

湿唇兰的无菌播种和快速繁殖

方中明^{1,2}, 吴坤林¹, 陈之林¹, 曾宋君^{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 100049

Asepsis Sowing and *in vitro* Propagation of *Hygrochilus parishii* (Rchb. f.) Pfitz.

FANG Zhong-Ming^{1,2}, WU Kun-Lin¹, CHEN Zhi-Lin¹, ZENG Song-Jun^{1,*}, DUAN Jun¹

¹South China Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650, China; ²Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

1 植物名称 湿唇兰[*Hygrochilus parishii* (Rchb. f.) Pfitz.]。

2 材料类别 成熟种子。

3 培养条件 种子萌发培养基:(1) 1/2MS;(2) 1/2MS+100 mL·L⁻¹椰子乳;(3) KC;(4) KC+100 mL·L⁻¹椰子乳;(5) VW;(6) VW+100 mL·L⁻¹椰子乳;(7) 1.5 g·L⁻¹花宝1号+1.5 g·L⁻¹花宝2号;(8) 1.5 g·L⁻¹花宝1号+1.5 g·L⁻¹花宝2号+100 mL·L⁻¹椰子乳。原球茎增殖培养基:(9) 1/2MS+6-BA 0.5 mg·L⁻¹(单位下同)+NAA 0.05+1.5 g·L⁻¹活性炭+50 g·L⁻¹香蕉汁;(10) 1.5 g·L⁻¹花宝1号+1.5 g·L⁻¹花宝2号+6-BA 0.5+NAA 0.05+1.5 g·L⁻¹活性炭+50 g·L⁻¹香蕉汁。原球茎分化培养基:(11) 1/2MS+6-BA 1+NAA 0.25+1.5 g·L⁻¹活性炭+50 g·L⁻¹香蕉汁;(12) 1.5 g·L⁻¹花宝1号+1.5 g·L⁻¹花宝2号+6-BA 1+NAA 0.25+1.5 g·L⁻¹活性炭+50 g·L⁻¹香蕉汁。生根和壮苗培养基:(13) 1/2MS+2 g·L⁻¹蛋白胍+1.5 g·L⁻¹活性炭+IBA 0.5+NAA 0.5+100 mL·L⁻¹椰子乳+50 g·L⁻¹香蕉汁;(14) 1.5 g·L⁻¹花宝1号+1.5 g·L⁻¹花宝2号+2 g·L⁻¹蛋白胍+1.5 g·L⁻¹活性炭+IBA 0.5+NAA 0.5+100 mL·L⁻¹椰子乳+50 g·L⁻¹香蕉汁。以上培养基均附加2.0%蔗糖、0.6%琼脂,pH 5.2~5.4,培养温度为(25±2)℃,光照度30~40 μmol·m⁻²·s⁻¹,光照时间12 h·d⁻¹。

4 生长与分化情况

4.1 材料的无菌处理 将湿唇兰进行人工授粉,150 d左右荚果成熟,取湿唇兰蒴果用自来水洗净后,在超净工作台上,用含70%酒精的棉球擦拭干净蒴果表面,接着浸泡于70%酒精中30 s,再用0.1%升汞消毒15 min,无菌水冲洗5次,吸干蒴果表面水分,剪除上下两端,沿中缝线纵向切开蒴果,刮出种子于无菌水中制成悬浮液,并将其摇匀后吸取1 mL滴入培养基(1)~(8)上并使之

均匀分布。每处理小瓶播种20瓶,于光照下培养。

4.2 种子萌发 1个月后,种胚长出细小的绿点,再经1个月的培养,小绿点长成2~3 mm的原球茎,20 d后原球茎上端出芽。培养基(3)上的萌发率20%左右,培养基(1)上的萌发率在30%左右,培养基(6)上的萌发率40%左右,培养基(4)上的萌发率50%左右,培养基(2)上的萌发率70%左右,培养基(7)上的萌发率80%。其中培养基(5)上仅少数种子萌发;而培养基(9)的萌发率最高,达到95%。培养基(2)、(4)、(6)、(8)中的萌发和生长速度比(1)、(3)、(5)、(7)快,说明添加椰子乳能提高湿唇兰种子的萌发率。光下培养表明,花宝培养基最有利于湿唇兰种子的萌发。

4.3 原球茎增殖与分化 将2~3 mm的湿唇兰原球茎转入培养基(9)和(10)进行增殖培养,30 d后,增殖倍率达3.5倍。将增殖的原球茎转入培养基(11)和(12)上,20 d后,分化出幼嫩的芽,并从四周长出丛芽。

4.4 生根与壮苗 45 d后,将培养基(11)和(12)上高2~3 cm的壮苗转入培养基(13)和(14),1个半月后,苗长高为5~6 cm,每株生根大约4~6条,根长3~5 cm,根粗壮,生根率达100%。培养基(13)上根系发达,生长健壮(图1)。

4.5 炼苗与移栽 出瓶时,将培养瓶置于温棚中炼苗1周后,取出生根苗,洗净根部附着的培养基,以1000倍多菌灵溶液浸泡1 h的白水苔为基质,挤下水分,包裹出瓶苗根部,种植于小盆

收稿 2008-04-09 修定 2008-04-21

资助 广州市科技计划(2007Z3-E0631)和中国科学院知识创新工程重要方向(kscx2-sw-319)。

* 通讯作者(E-mail: zengsongjun@scib.ac.cn; Tel: 020-37252990)。



图1 湿唇兰的生根壮苗

中。保持适宜湿度,置于阴凉通风处,1周内不浇水,2周后移入温棚栽培,进行正常水、肥、药管理,成活率达95%以上。

5 意义与进展 湿唇兰是兰科湿唇兰属植物,此属仅此一种,附生兰,分布于我国云南西双版纳、印度东北部、缅甸、泰国、老挝、越南等地,生于海拔700~1300 m的山地疏林中大树干上,属于中国物种红色名录(<http://www.chinabiodiversity.com/redlist/search/index.shtm>)中的易危物种(VU)。湿唇兰花期6~7月,花大,艳

丽,萼片和花瓣黄色带暗紫色斑点,蕊柱白色,具有较高的观赏价值(图2),也是重要的兰花育种亲本。目前仅有拟万带兰和湿唇兰的杂交种无菌播种和组织培养的报道(兰芹英等2000),有关湿唇兰的无菌播种和快速繁殖尚未见报道。



图2 湿唇兰的开花植株

参考文献

- 兰芹英,何惠英,方春研,黄文(2000). 拟万带兰和湿唇兰杂交种子胚的组织培养和植株再生. 植物生理学通讯, 36(1): 40