

长瓣兜兰的组织培养与快速繁殖

王莲辉, 姜运力, 余金勇, 罗在柒, 陈景艳*

贵州省林业科学研究院生物技术中心, 贵阳 550005

Tissue Culture and Rapid Propagation of *Paphiopedilum dianthum* Tang et Wang

WANG Lian-Hui, JIANG Yun-Li, YU Jin-Yong, LUO Zai-Qi, CHEN Jing-Yan*

Center of Biological Technology, Guizhou Academy of Forestry, Guiyang 550005, China

1 植物名称 长瓣兜兰(*Paphiopedilum dianthum* Tang et Wang)。

2 材料类别 种子。

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

4 生长与分化情况

4.1 材料的无菌处理 人工授粉 420 d 的荚果经自来水洗净后, 置于 10% 次氯酸钠溶液中消毒 20 min, 用 70% 的酒精表面消毒 30 s, 再以 0.1% 的升汞溶液消毒 10 min, 最后用无菌水冲洗 5 次。将洗净的长瓣兜兰成熟荚果置于灭菌滤纸上吸干水分, 用解剖刀切开荚果, 将种子接种到培养基上。

4.2 种子萌发 发育 420 d 的种子分别接种到萌发培养基(1)~(4)上, 置于光照培养箱中培养 12 周后, 可见白色原球体出现, 继续培养 5 周后原球茎转绿, 有叶原基出现, 5 周后原球茎上长芽。种子接入以上培养基均能萌发, 其中培养基(3)、(4)的萌发率和萌发速度比培养基(1)、(2)都好, 种子萌发率达 60% 以上, 说明加入椰乳有利于长瓣兜兰种子萌发。培养基(3)较培养基(4)的萌发速度快, 可提前 20 d 左右, 培养基(3)上的种子出芽后生长较快, 10 周左右就能长满瓶, 表明 1/2MS 培养基较 MS 培养基更有利于长瓣兜兰种子萌发生长。培养基(1)的

种子萌发率在 40% 左右, 培养基(2)的种子萌发率在 30% 左右, 可见种子在以上培养基上均有萌发, 只是萌发率各有不同。

4.3 原球茎继代增殖 将初代培养的原球茎和芽分别转接至培养基(5)和(6)上继代增殖培养, 培养基(5)原球茎少部分分化成植株, 增殖速度慢; 培养基(6)原球茎大多数分化为植株(图1), 增殖速度快, 以培养基(6)的增殖效果好, 80~90 d 能继代增殖 1 次。由此可见, NAA 和 6-BA 组合是原球茎继代增殖的主要因素, 并以 6-BA 与 NAA 浓度比为 5:1 的效果最佳。

4.4 生根培养 将较大的无根苗转入生根培养基(7)和(8)上培养, 生根率达 90% 以上, 植株生长旺盛, 8 周后长出 1~2 条肉质根, 生长为高 3~5 cm 的小苗(图2), 培养基(7)比培养基(8)根系发达, 说明低浓度的 IBA 有利于根的产生, 高浓度 IBA 对根的萌发有抑制作用。

4.5 移栽 将培养瓶置于温室中炼苗 2 周后, 从培养瓶中取出生根苗, 洗净附着的培养基, 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, 种植于穴盘中。管理中保持适度温湿度, 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, 6 周后移入温室中栽培, 进行正常水、肥、药管理, 成活率可达 90% 以上(图3)。

5 意义与进展 长瓣兜兰属兰科兜兰属植物, 产于云南南部、贵州和广西西南部, 生长于海拔 1 000~

收稿 2009-07-06 修定 2009-07-16

资助 贵州省科技厅农业和社会发展科技攻关项目(黔科合 NY 字[2006]3062 号)。

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



图1 长瓣兜兰继代培养



图3 长瓣兜兰移栽



图2 长瓣兜兰生根苗

2 300 m的透光林下或岩石上。地生种类, 叶3~5枚, 质地厚, 长30 cm, 宽3.5~5 cm, 花葶高30~80 cm, 绿色, 花通常2~4朵, 花期7~9月。兜兰属最为重要的特征是它的花, 具深囊状的唇瓣, 如淑女穿着的拖鞋。我国是世界兜兰属植物的重要分布地和许多新种模式产地, 全部种类都有观赏价值, 社

会需求量大, 由于长期无节制的乱采滥挖, 野生资源已枯竭, 现在不仅已列入国家的珍稀濒危植物而加以保护, 而且还收载于国际贸易公约(CITES)附录二中, 受到国际保护。长瓣兜兰常用种子或分株法繁殖, 其种子在自然条件下极难萌发, 且繁殖率低。采用组织培养的技术有利于解决其繁殖困难和种苗的不足, 以及短期内可以提供大量种苗问题, 同属植物的组培快繁已有过报道(丁长春等2005; 曾宋君等2006), 但是以长瓣兜兰种子进行的组织培养和快速繁殖的报道尚未见。

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
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