

白花兜兰的组织培养与快速繁殖

王莲辉^{1,*}, 魏鲁明², 姜运力¹, 玉屏², 余登利², 潘德权¹

¹贵州省林业科学研究院生物技术中心, 贵阳 550005; ²贵州茂兰国家级自然保护区管理局, 贵州荔波 558400

Tissue Culture and Rapid Propagation of *Paphiopedilum emersonii* Koopowitz et Cribb

WANG Lian-Hui^{1,*}, WEI Lu-Ming², JIANG Yun-Li¹, YU Ping², YU Deng-Li², PAN De-Quan¹

¹Center of Biological Technology, Guizhou Academy of Forestry, Guiyang 550005, China; ²Management Bureau of Maolan National Nature Reserve, Libo, Guizhou 558400, China

1 植物名称 白花兜兰(*Paphiopedilum emersonii* Koopowitz et Cribb)。

2 材料类别 种子。

3 培养条件 种子萌发培养基: (1) VW; (2) 1/2MS; (3) 1/2MS+100 mL·L⁻¹ 马铃薯汁; (4) 1/2MS+100 mL·L⁻¹ 香蕉汁; (5) 1/2MS+100 mL·L⁻¹ 椰乳; (6) 1/2MS+100 mL·L⁻¹ 苹果汁。原球茎继代增殖培养基: (7) 1/2MS+6-BA 0.5 mg·L⁻¹ (单位下同)+NAA 0.01+100 mL·L⁻¹ 椰乳; (8) 1/2MS+6-BA 0.5+NAA 0.25+100 mL·L⁻¹ 椰乳; (9) 1/2MS+6-BA 1.0+NAA 0.05+100 mL·L⁻¹ 椰乳; (10) 1/2MS+6-BA 2.0+NAA 0.05+100 mL·L⁻¹ 椰乳。壮苗及生根培养基: (11) 1/2MS+IBA 0.2; (12) 1/2MS+NAA 0.2; (13) 1/2MS+IAA 0.4。以上培养基均加 2 g·L⁻¹ 活性炭、2.0% 蔗糖和 0.6% 琼脂, pH 5.2~5.4。培养温度(25±2) °C, 光照强度 30~40 μmol·m⁻²·s⁻¹, 光照时间 12 h·d⁻¹。

4 生长与分化情况

4.1 材料的无菌处理 取白花兜兰人工授粉 180 d 的黄色荚果经自来水洗净后, 在超净工作台上置于 10% 次氯酸钠溶液中消毒 20 min, 用 70% 酒精表面消毒 30 s, 再以 0.1% 升汞溶液消毒 10 min, 最后用无菌水冲洗 5 次。将洗净的白花兜兰成熟荚果置于灭菌滤纸上吸干水分, 剪去上下两端, 用解剖刀切开荚果, 将棕褐色粉末状种子接种到培养基上。

4.2 种子萌发 白花兜兰种子分别接种到萌发培养基(1)~(6)上, 暗培养 3 周后可见种子吸胀膨大, 有白色原球体长出, 转入光下培养 6 周左右可见原球茎转绿, 有叶原基出现。种子接入以上培养基均有原球茎萌发, 其中培养基(1)上的种子极少萌发, 培养基(2)有少数萌发, 培养基(3)中种子的萌发率达 30%~40%; 培养基(4)和(6)的萌发率均达 50%~60%。

随着培养时间的延长, 培养基(4)有少部分原球茎变黄, 最后褐化死亡; 培养基(6)有大部分原球茎褐化死亡; 培养基(5)中种子的萌发率和萌发速度比培养基(3)、(4)和(6)都好, 种子萌发率达 80% 以上, 萌发时间可提前 15 d 左右。种子的萌发率在以上培养基上各有不同, 加入椰乳的培养基有利于种子的萌发和原球茎生长(图 1)。



图 1 白花兜兰种子萌发为原球茎

4.3 原球茎的增殖和分化成苗 将初代培养的原球茎和小芽分别转接至培养基(7)~(10)上继代增殖培养, 其中以培养基(7)原球茎少部分分化成植株, 增殖速度慢, 而且形成的植株有部分玻璃化现象; 培养基(8)原球茎大多分化出植株, 植株有部分褐化死亡现象; 培养基(10)原球茎的增殖较快, 分化的植株褐化死亡现象严重; 培养基(9)原球茎大多数分化

收稿 2010-08-02 修定 2010-08-09

资助 贵州省林业厅“十一五”年度计划项目(2008-01)和贵州省创新能力平台项目[黔科合院所创新能(2009) 4002号]。

* 通讯作者(E-mail: gzwanglianhui@163.com; Tel: 0851-3921038)。

为植株, 小苗颜色鲜绿, 植株生长健壮(图2), 培养基的增殖效果好, 80 d左右能继代增殖1次。



图2 白花兜兰继代增殖培养

4.4 壮苗和生根培养 将分化出具有2~3片叶、高1.5 cm左右的小苗转入生根壮苗培养基(11)~(13)上, 小苗都能正常的生长, 生根率达95%以上, 其中培养基(12)上的植株根系较弱, 偏黄; 培养基(13)中根系较细, 苗生长较弱; 培养基(11)效果最好, 植株生长健壮, 根系正常, 8周后长成3~4条肉质根。

4.5 移栽 将培养瓶置于温室中炼苗2周后, 从培养瓶中取出健壮生根苗, 洗净附着在根部的培养基, 置于通风处阴干水分, 将水苔用1 000倍多菌灵溶液浸泡1 h, 挤干水分, 包裹出瓶苗根部, 种植于育苗盘中。保持适宜的温湿度, 置于阴凉通风处栽培, 期间不要浇水, 有利于新根生长和防止病害发生, 8周后移入装有树皮的营养袋中并在温室中培养, 进行正常水、肥、药管理, 成活率达95%以上(图3)。



图3 白花兜兰瓶苗移栽

5 意义与进展 白花兜兰属兰科兜兰属植物, 分布于广西和贵州南部, 生于石灰岩山坡多石之地, 海拔600~700 m。叶通常3~4枚, 矩圆状舌形, 长8~13 cm, 宽2.56~3.8 cm, 上面绿色, 背面淡绿色,

有时在嫩叶上可见模糊深浅绿色相间的网格斑。花葶长10~12 cm, 疏被白色短柔毛; 花通常1朵, 直径8~9 cm; 白色至带紫的白色, 唇瓣带紫的灰色至带紫的奶油黄色, 有模糊的紫点, 退化雄蕊奶油黄色, 有淡紫褐色斑纹; 唇瓣球形至卵形, 退化雄蕊近卵形。花期4~5月(图4), 果实成熟10~11月, 观赏价值极高, 是园艺栽培中不可多得的种质资源, 市场需求量大。白花兜兰是英国Koopwitz等人于1986年发表的植物新种, 野外种群一直鲜为人知(刘演2004)。由于白花兜兰自然生长环境的恶化及长期无节制的乱采滥挖, 野生资源已濒临灭绝(由过去的几百株锐减到现在的几十株), 现在不仅已列入国家的珍稀濒危稀有物种而加以保护, 而且还收载于国际贸易公约(CITES)附录I中, 受到国际保护。白花兜兰通常用分株法繁殖, 繁殖系数低, 其种子在自然条件下需与真菌共生才能萌发, 发芽率极低。通过无菌播种可以在短时间内提供大量种苗, 解决花卉商品生产问题, 同属植物的组培快繁已有过报道(丁长春等2005; 曾宋君等2006, 2009; 王莲辉等2008, 2009), 但是以白花兜兰种子进行的组织培养和快速繁殖的报道尚未见。

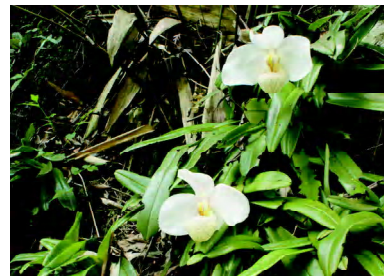


图4 白花兜兰野外开花

参考文献

- 丁长春, 虞泓, 刘方媛, 魏兴强(2005). 杏黄兜兰胚培养与快速繁殖. 植物生理学通讯, 41 (1): 55
- 刘演(2004). 寻找广西野生兜兰. 森林与人类, (5): 30~33
- 王莲辉, 姜运力, 余金勇, 罗在柒, 陈景艳(2008). 同色兜兰的组织培养与快速繁殖. 植物生理学通讯, 44 (6): 1171~1172
- 王莲辉, 姜运力, 余金勇, 罗在柒, 陈景艳(2009). 长瓣兜兰的组织培养与快速繁殖. 植物生理学通讯, 45 (9): 887~888
- 曾宋君, 陈之林, 段俊(2006). 带叶兜兰的无菌播种和离体快速繁殖. 植物生理学通讯, 42 (2): 247
- 曾宋君, 陈之林, 吴坤林, 段俊(2009). 彩云兜兰的离体快速繁殖. 植物生理学通讯, 45 (10): 1011~1012