

## 豆瓣兰的无菌播种与快速繁殖

卜朝阳\*, 何荆洲, 闭志强, 董伟清, 严华兵  
广西农业科学院生物技术研究所, 南宁530007

## Asepsis Sowing and *in vitro* Propagation of *Cymbidium serratum* (Schltr) Y. S. Wu et S. C. Chen

BU Zhao-Yang\*, HE Jing-Zhou, BI Zhi-Qiang, DONG Wei-Qing, YAN Hua-Bing  
Biotechnology Research Institute of Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning 530007, China

**1 植物名称** 豆瓣兰 [*Cymbidium serratum* (Schltr) Y. S. Wu et S. C. Chen]。

**2 材料类别** 种子。

**3 培养条件** 种子萌发培养基: (1) MS+1 mg·L<sup>-1</sup> BAP+10% 椰子水; (2) 改良 Kyoto+1 mg·L<sup>-1</sup> BAP+10% 椰子水; (3) 1/3MS+1 mg·L<sup>-1</sup> BAP+10% 椰子水。原球茎增殖培养基: (4) 改良 Kyoto+2 mg·L<sup>-1</sup> BAP+1 mg·L<sup>-1</sup> NAA+10% 椰子水。根状茎增殖培养基: (5) 改良 Kyoto+3 mg·L<sup>-1</sup> BAP+0.2 mg·L<sup>-1</sup> NAA+10% 椰子水。分化壮苗培养基: (6) 改良 Kyoto+1 mg·L<sup>-1</sup> BAP+0.2 mg·L<sup>-1</sup> IBA+1 g·L<sup>-1</sup> 胰蛋白胨。生根培养基: (7) 改良 1/2MS+1 mg·L<sup>-1</sup> IBA+1 g·L<sup>-1</sup> 活性炭+5% 椰子水。以上培养基均附加 20 g·L<sup>-1</sup> 蔗糖, 5.5 g·L<sup>-1</sup> 琼脂固化。所有培养基 pH 值为 5.5~5.8, 培养温度为 (25±2) °C, 光照强度为 40 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>, 光照时间为 12 h·d<sup>-1</sup>。

### 4 生长与分化情况

**4.1 材料的无菌处理** 将采集到的八成熟蒴果置于流水下冲洗 1 h, 再用洗洁精小心刷洗表皮, 在超净工作台上用 70% 酒精擦拭表面, 接着用 0.1% 升汞浸泡 20 min, 无菌水冲洗 4 次, 吸干水分后用手术刀剖开蒴果, 将种子取出。

**4.2 种子播种萌发前预处理** 消毒后的种子分别进行以下 3 种方式预处理: (1) 直接用无菌水制成悬浮液, 用无菌吸管吸 1 mL 摇匀的悬浮液到培养基上; (2) 先用 0.1 mol·L<sup>-1</sup> NaOH 溶液浸泡种子 20 min 后再制成悬浮液, 按 (1) 中方式播种; (3) 先用 0.1 mol·L<sup>-1</sup> NaClO 溶液浸泡种子 20 min 后再制成悬浮液, 按 (1) 中方式播种。方法 (2) 和 (3) 处理的种子萌发率显著高于方法 (1) 处理, 分别为方法 (1) 处理的 8.1 倍和 6.8 倍, 而萌发时间 (即第 1 粒种子的初始萌发天数) 及

原球茎形成天数均显著低于方法 (1) 处理, 分别缩短了约三分之一。

**4.3 种子萌发** 培养初期进行暗培养, 培养基 (2) 萌发率显著高于其它处理, 初始萌发时间约 250 d, 60 d 后统计萌发率达 15.5%, 萌发的种子逐渐发育形成大量的原球茎。

**4.4 增殖培养** 将上述获得的原球茎接种到培养基 (4) 上进行增殖培养, 可有效增殖 (图 1), 原球茎增殖系数可达 7~8 倍。将原球茎接种到培养基 (5) 上, 原球茎可分化形成根状茎并继续增殖 (图 2), 根状茎增殖系数达 3~5 倍。增殖周期均为 40~50 d。

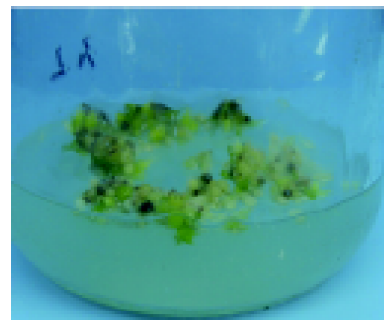


图 1 豆瓣兰的原球茎增殖

**4.5 分化壮苗与生根培养** 将形成的根状茎接种到培养基 (6) 中可分化形成小苗 (图 3), 分化形成的小苗接种到培养基 (7) 进行生根诱导, 培养 30~40 d 生根率达 95%~100% (图 4)。生根培养 60 d 后便可炼苗。

收稿 2010-10-08 修定 2010-11-04

资助 广西科技攻关项目 (桂科攻 0896001-5) 和广西农科学院项目 (200812、201014)。

\* 通讯作者 (E-mail: yangnv@126.com; Tel: 13707819311)。



图2 豆瓣兰的根状茎增殖



图3 豆瓣兰的根状茎分化成芽

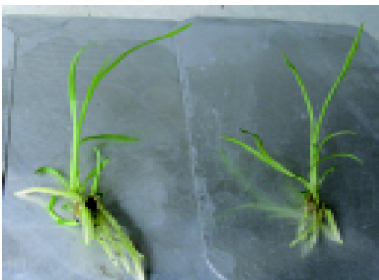


图4 豆瓣兰的组培苗生根

**4.6 炼苗与移栽成活** 生根小苗置于温棚中炼苗2周后,取出洗净,用0.1%高锰酸钾浸泡10 s,之后在荫棚下晾干5 min,种植在消毒过的水草基质中,移栽成活率可达90%以上。

**5 意义与进展** 豆瓣兰为兰科(Orchidaceae)兰属的一个独立种,又称线叶春兰(刘仲健等2006),分布于四川、贵州、云南及广西西部等地区。豆瓣

兰花姿高贵、叶态优美,神韵素雅,具有极高的观赏价值(图5)。豆瓣兰属于中国兰中的地生兰,在自然条件下种子很难萌动,繁殖能力极低,育种方法仍是传统的分株繁育,时间长,数量少,繁殖系数低,无法规模化,不能满足产业发展需要。近年来由于受经济利益的驱动而泛采乱挖和生态环境的恶化,豆瓣兰野生资源已濒临灭绝。开展豆瓣兰繁育技术研究对野生兰花资源的保护和区域兰花产业的可持续发展有着重要的科学意义和实际应用价值。

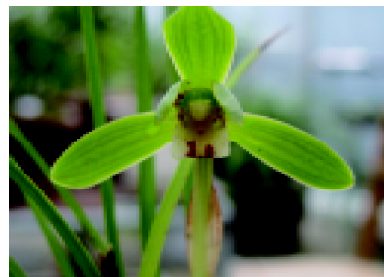


图5 豆瓣兰的开花植株

地生兰中的春兰(钟雨薇2007;郑琪等2007;刘晓芳等2009)、墨兰(彭晓明等2000)、建兰(陈汉利,1996)等的无菌播种与组织培养技术研究已有报道。但到目前为止,有关豆瓣兰的组织培养研究还未见报道。

#### 参考文献

- 陈汉利,欧秀鹏,张志胜(1996).影响建兰根状茎增殖因素的研究.广东农业科学,4:33~34
- 刘晓芳,黄闽敏,姜敏,牛俊丽(2009).离体培养春兰原球茎增殖的影响因子研究.西北林学院学报,24(3):88~90
- 刘仲健,陈心启,茹正忠著(2006).中国兰属植物.科学出版社,199~202
- 彭晓明,曾宋君,张京丽,赵逢畔(2000).三种墨兰的瓶播培养.热带亚热带植物学报,8(1):60~62
- 郑琪,赵虎,邢海,褚剑峰,孙叶芳,封宸(2007).杂交春兰未成熟种子无菌培养的研究初报.浙江农业科学,3:267~268
- 钟雨薇(2007).春兰无菌播种技术研究.安徽农学通报,13(20):87~88