

## 大苞鞘石斛的离体培养与快速繁殖

王伟<sup>1</sup>, 黄卫昌<sup>2,\*</sup>, 金荷仙<sup>1,3</sup>, 陈香波<sup>4</sup>

<sup>1</sup>浙江林学院园林学院, 浙江临安 311300; <sup>2</sup>上海植物园, 上海 200232; <sup>3</sup>中国园林杂志社, 北京 100835; <sup>4</sup>上海市园林科学研究所, 上海 200232

### *In vitro* Culture and Rapid Propagation of *Dendrobium wardianum* Warner

WANG Wei<sup>1</sup>, HUANG Wei-Chang<sup>2,\*</sup>, JIN He-Xian<sup>1,3</sup>, CHEN Xiang-Bo<sup>4</sup>

<sup>1</sup>School of Landscape & Architecture, Zhejiang Forestry University, Lin'an, Zhejiang 311300, China; <sup>2</sup>Shanghai Botanical Garden, Shanghai 200232, China; <sup>3</sup>Editorial Department of Chinese Landscape Architecture, Beijing 100835, China; <sup>4</sup>Shanghai Landscape-Gardening Research Institute, Shanghai 200232, China

1 植物名称 大苞鞘石斛(*Dendrobium wardianum* Warner)。

2 材料类别 种子(授粉6个月)。

3 培养条件 萌发培养基: (1) 1/2MS+6-BA 0.2 mg·L<sup>-1</sup> (单位下同)+NAA 0.2。继代增殖与分化培养基: (2) 1/2MS; (3) 1/2MS+6-BA 0.2+NAA 0.5; (4) 1/2MS+6-BA 0.5; (5) CHB+6-BA 0.5; (6) 1/2MS+NAA 0.5。生根壮苗培养基: (7) CHB+IBA 1.0; (8)花宝1号 3 g·L<sup>-1</sup>+ 蛋白胨 2 g·L<sup>-1</sup>+IBA 1.0; (9) B<sub>5</sub>。以上萌发培养基和继代增殖与分化培养基均附加2.0%蔗糖, 生根壮苗培养基附加3.0%蔗糖, 椰乳均为100 mL·L<sup>-1</sup>, 7.6 g·L<sup>-1</sup>琼脂固化, pH 5.4~5.6。培养温度为(23±1)℃, 光照强度30~40 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>, 光照时间16 h·d<sup>-1</sup>。

4 生长与分化情况

4.1 材料的消毒与灭菌 用75%酒精擦拭蒴果表面, 洗洁精清洗30 min后自来水冲洗1 h, 在超净工作台上, 用75%的酒精消毒60 s, 0.1%升汞溶液消毒15 min, 无菌水冲洗5次, 吸干水分, 切开蒴果, 将种子溶解于无菌水中, 用移液枪吸取种子接种于萌发培养基上。

4.2 种子萌发 接种在培养基(1)上的种子, 15~20 d突破种皮形成原球茎, 20~30 d转绿, 30~40 d部分原球茎叶原基开始分化, 萌发率30%左右。

4.3 原球茎的增殖与分化 将萌发种子产生的原球茎转移至培养基(2)中, 经40 d直接发育为一叶芽, 且长势整齐(图1); 将芽转至培养基(5)中, 生长40 d, 苗高可达4~8 mm。转接萌发的原球茎至培养基(3)上可实现原球茎增殖, 1个月后原球茎直径1 mm左右, 再转接于培养基(4)中, 增殖加快, 40 d后原球茎直径达4~12 mm不等(图2)。将增殖后的原球茎分割为3 mm的小块接于培养基(6)上, 30 d

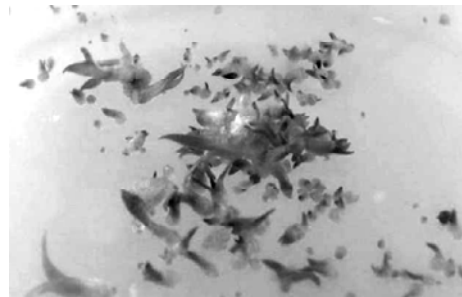


图1 大苞鞘石斛原球茎分化培养

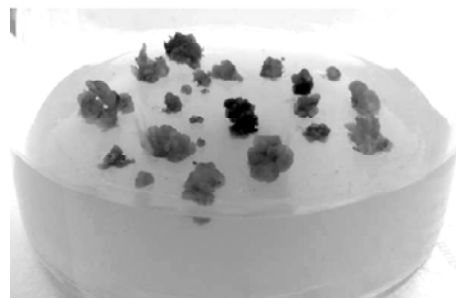


图2 大苞鞘石斛原球茎增殖培养

后原球茎直径长至9 mm, 色泽鲜绿, 部分叶原基分化长出1~2片叶, 分化率为43%。此后可反复在培养基(6)上进行增殖培养, 此培养基上原球茎增殖系数为9(图3)。

4.4 壮苗与生根 将上述增殖、分化培养所得的芽转入培养基(7)和(8)进行壮苗生根, 20 d左右开始生根, 2个月后, 在培养基(7)中生根率达97%, 高

收稿 2008-07-18 修定 2008-09-08

资助 上海市绿化(林业)局项目(F059905-1)。

\* 通讯作者(E-mail: hwc\_zx@126.com; Tel: 021-54365526)。



图3 大苞鞘石斛原球茎增殖和分化培养

1.3~2.3 cm, 叶长9~15 mm, 平均每株1.3条根, 色绿, 假鳞茎膨大的产生丛生苗; 接种于培养基(8)上幼芽生根率为100%, 高1.5~2.8 cm, 叶长9~17 mm, 平均每株2.8条根, 色鲜绿, 长势齐, 苗壮。将培养基(8)上的小苗转接至培养基(9)中, 茎迅速增粗, 叶片变宽, 根长和根数也迅速增加, 2个月后生根4~6条, 苗高3~4 cm (图4)。



图4 大苞鞘石斛壮苗生根培养

**4.5 移栽** 将培养瓶置于温棚中炼苗1周, 取出生根苗并洗净培养基, 用0.1%的高锰酸钾溶液浸泡5 min, 种植于培养盘中, 基质采用高压蒸汽灭菌锅消毒(121 , 120 min)的木炭块、椰棕、陶粒(1:1:1), 并在其表面覆盖水苔, 保持适宜湿度和温度, 置于阴凉通风处, 3周后移入温棚进行正常水、肥、药管理, 成活率65%以上(图5)。



图5 大苞鞘石斛炼苗移栽

**5 意义与进展** 大苞鞘石斛为兰科石斛属植物, 主要分布于中国云南东南部至西部以及缅甸、泰国和印度东北部等地, 属附生兰。总状花序具3朵花, 花被片白色, 顶端带紫色, 花色艳丽, 具有较高的观赏价值, 茎可作药用。大苞鞘石斛的种子无胚乳, 在野外需与真菌共生才能萌发, 发芽率极低。人工栽培中虽然可用常规扦插或分株繁殖, 但繁殖率极低。采用无菌非共生萌发技术实现试管苗大量繁殖, 一方面可以更好地满足市场的需求, 另一方面也为扩大其自然种群数量, 实现兰科植物保育奠定基础。大苞鞘石斛的无菌播种和组织培养尚未见报道。