

白花贝母兰的组织培养与植株再生

杨翠芹¹, 秦耀国^{2,*}, 刘红彬¹, 曾富春¹, 刘帆¹, 王西瑶¹

四川农业大学¹农学院, ²园艺学院, 四川雅安 625014

Tissue Culture and Plant Regeneration of *Coelogyne leucantha* W. W. Smith

YANG Cui-Qin¹, QIN Yao-Guo^{2,*}, LIU Hong-Bin¹, ZENG Fu-Chun¹, LIU Fan¹, WANG Xi-Yao¹

¹College of Agriculture, ²College of Horticulture, Sichuan Agricultural University, Ya'an, Sichuan 625014, China

1 植物名称 白花贝母兰(*Coelogyne leucantha* W. W. Smith)。

2 材料类别 种子。

3 培养条件 种子萌发与无菌苗生长培养基: (1) MS+5% 香蕉汁; 原球茎诱导培养基: (2) MS+NAA 0.2 mg·L⁻¹ (单位下同)+TDZ 1.0; 原球茎增殖培养基: (3) MS+NAA 0.2; 分化培养基: (4) MS+NAA 0.2+BA 4; 生根培养基: (5) MS+NAA 0.5+IBA 1。以上培养基均附加蔗糖30 g·L⁻¹和琼脂5.5 g·L⁻¹, pH 5.8。培养温度(24±1) °C, 光照强度 40~50 μmol·m⁻²·s⁻¹, 光照时间 12 h·d⁻¹。

4 生长与分化情况

4.1 无菌苗的培养 将白花贝母兰果实在75%乙醇中浸泡30 s, 无菌水冲洗2次, 再用0.1%升汞灭菌10 min, 其间不时摇动, 无菌水冲洗4次。用手术刀将果实剖开, 再用镊子挑取其中的种子接种在培养基(1)上。培养20 d后, 种子萌发成原球茎, 再经过10 d原球茎上开始分化出芽, 转接继代30 d后发育成无菌苗, 此时无菌苗基部假鳞茎开始膨大。

4.2 原球茎的诱导 切取无菌苗的假鳞茎接种到培养基(2)上诱导原球茎, 诱导率为41.7%。而假鳞茎在只附加0.2 mg·L⁻¹ NAA的MS培养基上不易诱导出原球茎, 容易出芽(图1), 出芽率达90.9%, 丛芽快繁时可选用此配方。芽诱导率比原球茎的诱导率高, 这也是兰科植物组培中较普遍的现象。

4.3 原球茎的增殖与分化 将原球茎转接入培养基(3)中, 增殖新形成的原球茎为黄绿色, 后转为绿色, 颗粒饱满, 增殖倍数达7.2, 且增殖稳定, 不易分化; 当接种在培养基(4)中后, 80%以上的原球茎分化。

4.4 生根培养与移栽 将分化出的不定芽切下, 转入培养基(5)中, 20 d后开始生根(图2), 40 d后根诱导率达92.3%, 平均根数达4条以上。当苗高3 cm



图1 白花贝母兰假鳞茎在附加NAA 0.2 mg·L⁻¹的MS培养基上诱导出的不定芽



图2 白花贝母兰生根

左右并具有膨大假鳞茎时进行移栽, 无菌苗经炼苗后, 洗净苗根部的培养基, 再经1 000倍的多菌灵溶液浸泡0.5 h后, 晾干表面的水分, 栽植在高温灭菌过的1/2青苔+1/2枯树皮的基质中(图3)。一个月后统计成活率达60%。

4.5 无性变异 在无菌苗继代增殖的过程中极少数发生无性变异。有2种情况, 一种是叶片与假鳞茎全部失绿变成浅黄色; 另一种是叶片的中部失绿变成白色。至于开花的性状是否变异, 有待进一步观察。

收稿 2009-03-03 修定 2009-03-17

资助 四川农业大学农学院基金和四川省教育厅科研项目(003227)。

* 通讯作者(E-mail: qinyaoguo@sina.com; Tel: 0835-2882563)。



图3 白花贝母兰移栽

5 意义与进展 白花贝母兰属于兰科(Orchidaceae)

贝母兰属植物, 生长于海拔 1 500~2 600 m 的林中树干上或沿溪谷旁岩石上, 分布于四川西南部和云南西部至东南部。不仅有一定的观赏价值, 而且具有较高的药用价值, 其假鳞茎或全草入药, 用于支气管炎、感冒、疝气疼痛、风湿痛、跌打损伤、骨折、软组织挫伤等的治疗(吴征镒 2006), 是濒临灭绝的药用石斛兰的最佳替代品。贝母兰同其他兰花一样, 种子的自然萌发率较低, 主要靠分株繁

殖, 繁殖速度较慢。而组织培养快繁技术, 可能有一定的应用前景。兰花组织培养的报道较多, 主要集中在蝶兰属(*Phalaenopsis*) (李进进等 2000)、兰属(*Cmpidium*) (吴晓霞等 2002) 与石斛属(*Dendrobium*) (张莹等 2007) 等几个属中。贝母兰属植物的组织培养报道则较少(Nongrum 等 2007), 至于白花贝母兰的组织培养还未见报道。

参考文献

- 李进进, 廖俊杰, 柯丽婉, 蔡佩玲(2000). 蝴蝶兰根段的组织培养. 植物生理学通讯, 36 (1): 37
- 吴晓霞, 姜敦云, 崔月花, 张彪(2002). 大花蕙兰的组织培养和快速繁殖. 植物生理学通讯, 38 (2): 141
- 吴征镒(2006). 云南植物志. 北京: 科学出版社, 14: 525
- 张莹, 王雁, 李振坚(2007). 报春石斛的组织培养与快速繁殖. 植物生理学通讯, 43 (4): 749~750
- Nongrum I, Kumaria S, Tandon P (2007). Influence of *in vitro* media on asymbiotic germination, plantlet development and *ex vitro* establishment of *Coelogyne ovalis* Lindl. and *Coelogyne nitida* (Wall. ex Don) Lindl. Proc Indian Nat Sci Acad, 73 (4): 205~207