; 蒋林等, 2003; 唐桂香等, 2005; 罗吉凤等, 2006; 白美发和黄敏, 2008, 安徽农业科学, 36(36): 15802-15803; 郑志仁等, 2008; 常美花等, 2012; 李莹等, 2012; 罗焕明等, 2014, 广东农业科学, 41(14): 30-32; 杨平飞等, 2016; 玉屏等, 2017, 中国林业产业, 3: 310-312),但尚未见‘丹霞’野生铁皮石斛的组织培养快速繁殖的相关报道(何平荣等, 2009)。虽然铁皮石斛的组织培养快速繁殖技术已逐渐成熟,但不同品种对培养基的要求不同,不同激素或无激素培养基对不同铁皮石斛品种的效应也有所差异。本研究以‘丹霞’野生铁皮石斛的果实为实验材料,对其进行种子活力测定,原球茎形成过程研究和设计10种培养基将原球茎进行组培苗培育研究,探讨‘丹霞’野生铁皮石斛种子的活力、原球茎形成时间和形成方式、不同培养基对组培苗的株高、茎粗、分蘖数、叶数、根长和根数等指标的影响情况,以期为‘丹霞’野生铁皮石斛的快速繁殖研究和可持续利用提供实验依据,同时为韶关石斛产业化发展提供技术支撑。

1 结果与分析

1.1 ‘丹霞’铁皮石斛的果实形态、种子特点和活力测定

‘丹霞’铁皮石斛的果实表皮带有紫黑或者紫灰颜色,不太饱满,形状不均匀,较短,较瘦(表 1)。种子微小,长约 312.50 μm,宽约 99.00 μm,长宽比为 3.19。种子活率达到 89.54%(表 2)。

1.2 ‘丹霞’铁皮石斛的种胚萌发与原球茎形成

‘丹霞’铁皮石斛的种子接种于 1/2MS+20%马铃薯培养基上,进行原球茎培养。培养 3 d 后种子逐渐变成黄绿色。在解剖镜下观察发现,接种后种子很快膨胀,种胚和种皮不断膨大,颜色由褐色变成黄绿色再变成绿色,10 d 后种胚明显膨大且逐渐转绿。测量结果表明,培养 14 d 之内,种胚长宽比较大,但培

表 1 ‘丹霞’铁皮石斛果实特点

Table 1 The characteristics of fruits of 'Danxia' *D. officinale*

颜色	饱满度	形状	平均长(cm)	平均宽(cm)
Colour	Satiation	Shape	Average length (cm)	Average width (cm)
青绿色,黄绿色,常 见紫黑色	不饱满 Not full	不均匀 Uneven	3.74±0.74	0.80±0.18
Blue green, yellow green, purple black		shape		

养 21 d 以上,种胚形状变为球形,28 d 时直径达到最大(约 72.40 μm),正是种胚萌发时期。种胚萌发后直径变大,49 d 时种胚直径不产生变化(表 3)。“丹霞”铁皮石斛种胚萌发方式为先变绿色、再突破种皮(约从种皮的中央突破),原球茎形态为球形(表 4; 图 1)。

1.3 ‘丹霞’铁皮石斛的组培苗生长情况

‘丹霞’铁皮石斛原球茎形成后,转接于 10 种培养基上,进行分化和组培苗培养。培养结果表明,培养基 2、培养基 3、培养基 4 和培养基 10 上,原球茎分化出芽效果好,无根苗长势好,整齐,颜色为深绿色(表 5),适合于原球茎分化培养。

‘丹霞’铁皮石斛无根苗长到 1.0 cm 时,分别转接于相同培养基上,共转接 2 次。组培苗长到 5 cm 以上,可观察比较其生长特征。结果表明,培养基 1、培养基 2、培养基 7、培养基 8、培养基 9 和培养基 10 上的组培苗长势比较好,茎较粗壮;叶片颜色和根颜色在 10 种培养基上差别不大(表 6; 图 2)。组培苗株高、茎粗、分蘖数、叶数、根长和根数等指标在 10 种培养基上,存在显著差异。其中培养基 2 上的组培苗株高、分蘖数、根长和根数等指标均高于其他培养基,达到 6.68 cm、1.96 株、5.16 cm 和 5.88 条(表 7)。

1.4 ‘丹霞’铁皮石斛组培苗的栽后成活率

‘丹霞’铁皮石斛组培苗,在栽后 115 d 的统计结果表明,培养基 2 上培育出的组培苗成活率可达 99.45%,培养基 1、培养基 3、培养基 4 和培养基 10 上培育出的组培苗成活率均为 90%以上,培养基 5、培养基 6、培养基 7、培养基 8、培养基 9 培育出的组培苗栽后死亡率较高(表 8; 图 3)。

2 讨论

2.1 种子活力对‘丹霞’铁皮石斛组织培养快速繁殖的影响

一般情况下,萌发率和活力指数是评价种子活

表 2 ‘丹霞’铁皮石斛种子特点和活力测定

Table 2 The characteristics and test of vigor of seeds of 'Danxia' *D. officinale*

种子平均长(μm)	种子平均宽(μm)	种子长宽比	平均种子总数(粒)	有活力种子总数(粒)	无活力种子总数(粒)	种子活率(%)
Seeds average length (μm)	Seeds average width (μm)	Seeds length-width ratio	Seeds average number (granule)	Vigorous seeds (granule)	Unvital seeds (granule)	Seeds rate of survival (%)
312.50±30.57	99.00±12.65	3.19±0.44	118.60±11.23	106.20±8.80	12.40±2.46	89.54

表 3 不同培养时间对‘丹霞’铁皮石斛种胚直径的变化情况

Table 3 The variation of embryo diameter of 'Danxia' *D. officinale* in different culture time

培养时间(d)	种胚长(μm)	种胚宽(μm)	种胚长宽比	直径(μm)
Time (d)	Embryo length (μm)	Embryo width (μm)	Embryo length-width ratio	Diameter (μm)
7	313.33±32.04	105.83±11.58	2.98±0.33	—
14	213.50±35.83	178.00±34.25	1.21±0.93	—
21	—	—	—	70.70±8.16
28	—	—	—	72.40±7.83
35	—	—	—	43.10±6.45
42	—	—	—	48.40±6.59
49	—	—	—	56.40±9.74

注: —: 种子培养 21 d 后形状变为球形,不需再测量其长和宽,直接测量直径即可

Note: —: After 21 days of seed embryo culture, the shape becomes spherical, no longer measuring its length and width, the diameter can be directly measured

表 4 ‘丹霞’铁皮石斛的种胚萌发与原球茎形态

Table 4 The embryo germination and form of protocorms of 'Danxia' *D. officinale*

种胚萌发方式	种胚突破种皮的方式	原球茎的形态(有芽状的)	原球茎的形态	叶原基形成的时间
Way of embryo germination	Way of sprouted from testa	Form of protocorms (gemmiform)	Form of protocorms	Time of leaf primordium formed
先变绿后突破种皮	约从种皮的中央突破	球形, 椭圆偏长	球形	种皮褪去一两天
First turn green and then break the seed coat	Approximately from the center of the seed coat breakthrough	Spheroid, ellipse slants long	Spheroid	The seed coat faded for a day or two

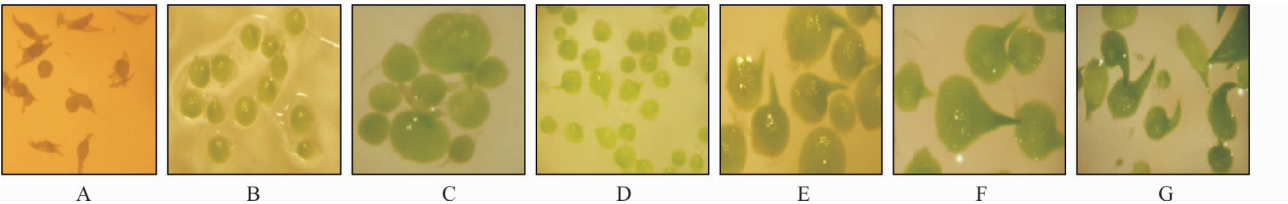


图 1 ‘丹霞’铁皮石斛种胚萌发过程

注: 解剖镜下 10×3.5 观察; A: 种胚培养 12 d; B: 种胚培养 17 d; C: 种胚培养 22 d; D: 种胚培养 27 d; E: 种胚培养 32 d; F: 种胚培养 37 d; G: 种胚培养 42 d

Figure 1 The germination process of embryo of 'Danxia' *Dendrobium officinale*

Note: Observation on anatomical lens 10×3.5; A: Seed embryo was cultured for 12 days; B: Seed embryo was cultured for 17 days; C: Seed embryo was cultured for 22 days; D: Seed embryo was cultured for 27 days; E: Seed embryo was cultured for 32 days; F: Seed embryo was cultured for 37 days; G: Seed embryo was cultured for 42 days

力强弱的主要指标。吴汉花(2012)认为种子活力也可以反映种子潜在的质量表现。本试验研究得出, ‘丹霞’铁皮石斛种子活力达到 89.54%, 在无激素的 1/2 MS+20%马铃薯培养基上无菌播种后, 具有活力的种子, 培养 21 d 后发育成球形, 49 d 后均能萌发出原球茎, 萌发方式为从种皮的中央突破, 这与流苏石

表 5‘丹霞’铁皮石斛原球茎在不同培养基上的生长发育情况
Table 5 The growth and development of protocorms of 'Danxia' *D. officinale* in different kinds of culture mediums

项目	培养基种类									
Item	Culture medium									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
长势	一般	良好	良好	良好	一般	一般	一般	一般	一般	良好
Growth situation	General	Good	Good	Good	General	General	General	General	General	Good
整齐度	较整齐	整齐	整齐	整齐	不整齐	不整齐	不整齐	不整齐	不整齐	整齐
Uniformity	More regular	Regular	Regular	Regular	Irregular	Irregular	Irregular	Irregular	Irregular	Regular
颜色	浅绿色	深绿色	深绿色	深绿色	浅绿色	浅绿色	浅绿色	浅绿色	浅黄色	深绿色
Colour	Light green	Dark green	Dark green	Dark green	Light green	Light green	Light green	Light green	Light yellow	Dark green

表 6‘丹霞’铁皮石斛组培苗在不同培养基上的生长发育情况定性分析
Table 6 The qualitative analysis of growth and development of tissue cultured seedling of 'Danxia' *D. officinale* in different kinds of culture mediums

培养基种类	长势	叶片颜色	根颜色
Culture medium	Growth situation	Leaf colour	Root colour
1	部分细嫩, 粗壮	黄绿色, 绿色, 深绿色	浅黄色
	Part of the tender, thick	Yellow green, green, dark green	Light yellow
2	细嫩, 粗壮	绿色, 部分深绿色	黄色或浅黄色
	Tender, thick	Green, part of the dark green	Yellow or light yellow
3	细嫩, 部分粗壮	绿色, 部分深绿色	黄色或浅黄色
	Tender, part of the thick	Green, part of the dark green	Yellow or light yellow
4	细嫩, 部分粗壮	绿色或深绿色	黄色
	Tender, part of the thick	Green or dark green	Yellow
5	细嫩, 部分粗壮	绿色或深绿色	浅黄色
	Tender, part of the thick	Green or dark green	Light yellow
6	细嫩, 部分粗壮	绿色或深绿色	浅黄色, 部分黄色
	Tender, part of the thick	Green or dark green	Light yellow, part of the yellow
7	部分细嫩, 粗壮	绿色	浅黄色
	Part of the tender, thick	Green	Light yellow
8	细嫩, 粗壮	深绿色或绿色, 带紫色斑点	浅黄色
	Tender, thick	Dark green or green, purplish	Light yellow
9	部分细嫩, 粗壮	深绿色或绿色, 带紫色斑点	浅黄色
	Part of the tender, thick	Dark green or green, purplish	Light yellow
10	细嫩, 粗壮	深绿色或绿色, 带紫色斑点	浅黄色
	Tender, thick	Dark green or green, purplish	Light yellow

斛种胚萌发形式相似(吴明开等, 2011, 贵州农业科学, 39(6): 19-22); 除此之外, ‘丹霞’铁皮石斛种子萌发出的原球茎在该培养基上均可分化成芽和根, 形成组培苗, 表明‘丹霞’铁皮石斛种子在原球茎形成和形态发生所需的营养条件和环境条件基本一致, 而且无需细胞分裂素和生长素等外加激素条件。

这结果大大缩短和简化了‘丹霞’铁皮石斛种子进行组织培养快速繁殖的时间和繁杂环节, 以集约

化生产提供了条件, 但形成的组培苗品质如何则需进一步深入研究。

2.2 培养基种类对丹霞铁皮石斛组织培养快速繁殖的影响

植物组织培养的成功与否取决于外植体本身和所用培养基的种类及成分。本试验以丹霞铁皮石斛原球茎作为试验材料, MS、1/2 MS、1/3 MS 和 1/4 MS

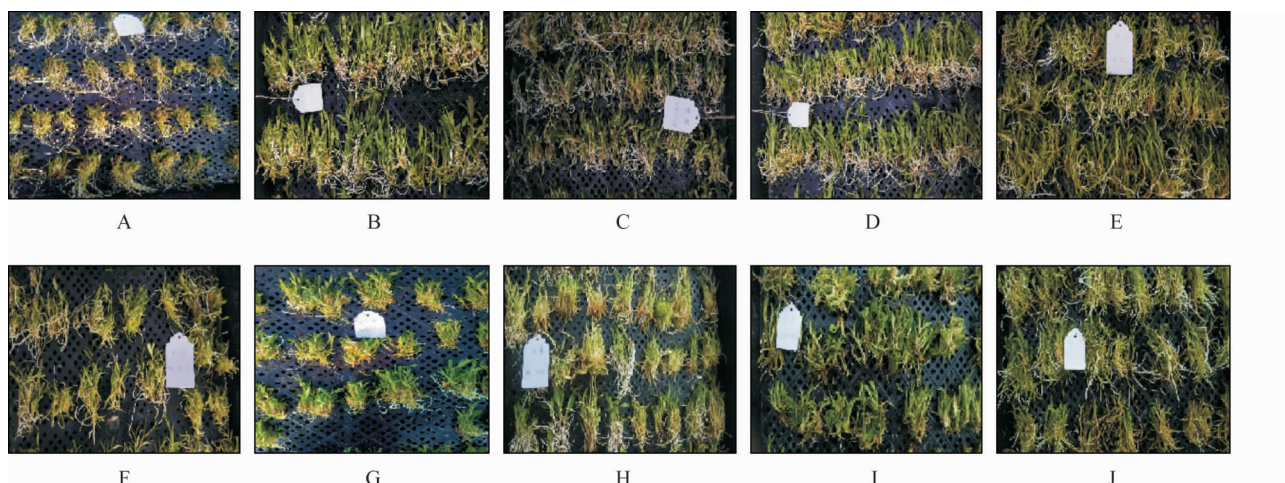


图2‘丹霞’铁皮石斛组培苗在不同培养基上的生长与发育情况

注: A: 培养基 1; B: 培养基 2; C: 培养基 3; D: 培养基 4; E: 培养基 5; F: 培养基 6; G: 培养基 7; H: 培养基 8; I: 培养基 9; J: 培养基 10

Figure 2 The growth and development of tissue cultured seedling of 'Danxia' *Dendrobium officinale* in Northern Guangdong in different kinds of culture mediums

Note: A: No. 1 medium; B: No. 2 medium; C: No. 3 medium; D: No. 4 medium; E: No. 5 medium; F: No. 6 medium; G: No. 7 medium; H: No. 8 medium; I: No. 9 medium; J: No. 10 medium

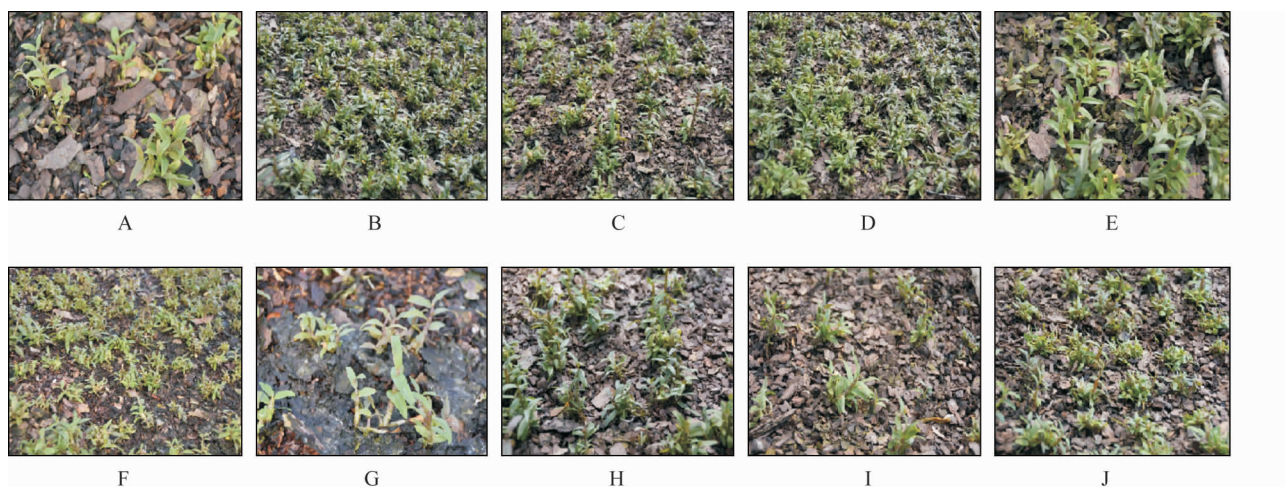


图3‘丹霞’铁皮石斛组培苗的栽后生长情况

注: A: 培养基 1; B: 培养基 2; C: 培养基 3; D: 培养基 4; E: 培养基 5; F: 培养基 6; G: 培养基 7; H: 培养基 8; I: 培养基 9; J: 培养基 10

Figure 3 The growth of tissue cultured seedling which transplanted of 'Danxia' *D. officinale*

Note: A: No. 1 medium; B: No. 2 medium; C: No. 3 medium; D: No. 4 medium; E: No. 5 medium; F: No. 6 medium; G: No. 7 medium; H: No. 8 medium; I: No. 9 medium; J: No. 10 medium

作为基本培养基,添加不同浓度的马铃薯、香蕉、水解酪蛋白等有机附加物和 NAA、6-BA 两种激素的培养基上,进行‘丹霞’铁皮石斛原球茎的形态发生研究。有机附加物,如马铃薯、香蕉、水解酪蛋白等大多含有氨基酸、激素和酶等复杂化合物,对细胞和组织的增殖、分化、发育和壮苗具有明显的促进作用(曹孜义等, 1996, 甘肃科学技术出版社, pp.14-15)。研究

结果表明,‘丹霞’铁皮石斛原球茎在基本培养基为 1/2 MS,添加 20%马铃薯培养基上生长发育更好,原球茎的分化程度高,长势也一致,茎叶深绿色,并在相同培养时间内,该培养基上的组培苗,其株高、分蘖数、根长和根数等性状指标均高于其他培养基,可获得健壮的组培苗,但组培苗的品质指标与其他培养基上无区别,需再深入研究。从结果可知,1/2 MS

表 7‘丹霞’铁皮石斛组培苗在不同培养基上的生长发育状况
Table 7 The quantitative analysis of growth and development of tissue cultured seedling of 'Danxia' *D. officinale* in different kinds of culture mediums

培养基种类	株高(cm)	茎粗(cm)	分蘖数(株)	叶数(片)	根长(cm)	根数(条)
Culture medium	Plant height (cm)	Stem diameter (cm)	Tiller number (plant)	Leaf number (piece)	Root length (cm)	Root number (strip)
1	4.39±1.36 de	2.38±0.87 bc	1.86±0.84 a	6.29±2.72 a	4.60±2.02 bc	3.39±1.40 d
2	6.68±1.56 a	2.21±0.80 bcde	1.96±0.91 a	5.21±1.46 b	5.16±1.53 a	5.88±3.07 a
3	4.33±2.04 de	2.40±0.63 bc	1.79±0.82 ab	6.37±2.29 a	3.74±1.15 d	3.66±1.45 d
4	4.96±1.27 c	2.10±0.68 de	1.89±1.22 a	5.63±1.26 b	4.95±2.13 ab	3.04±1.27 d
5	4.16±1.14 e	2.28±0.63 bcd	1.71±0.92 ab	5.03±1.13 bc	3.99±1.40 d	3.40±1.23 d
6	5.58±1.33 b	2.20±0.70 cde	1.90±0.94 a	6.67±1.73 a	4.67±1.61 ab	3.10±1.24 d
7	4.34±0.95 de	2.44±0.57 b	1.85±0.75 a	4.50±0.91 c	4.14±1.55 cd	3.51±1.50 d
8	4.74±1.66 cd	2.04±0.42 e	1.50±1.02 bc	5.35±1.59 b	3.22±1.21 e	4.37±1.59 c
9	4.39±0.89 de	2.73±0.68 a	1.26±0.59 c	6.76±2.57 a	1.97±0.83 f	5.26±2.62 b
10	4.36±0.90 de	2.39±0.62 bc	1.75±1.06 ab	5.43±1.13 b	3.68±1.26 de	4.90±2.42 bc

注: a,b,c,d,e,f 字母表示各处理之间的差异显著性(0.01<p<0.05)
Note: The letters a,b,c,d,e and f represent significant differences between treatments (0.01 < p < 0.05)

表 8‘丹霞’铁皮石斛组培苗的栽后成活率情况
Table 8 The rate of survival of tissue cultured seedling which transplanted of 'Danxia' *D. officinale*

培养基	移栽总数(丛)	成活总数(丛)	成活率(%)
Culture medium	Total number of transplant (clump)	Total number of survival (clump)	Rate of survival (%)
1	293	265	90.44
2	362	360	99.45
3	198	180	90.91
4	603	565	93.70
5	137	103	75.18
6	240	154	64.17
7	216	159	73.61
8	295	230	77.97
9	236	43	18.22
10	156	151	96.79

培养基低盐离子浓度有利于‘丹霞’铁皮石斛原球茎的分化与发育,这与杨柳平等(2012, 广东农业科学, 39(7): 54-57)、方中明等(2015)和李景蕪等(2018)的研究结果一致。此外,实验过程中也发现,马铃薯对‘丹霞’铁皮石斛组培苗壮苗具有明显的促进作用,浓度一般 20%较适合,单独添加马铃薯的效果好于马铃薯与激素搭配使用的效果。

2.3‘丹霞’铁皮石斛组培苗移栽基质的选择

虽然铁皮石斛的组培苗培育研究已较成熟,但移栽成活率低等瓶颈问题依然很严重。提高铁皮石斛组培苗的成活率,应该把握两个重要的环节,即培育优质的组培苗(索海翠等, 2014, 广东农业科学, 41 (14): 20-23)和筛选适合的移栽基质。铁皮石斛是气

生根植物, 移栽基质应以疏松且通透性好的原料为主,该研究选用粉碎的松树皮作为移栽基质,对 10 种培养基上培育出的‘丹霞’铁皮石斛组培苗进行移栽,结果表明,在栽后管理相同情况下,组培苗的品质影响其成活率, 研究表明, 培养基 1/2 MS+ 20%马铃薯上培育出的‘丹霞’铁皮石斛组培苗的成活率可达 99.45%,长势好,茎粗,丛芽多,根系发达;但其他基质上的栽后成活率如何,需进一步研究。

3 材料与方法

3.1 试验材料

试验选用‘丹霞’野生铁皮石斛的果实,采自于韶关市仁化县丹霞地貌的岩石上。

3.2 果实、种子测量和活力测定

用游标卡尺测量果实长宽度。在光学显微镜下测量种子的长宽度。采用 TTC (2,3,5- 氯化三苯基四氮唑)染色法测定种子活力。

3.3 种胚大小测量

种子无菌播种于 1/2 MS+20%马铃薯培养基上,进行原球茎培养。将种胚变绿后,在实体解剖镜下测量(1 次/7 d)种胚的长度和宽度,共测量 7 次。

3.4 原球茎生长发育情况的观察

种胚发育成原球茎后, 转接于 10 种培养基上(表 9),进行组培苗培养。每隔 60 d 继代培养 1 次相同培养基上。培养温度为(26±2)℃,光照强度为 2 000~2 500 lx,光照时间12 h/d。

3.5 组培苗的测量、炼苗和移栽

将组培苗从培养瓶中取出,洗净根部的培养基,每瓶取 5 丛苗为一组, 测量和观察各组组培苗的株高(cm)、长势情况、茎粗(mm)、叶片数(片)、叶片颜色、根长(cm)、根数(条)、根颜色和分蘖数(个)等指标。数据采用 SPSS 21.0 软件进行处理和分析。结果用“均

值±标准差”表示,显著性差异水平 p 取 0.05。

瓶苗在温室大棚内放置 10 d 进行炼苗。移栽时将组培苗分为 3~5 株一丛, 清洗晾干根部表面水分,直至根发白。基质采用松树皮。丛距和行距约为 10 cm×10 cm。栽后 7 d 内湿度保持在 90%左右,之后湿度为 70%~80%即可。移栽 115 d 后,统计试管苗的成活率。

作者贡献

包英华是本研究的实验设计者和实验研究的执行人,并负责论文的初稿写作;韩伟、郑秋桦和石海英参与试验设计,执行以及试验结果分析;白音和包英华是本研究论文及项目负责人, 俩人共同指导试验设计,数据分析,论文写作及最后定稿。全体作者都阅读并同意最终的文本。

致谢

本研究由广东省基础研究及应用研究重大项目(2016KZDXM010)、广东省科技计划项目(2013B04-0200015)、韶关市科技计划项目(韶科(2015) 72 号)和韶关学院新课程专项项目(SYJY20181918)共同资助。

表 9 培养基种类
Table 9 The kinds of culture medium

编号 No.	基本培养基 Essential culture medium	激素 Hormone	有机附加物 Organic appendage
1	1/2 MS		10%马铃薯 10% potato extract
2	1/2 MS		20%马铃薯 20% potato extract
3	1/2 MS		20%马铃薯+0.6 g/L 水解酪蛋白 20% potato extract+0.6 g/L casein hydrolysate
4	1/3 MS		20%马铃薯 20% potato extract
5	1/4 MS		20%马铃薯 20% potato extract
6	1/2 MS	0.2 mg/L NAA	10%马铃薯 10% potato extract
7	1/2 MS	2.0 mg/L NAA	10%香蕉 10% banana extract
8	1/2 MS	2.0 mg/L NAA	10%香蕉+0.6 g/L 水解酪蛋白 10% banana extract+0.6 g/L casein hydrolysate
9	MS	0.1 mg/L NAA+2.0 mg/L6-BA	10%香蕉 10% banana extract
10	MS		蝴蝶兰专用培养基 Special medium for Phalaenopsis hainanensis

参考文献

- Chang M.H., Jin Y.Z., and Wang L., 2012, Rapid propagation technique system of *Dendrobium officinale*, *Zhongcaoyao* (Chinese Traditional and Herbal Drugs), 43(7): 1412-1417 (常美花, 金亚征, 王莉, 2012, 铁皮石斛快繁技术体系研究, 中草药, 43(7): 1412-1417)
- Fang Z.M., Bai G.X., Zeng Q.S., Zou M., and Zeng S.J., 2015, Effect of natural additives on protocorm proliferation, differentiation and rooting of *Dendrobium officinale*, *Beifang Yuanyi* (Northern Horticulture), (21): 107-110 (方中明, 白根祥, 曾祺森, 邹敏, 曾宋君, 2015, 天然添加物对铁皮石斛类原球茎增殖、分化及生根的影响, 北方园艺, (21): 107-110)
- He P.R., Song X.Q., Luo Y.B., and He M.G., 2009, Reproductive biology of *Dendrobium officinale* (Orchidaceae) in 'Danxia' landform, *Zhongguo Zhongyao Zazhi* (China Journal of Chinese Materia Medica), 34(2): 124-127 (何平荣, 宋希强, 罗毅波, 何明高, 2009, 丹霞地貌生境中铁皮石斛的繁殖生物学研究, 中国中药杂志, 34(2): 124-127)
- Jiang L., Ding P., and Zheng Y.D., 2003, Effects of additives on tissue culture and rapid propagation of *Dendrobium candidum*, *Zhongyao Cai* (Journal of Chinese Medicinal Materials), 26(8):539-541 (蒋林, 丁平, 郑迎冬, 2003, 添加剂对铁皮石斛组织培养和快速繁殖的影响, 中药材, 26(8): 539-541)
- Li J.H., Zhang L.H., and Zhang Y., 2018, Screening and optimization on medium of chinese herbal of *Dendrobium officinale* seedlings, *Jiyinzuxue Yu Yingyong Shengwuxue* (Genomics and Applied Biology), 37(6): 2551-2557 (李景蕻, 张丽华, 张宇, 2018, 中药材铁皮石斛组培苗不同培养基的筛选与优化, 基因组学与应用生物学, 37(6): 2551-2557)
- Li Y., Tan P.P., Peng F.R., and Zhou Y.H., 2012, Tissue culture and rapid propagation of *Dendrobium officinale*, *Linye Keji Kaifa* (China Forestry Science and Technology), 26(1): 96-99 (李莹, 谭鹏鹏, 彭方仁, 周余华, 2012, 铁皮石斛组培快繁技术, 林业科技开发, 26(1): 96-99)
- Liu R.J., Meng A.D., Deng X.Q., and Li Y.R., 1988, Studies on rapid propagation of *Dendrobium candidum in vitro*, *Yaoxue Xuebao* (Acta Pharmaceutica Sinica), 23(8): 636-640 (刘瑞驹, 蒙爱东, 邓锡青, 李月榕, 1988, 铁皮石斛试管苗快速繁殖的研究, 药学报, 23(8): 636-640)
- Luo J.F., Cheng Z.Y., and Long C.L., 2006, Studies on the rapid propagation and *in vitro* storage of *Dendrobium candidum*, *Guangxi Zhiwu* (Guihaia), 26(1): 69-73, 62 (罗吉凤, 程治英, 龙春林, 2006, 铁皮石斛快速繁殖和离体种质保存的研究, 广西植物, 26(1): 69-73, 62)
- Tang G.X., Huang F.D., and Zhou W.J., 2005, Studies on the seed embryo germination and propagation of *Dendrobium candidum in vitro*, *Zhongguo Zhongyao Zazhi* (China Journal of Chinese Materia Medica), 30(20): 1583-1586 (唐桂香, 黄福灯, 周伟军, 2005, 铁皮石斛的种胚萌发及其离体繁殖研究, 中国中药杂志, 30(20): 1583-1586)
- Wu H.H., 2012, Seed vigor index changing under stresses and test method screening in non-heading Chinese cabbage, Thesis for M.S., Nanjing Agricultural University, Supervisor: Wu Z., pp.1-44 (吴汉花, 2012, 胁迫条件下不结球白菜种子活力指标变化及检测方法的筛选, 硕士学位论文, 南京农业大学, 导师: 吴震, pp.1-44)
- Yang P.F., Wu M.K., Song Z.Q., Zhang J.X., Li J., and Yang L., 2016, Effect of medium of different hormone on *Dendrobium officinale* buds proliferation, *Beifang Yuanyi* (Northern Horticulture), (6): 106-108 (杨平飞, 吴明开, 宋智琴, 张金霞, 李娟, 杨琳, 2016, 不同激素对比对铁皮石斛组培丛生芽增殖的影响, 北方园艺, (6): 106-108)
- Zheng Z.R., Zhu J.H., Li X.G., Lou Y.X., and Li W.K., 2008, Culture *in vitro* and rapid propagation of *Dendrobium officinale*, *Shanghai Nongye Xuebao* (Acta Agriculturae Shanghai), 24(1): 19-23 (郑志仁, 朱建华, 李新国, 娄玉霞, 黎万奎, 2008, 铁皮石斛的离体培养和快速繁殖, 上海农业学报, 24(1): 19-23)