

同色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 concolor* (Bateman) Pfitz.

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 同色兜兰 [*Paphiopedilum concolor* (Bateman) Pfitz.]。

2 材料类别 种子。

3 培养条件 种子萌发培养基: (1) MS+100 mL·L⁻¹ 香蕉汁; (2) 1/2MS+100 mL·L⁻¹ 香蕉汁。原球茎继代增殖培养基: (3) 1/2MS+NAA 0.2 mg·L⁻¹ (单位下同)+100 mL·L⁻¹ 香蕉汁; (4) 1/2MS+NAA 0.4+100 mL·L⁻¹ 香蕉汁; (5) 1/2MS+6-BA 0.5+NAA 0.2+100 mL·L⁻¹ 香蕉汁; (6) 1/2MS+6-BA 2.0+NAA 0.2+100 mL·L⁻¹ 香蕉汁。壮苗及生根培养基: (7) 1/2MS+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(25±2) °C; 光照强度 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 人工授粉 210 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 15 min, 最后用无菌水冲洗 5 次。将洗净的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 210 d 的种子分别接种到萌发培养基(1)和(2)上, 暗培养 5 周后, 可见白色原球体出现, 转入光下培养, 3 周后原球茎转绿, 10 周后原球茎上长芽。培养基(1)的萌发率比较低, 在 20% 左右, 且培养 1 个月后发现部分原球茎褐化死亡; 培养基(2)上种子的萌发速度和生长速度更快, 约有 60% 萌发, 需 7 周左右, 表明 1/2MS 培养基较 MS 培养基更有利于同色兜兰种子生长发育。

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(3)~(6)上继代增殖培养, 培养基(3)、(4)上原球茎大多形成植株, 增殖速度慢; 培养

基(5)、(6)上原球茎增殖速度快, 其中培养基(6)增殖效果好, 80~90 d 能继代增殖 1 次。由此可见, 生长素 NAA 和细胞分裂素 6-BA 组合是原球茎继代增殖的主要因素, 以细胞分裂素与生长素浓度比为 10:1 时效果最佳。

4.4 生根培养 将较大的无根苗分别转入生根培养基(7)、(8)上培养, 生根率达 90% 以上, 植株生长旺盛, 7 周后长成 1~2 条肉质根, 生长为高 3~5 cm 的小苗, 培养基(7)比培养基(8)根系发达。可见, 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, 因而生产中采用(7)作为生根壮苗培养基为宜。

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 1000 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。

5 意义与进展 兜兰属兰科兜兰属植物, 迄今已发现有 90 余种, 分布于亚洲热带; 我国有近 44 个种, 大多分布于我国西南地区。兜兰之所以广受人们喜爱, 是因为它具有讨人喜欢的株型和美丽迷人的花朵, 叶片大小也具多样性, 花序通常直立或弯曲, 兜兰属最为重要的特征是它的花, 具深囊状的唇瓣, 犹如淑女穿着的拖鞋。我国是世界兜兰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,

收稿 2008-09-02 修定 2008-11-10

资助 贵州省科技厅农业、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)。

社会需求量大。由于长期无节制乱采滥挖,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。同色兜兰常用种子或分株法繁殖,其种子在自然条件中极难萌发,且繁殖率低。采用组织培养的技术可能有利于解决其繁殖困难和种苗不足的问题。短期内可以提供大量种

苗,同属的带叶兜兰组织培养与快速繁殖已有过报道(曾宋君等2006),但是以同色兜兰种子进行组织培养和快速繁殖尚未见报道。

参考文献

- 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