

彩云兜兰的离体快速繁殖

曾宋君^{1,2}, 陈之林¹, 吴坤林¹, 段俊^{1,*}

¹中国科学院华南植物园, 广州 510650; ²中国科学院研究生院, 北京 100039

In vitro Propagation of *Paphiopedilum wardii* Summerh

ZENG Song-Jun^{1,2}, CHEN Zhi-Lin¹, WU Kun-Lin¹, DUAN Jun^{1,*}

¹South China Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650, China; ²Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China

1 植物名称 彩云兜兰(*Paphiopedilum wardii* Summerh)。

2 材料类别 种子。

3 培养条件 种子萌发培养基: (1) 1/2MS+1 g·L⁻¹活性炭; (2) 1/2MS+100 mL·L⁻¹椰子乳+1 g·L⁻¹活性炭; (3) VW+100 mL·L⁻¹椰子乳+1 g·L⁻¹活性炭。原球茎或类原球茎增殖培养基: (4) 1/2MS+0.5 g·L⁻¹活性炭+50 mL·L⁻¹椰子乳+TDZ 0.5 mg·L⁻¹(单位下同)+NAA 0.5; (5) 1/2MS+0.5 g·L⁻¹活性炭+50 mL·L⁻¹椰子乳+TDZ 1.0+NAA 0.5。原球茎或类原球茎分化培养基: (6) 1/2MS+1 g·L⁻¹活性炭+6-BA 0.2+NAA 0.5; (7) 1/2MS+1 g·L⁻¹活性炭+6-BA 0.1+NAA 1.0。生根与壮苗培养基: (8) 1/2MS+2 g·L⁻¹蛋白胍+1.5 g·L⁻¹活性炭+NAA 1.0+50 mL·L⁻¹椰子乳; (9) 2 g·L⁻¹花宝1号+2 g·L⁻¹蛋白胍+1.5 g·L⁻¹活性炭+NAA 1.0+50 mL·L⁻¹椰子乳; (10) 2 g·L⁻¹花宝1号+2 g·L⁻¹蛋白胍+1.5 g·L⁻¹活性炭+NAA 1.0+50 mL·L⁻¹椰子乳+50 g·L⁻¹香蕉汁。以上培养基均附加 20 g·L⁻¹蔗糖、6.5 g·L⁻¹琼脂固化, pH 5.2~5.4, 培养温度为(25±2) °C, 光照强度 30~40 μmol·m⁻²·s⁻¹, 光照 12 h·d⁻¹。

4 生长与分化情况

4.1 材料的无菌处理 收取彩云兜兰人工授粉250 d 的黄绿色荚果, 在4 °C的冰箱中冷藏20 d后在超净工作台上用75%酒精的棉球擦拭干净蒴果表面, 用75%酒精中浸泡30 s, 再用0.1%升汞消毒15 min, 无菌水冲洗5次。用无菌滤纸吸干蒴果表面水分, 剪除上下两端, 纵向切开蒴果, 将浅褐色粉末状的种子散落到培养基(1)、(2)和(3)上。

4.2 种子萌发 在光照条件下, 培养基(1)、(2)中, 种子20 d左右时膨大; 40 d左右时转绿形成原球茎, 萌发率约为60%; 60 d时约90%的原球茎上端出芽(图1), 培养基(2)中分化出的小苗生长状况比(1)

好, 说明椰子乳对彩云兜兰种子的萌发率影响不大, 但能促进小苗的生长。在培养基(3)中种子15 d左右膨大; 35 d左右转绿形成原球茎, 萌发率约为70%; 50 d左右原球茎上端出芽, 但培养基(3)萌发后的小苗生长较差, 如果不及时转瓶, 部分原球茎和小苗会死亡, 其原因可能是1/2MS培养基比VW培养基含有更为全面的矿物质有关。



图1 彩云兜兰的无菌萌发

4.3 原球茎或类原球茎的增殖 将初代培养原球茎转接到培养基(4)、(5)中, 均能形成类原球茎并有部分分化出芽, 其中(5)中形成类原球茎的效果明显比(4)好, 只有少数分化出芽, 而(4)中大部分原球茎分化出芽, 而只有少数原球茎形成类原球茎。培养基(5)中, 在60 d的继代周期内原球茎可增殖到2.5倍左右; 将(5)中形成的类原球茎再转接到相同的培养基上培养, 60 d的继代周期内, 类原球茎的增殖倍数可增殖到3倍左右; 在类原球茎增殖的过程中, 类原球茎还会同时分化出芽形成类原球茎和芽的混合体(图2)。

收稿 2009-08-28 修定 2009-09-17

资助 国家科技支撑计划课题(2008BAC39B05)和广东省农业攻关(2009B020201009)。

* 通讯作者(E-mail: duanj@scib.ac.cn; Tel: 020-37252978)。

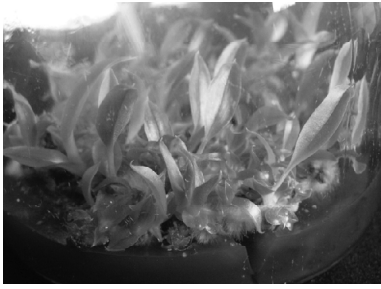


图2 彩云兜兰的原球茎和类原球茎分化成芽

4.4 原球茎或类原球茎的分化 将原球茎或类原球茎和芽的混合体转接到分化培养基(6)、(7)中, (7)的分化效果比(6)好, (6)中在原球茎或类原球茎分化出芽的同时, 还有较多的类原球茎的形成; 而(7)原球茎或类原球茎分化出芽的数量较多, 分化率可达80%以上。

4.5 生根与壮苗 将分化出具有2~3片叶、叶长1.0~1.5 cm的小苗转入培养基(8)~(10)上培养, 生根率均可达100%, 每株有3~4条根。其中培养基(10)最适合小苗的生长, 植株生长健壮, 根系正常(图3); 培养基(8)上的植株根系较差, 苗生长也较弱; 培养基(9)中根系过于粗壮、发达, 苗生长较差。



图3 彩云兜兰的生根培养

4.6 出瓶移栽 当小苗长至4~5 cm高时, 将培养瓶置于温棚中炼苗1周后, 从培养瓶中取出生根苗, 洗净根部附着的培养基, 洗净晾干水分后, 种植于口径5 cm的塑料营养杯中, 置于通风的温室中栽培。种植基质采用水浸泡过的树皮、陶粒和兰石的混合基质(1:1:2)中或进口水苔, 种植后喷施800倍多菌灵杀菌液。栽培过程中, 注意保持适宜的湿度和

温度, 7 d内不要浇水, 成活率均可达95%以上。30 d左右植株恢复生长, 此时应进行正常水、肥和农药管理。

5 意义与进展 彩云兜兰属于兰科兜兰属, 原产我国云南西部和缅甸北部, 其叶片上有深浅蓝绿相间的网格斑, 花葶直立、花单朵, 花瓣绿白色, 有浅紫褐色晕, 唇瓣拖鞋状(图4), 花期12月至翌年3月, 正值我国的春节期间, 花期长达1个月以上, 是一种值得推广的名贵观赏花卉。由于长期无节制的乱采滥挖, 彩云兜兰已濒临灭绝, 属于“野生动植物濒危物种国际贸易公约”(CITES)附录I的保护对象而被禁止贸易, 在中国物种红色名录中被列入极危物种(CR)。彩云兜兰的常规繁殖常采用分株繁殖, 繁殖系数低, 而其种子无胚乳, 在野外需与真菌共生才能萌发, 发芽率极低。通过无菌播种和组织能获得大量种苗用于野外自然回归和商品花卉生产。同属植物中的杏黄兜兰(陈之林等2004; 丁长春等2005)、硬叶兜兰(陈之林等2004)、带叶兜兰(曾宋君等2006)、同色兜兰(王莲辉等2008)的无菌播种和组织培养已有过报道, 但彩云兜兰种子离体快速繁殖报道尚未见到。



图4 彩云兜兰母株花朵

参考文献

- 陈之林, 叶秀嫫, 梁承邨, 段俊(2004). 杏黄兜兰和硬叶兜兰的种子试管培养. 园艺学报, 31 (4): 540~542
- 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): 55~56
- 王莲辉, 姜运力, 余金勇, 罗在荣, 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
- 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