兰属新种珍珠矮的组织培养与植株再生

和寿星,薛润光*,李兆光,和加卫,李燕云南省农业科学院高山经济植物研究所,云南丽江674100

Tissue Culture and Plantlet Regeneration of *Cymbidium nanulum* Y. S. Wu et S. C. Chen

HE Shou-Xing, XUE Run-Guang*, LI Zhao-Guang, HE Jia-Wei, LI Yan

Alpine Economic Plants Research Institute, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Lijiang, Yunnan 674100, China

- 1 植物名称 兰属植物新种珍珠矮(Cymbidium nanulum Y. S. Wu et S. C. Chen)。
- 2 材料类别 九成熟蒴果内种子。
- 3 培养条件 以 1/2MS (大量、微量元素均减半)为基本培养基。(1)种子萌发培养基:1/2MS+6-BA 0.25 mg·L¹ (单位下同)+NAA 0.5+ 活性炭 2 g·L¹+ 椰乳 100 mL·L¹;(2)根状茎增殖培养基:1/2MS+6-BA 0.5+NAA 2+ 活性炭 2 g·L¹+ 椰乳 100 mL·L¹;(3) 芽和根分化培养基:1/2MS+6-BA 5+NAA 0.5+ 椰乳 100 mL·L¹;(4)壮苗培养基:1/2MS+NAA 2+ 香蕉泥 100 g·L¹。上述培养基均附加 8 g·L¹ 琼脂和 30 g·L¹ 蔗糖,pH 5.4。培养温度(23±2),根状茎诱导阶段置黑暗中培养,增殖、分化和壮苗阶段光照培养,光照强度 25~30 μ mol·m²·s¹,光照时间 14 h·d¹。

4 生长与分化情况

- **4.1** 无菌材料的获得 2月,切取尚未开裂的珍珠矮蒴果,切除花梗和残留柱头、花瓣,用 75%酒精擦拭干净后浸入 $1 \, \text{g·L}^1 \, \text{HgCl}_2$ 溶液中 $15 \, \text{min}$,无菌水清洗 $3 \sim 4$ 次。在超净台上,用滤纸吸干水分,切除蒴果两端接触消毒液部分,然后剖开蒴果,将种子直接撒播于培养基(1)上,播种密度以大致铺满培养基,种子间不相互重叠为宜。
- 4.2 根状茎的诱导和增殖 接种 45 d后,部分种胚膨大并突破种皮,先形成原球茎,再经过约60 d后原球茎一端伸长,分化出 1~2 条根状茎。在培养基(1)上不同种子萌发速度差异极大,萌发可持续1 年甚至更长时间,经抽样测定,平均萌发率为35.2%。分批将诱导出的根状茎转接到增殖培养基(2)上,根状茎伸长,并在先端或中间出现小突起,伸长成为分枝状根状茎(图 1),水平生长一

段时间后大多数会垂直向下生长。45 d 继代一次,在分枝处切下或分段切下,转入新鲜培养基中,可继续分化成分枝状根状茎。珍珠矮增殖速率受 NAA 影响较大,在 1~5 mg·L⁻¹ 的范围内,NAA 浓度越高,根状茎增殖速率越快。综合增殖速率与生长情况,以培养基(2)效果较好,每代平均增殖倍数为 3.6。



图 1 珍珠矮的根状茎增殖

- 4.3 芽和根的分化培养 在培养基(2)上也可分化出少量芽和根,但为了提高分化率,可将增殖的根状茎从分枝处切下,转接到分化培养基(3)上。约30 d后,根状茎先端开始分化芽,接种60 d后测定芽平均分化率为72%。新芽生长到约3 cm高、展开1~2片叶后,叶片基部鞘叶内分化出根并向培养基内生长。在培养基(3)中培养90 d时,新芽生根率可达95%以上(图2)。
- **4.4** 壮苗培养与移栽 在分化培养基上培养约 90 d 后,选取健壮新苗转入壮苗培养基(4)中培养 45 d,

收稿 2007-03-14 修定 2007-05-21

资助 云南省重点基金(2003NG09)和云南省国际合作处项目 (SIARF2001)。

^{*} 通讯作者(E-mail:xuerg@163.com;Tel:0888-5121385)。



图 2 珍珠矮的生根壮苗

促进新芽、新根生长。新芽生长到 10~15 cm 高、展开 2~3 片叶、根长满培养基时,逐渐揭开瓶盖,过渡培养 2~3 d。然后取出组织培养苗,洗净培养基,以 500 倍 70% 多菌灵溶液处理过的水苔包裹根部,5~10 株为一丛,合栽于 9 cm×9 cm (口径×高)的营养钵中,置炼苗棚内培养。初期遮去自然光的 90% 左右,棚内温度控制在 25以下,空气湿度 80% 左右,每周喷洒 0.1% 磷酸二氢钾和 0.05% 尿素混合溶液,每月喷 1 000 倍 70% 多菌灵溶液一次,移栽成活率可达 90% 以上。

5 意义与进展 珍珠矮为吴应祥和陈心启(1991)命名的兰科兰属新种,最早发现于云南文山,大致分布于四川南部至云南西部和南部某些特殊环境中。花期6~9月,具有一年多次开花的特性,花色多变,香味清纯。由于珍珠矮植株矮小,分布地域狭窄,野生资源稀少,一直没有像兰属其

他种类一样得到重视,人工驯化、栽培很少(陈心启等1999)。珍珠矮分株繁殖较慢,用植株侧芽组织培养时取材不易,且对植株伤害较大。用种子人工无菌播种繁殖可迅速得到大量实生苗,可能是快速繁殖珍珠矮的一个有效方法。本文结果对珍珠矮大规模栽培和新优品种的选育可能有一定的参考意义。与珍珠矮同属的其他种兰花组织培养已多有报道(张菊野等1993;张志胜2000;徐宏英等2001;吴晓霞等2002;宋卫平等2003;秦改花等2006),但珍珠矮组织培养和快速繁殖的报道迄今未见。

参考文献

陈心启, 吉占和, 罗毅波(1999). 中国野生兰科植物彩色图鉴. 北京: 科学出版社, 182

秦改花, 田芳, 汤士勇(2006). 培养基中附加不同有机物对虎头 兰原球茎增殖的影响. 植物生理学通讯, 42 (3): 469

宋卫平, 万志刚, 顾福根, 许宏庆(2003). 素心建兰的组织培养及快速繁殖. 植物生理学通讯, 39 (4): 355

吴晓霞, 姜敦云, 崔月花, 张彪(2002). 大花蕙兰的组织培养和快速繁殖. 植物生理学通讯, 38 (2): 141

吴应祥, 陈心启(1991). 中国兰属两新种. 植物分类学报, 29 (6): 549~552

徐宏英, 王芳, 谢海军, 赵玉明(2001). 大花蕙兰的组织培养和快速繁殖. 植物生理学通讯, 37 (6): 47

张菊野, 俞玲凤, 连宏坤(1993). 几种影响春兰原球茎生长与分化的因素. 植物生理学通讯, 29 (3): 175~178

张志胜(2000). 兰花育种. 见: 程金水编. 园林植物遗传育种学. 北京: 中国林业出版社, 263~289