

兰属新种昌宁兰的组织培养及植株再生

和寿星, 薛润光*, 李兆光, 和加卫, 李燕

云南省农业科学院高山经济植物研究所, 云南丽江 674100

Tissue Culture and Plantlet Regeneration of *Cymbidium changningense* (X. M. Xu) Z. J. Liu et S. C. Chen

HE Shou-Xing, XUE Run-Guang*, LI Zhao-Guang, HE Jia-Wei, LI Yan

Alpine Economic Plants Research Institute, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Lijiang, Yunnan 674100, China

1 植物名称 兰属植物昌宁兰 [*Cymbidium changningense* (X. M. Xu) Z. J. Liu et S. C. Chen], 又名白赤舌、白玉蝉兰。

2 材料类别 4个月以上果龄蒴果内种子、侧芽。

3 培养条件 以1/2MS(大量、微量元素均减半)为基本培养基。(1)种子萌发培养基: 1/2MS+6-BA 1 mg·L⁻¹(单位下同)+NAA 2+2 g·L⁻¹活性炭+100 mL·L⁻¹椰乳;(2)原球茎诱导培养基: 1/2MS+6-BA 0.5+NAA 5+2 g·L⁻¹活性炭+100 mL·L⁻¹椰乳;(3)原球茎增殖培养基: 1/2MS+6-BA 0.5+NAA 2;(4)根、芽分化培养基: 1/2MS+6-BA 2+NAA 0.5;(5)壮苗培养基: 1/2MS+6-BA 0.5+NAA 2+2 g·L⁻¹活性炭+50 g·L⁻¹香蕉泥。上述培养基均附加 8 g·L⁻¹琼脂和 30 g·L⁻¹蔗糖, pH 5.4。培养温度(25±2) °C, 光照强度 25~30 μmol·m⁻²·s⁻¹, 光照时间 14 h·d⁻¹。

4 生长与分化情况

4.1 无菌材料的获得 取果龄超过4个月且尚未开裂的蒴果, 切除花梗和残留柱头、花瓣, 用70%酒精擦拭干净后浸入 1 g·L⁻¹ HgCl₂ 溶液中 15 min, 无菌水清洗 3~4次后剖开蒴果, 将种子直接撒播于培养基(1)上, 播种密度以大致铺满培养基、种子间不相互重叠为宜。切取未开口侧芽, 剥去外面几层叶片, 消毒程序同蒴果, 在超净台上用滤纸吸干水分, 切除基部接触消毒液部位, 然后切成边长小于0.1 cm的组织块, 接种到培养基(2)上, 每瓶接种1块。

4.2 原球茎的诱导与增殖 侧芽组织块接种 15 d 后能看到明显膨大, 形成一个或数个原球茎, 可转入原球茎增殖培养基(3)上进行继代增殖。昌宁兰原球茎增殖对激素适应范围较广, 在添加 6-BA 0~5 mg·L⁻¹、NAA 1~10 mg·L⁻¹的培养基内均能增殖,

综合增殖速率、成本、激素诱导变异等因素, 以培养基(3)效果较好, 每代 45 d 平均原球茎增殖倍数为 4.9。种子萌发以种胚膨大并突破种皮, 形成原球茎为标准, 经抽样统计, 萌发率达 87%, 这种原球茎既可以转入增殖培养基进行增殖培养, 也可以直接转入分化培养基分化根、芽。

4.3 芽与根的分化培养 待种子萌发形成的原球茎膨大转绿, 即可转接到培养基(4)上。接种 90 d 后测定芽平均分化率为 86%, 根平均分化率为 91%。由侧芽诱导出的原球茎经多代增殖后转接到培养基(4)上, 也可正常分化出根和芽, 形成再生植株, 经抽样统计根、芽分化率均高于 90%。

4.4 壮苗培养与移栽 在分化培养基上培养约 90 d 后, 选取健壮新苗转入壮苗培养基(5), 促进新芽、新根生长。待新苗生长到 10~15 cm 高、展开 4~5 片叶、根长满培养基时, 逐渐揭开瓶盖, 过渡培养 2~3 d, 然后取出组培苗, 洗净培养基, 以 500 倍 70% 多菌灵溶液处理过的水苔包裹根部, 10~15 株为一丛, 合栽于 9 cm×9 cm (口径×高)营养钵中, 置炼苗棚内培养, 初期遮去自然光的 90% 左右, 棚内温度控制在 15~25 °C, 空气湿度 80% 左右, 每周喷洒 0.1% 磷酸二氢钾和 0.05% 尿素混合溶液一次, 每月喷 1 000 倍 70% 多菌灵溶液 2 次, 90 d 后统计移栽成活率达 95% 以上。

5 意义与进展 昌宁兰为 2005 年(刘仲健等 2005)才正式命名的兰科兰属植物新种, 过去一直作为碧

收稿 2008-10-12 修定 2008-11-27

* 通讯作者(E-mail: xuerg166@sohu.com; Tel: 0888-5109701)。

玉兰(*C. lowianum*)的一个变种(徐向明等 2005), 最早发现于云南昌宁, 仅分布于云南西部, 适生海拔约 1 700 m。花期 2~5 月, 香味稍淡。在自然条件下昌宁兰主要靠种子繁殖, 虽然蒴果内有种子数十万粒, 但能萌发并正常生长直至开花的比例不足万分之一; 分株繁殖系数也极低。由于近些年国内外对兰属植物野生资源的过度开发, 加之昌宁兰分布区域狭小, 目前野生资源总量迅速减少。用种子人工无菌播种繁殖可迅速得到大量实生苗, 可能是快速繁殖昌宁兰的一个有效方法, 对于昌宁兰优良品种或具有特殊性状的单株, 利用侧芽进行组织培养可实现快速繁殖。本文研究结果对昌宁兰规模化栽培和新优品种的选育有一定的参考意义。与昌宁兰同属的其它种兰花组织培养已多有报道(徐

宏英等 2001; 秦改花等 2006; 和寿星等 2006), 但昌宁兰种子及侧芽组织培养和快速繁殖的报道迄今未见。

参考文献

- 和寿星, 薛润光, 李兆光, 和加卫, 李燕(2006). 兰属新种珍珠矮的组织培养与植株再生. 植物生理学通讯, 43 (3): 517~518
- 刘仲健, 陈心启, 茹正忠(2005). 中国云南兰科一新种——昌宁兰. 云南植物研究, 27 (4): 378~380
- 秦改花, 田芳, 汤士勇(2006). 培养基中附加不同有机物对虎头兰原球茎增殖的影响. 植物生理学通讯, 42 (3): 469
- 徐宏英, 王芳, 谢海军, 赵玉明(2001). 大花蕙兰的组织培养和快速繁殖. 植物生理学通讯, 37 (6): 47
- 徐向明, 李利强, 欧阳雄(2005). 白玉蝉兰——碧玉兰的一个云南新变种. 华南农业大学学报(自然科学版), 26 (3): 120~121