

黄花鹤顶兰的组织培养与快速繁殖

王莲辉^{1,*}, 朱玉琴², 姜运力¹, 冯育才³

¹贵州省林业科学研究院生物技术中心, 贵阳 550005; ²贵州省道真县林业局, 贵州道真 563000; ³贵州省大沙河自然保护区, 贵州道真 563000

Tissue Culture and Rapid Propagation of *Phaius flavus* (Bl.) Lindl.

WANG Lian-Hui^{1,*}, ZHU Yu-Qin², JIANG Yun-Li¹, FENG Yu-Cai³

¹Center of Biological Technology, Guizhou Academy of Forestry, Guiyang 550005, China; ²Forestry Bureau of Daozhen County, Daozhen, Guizhou 563000, China; ³The Administration Bureau of Dashahe Nature Reserve, Daozhen, Guizhou 563000, China

1 植物名称 黄花鹤顶兰 [*Phaius flavus* (Bl.) Lindl.]。

2 材料类别 种子。

3 培养条件 种子萌发培养基:(1) MS;(2) MS+100 mL·L⁻¹香蕉汁;(3) 1/2MS;(4) 1/2MS+100 mL·L⁻¹香蕉汁;(5) VW;(6) VW+100 mL·L⁻¹香蕉汁。原球茎继代增殖培养基:(7) VW+NAA 0.2 mg·L⁻¹(单位下同)+100 mL·L⁻¹香蕉汁;(8) VW+NAA 0.4+100 mL·L⁻¹香蕉汁;(9) VW+6-BA 0.5+NAA 0.2+100 mL·L⁻¹香蕉汁;(10) VW+6-BA 2.0+NAA 0.2+100 mL·L⁻¹香蕉汁。壮苗及生根培养基:(11) 3 g·L⁻¹花宝1号(台和园艺企业股份有限公司, N:P:K=7:6:19)+IBA 0.3+2 g·L⁻¹活性炭;(12) 3 g·L⁻¹花宝3号(台和园艺企业股份有限公司, N:P:K=10:30:20)+IBA 0.3+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。培养温度为(25±2)℃, 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 将黄花鹤顶兰异花人工授粉, 120 d 左右荚果成熟, 经自来水洗净后, 用 75% 乙醇表面消毒 30 s, 置于 10% 次氯酸钠溶液中消毒 20 min, 再以 0.1% 的升汞溶液消毒 15 min, 最后用无菌水冲洗 5 次。将消毒过的成熟荚果置于灭菌滤纸上吸干水分, 用解剖刀切开荚果, 将粉末状种子均匀撒在培养基(1)~(6)中, 先暗培养 3 周后, 再转至光下培养。

4.2 原球茎的获得 种子在黑暗中培养, 40 d 左右种胚突破种皮, 有白色原球茎长出, 移至光下培养, 原球茎由白转黄绿, 逐渐膨大; 60~70 d 后, 开始长成顶端有绿色叶原基的芽。培养基(1)、(2)

中种子极少萌发; 培养基(3)、(4)中种子萌发率达 30%~40%; 培养基(6)中的萌发效果最好, 萌发率达 70% 以上; 培养基(5)中的萌发率远不如培养基(6), 萌发率只有 50%。相比之下, 所用的不同基本培养基在种子萌发过程中有差异, 种子发芽后生长速度快。

4.3 原球茎的继代增殖和分化成苗 将初代培养的原球茎和芽分别在培养基(7)~(10)上继代增殖培养, 原球茎都有增殖, 培养基(7)、(8)上原球茎大多长成植株, 增殖速度慢; 培养基(9)、(10)上原球茎增殖速度快, 增殖效果好, 60~70 d 能继代增殖 1 次。由此可见, 在培养基(9)、(10)上, 原球茎迅速萌发成芽, 在芽的基部有新的原球茎产生, 继而又能分化出芽。培养基(10)中形成的芽有玻璃化现象, 培养基(9)中部分原球茎开始长出 1~2 片小叶, 形成的苗较为粗壮, 原球茎的增殖与芽分化同时进行。待芽数量较多时, 将高 2~3 cm、带有 2~3 片叶的小芽切下, 转入生根培养基上进行生根培养。

4.4 生根与移栽 将较大的无根苗转入生根培养基(11)、(12)上培养, 植株生长旺盛, 5 周后形成 3~5 cm 的小苗, 培养基(12)比培养基(11)根系发达, 生根率达 90% 以上(图 1)。当苗高 5 cm 以上、具 3~4 片叶时, 便可出瓶移栽。移栽前, 将生根瓶苗打开瓶盖, 移至常温下炼苗 3 d, 然

收稿 2007-08-13 修定 2007-09-11

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)。

* E-mail: gzwanglianhui@163.com; Tel: 0851-3921038



图1 黄花鹤顶兰的生根苗

后将瓶苗取出, 洗去附着在根部的培养基, 用0.01%的高锰酸钾溶液浸泡8~10 min, 栽种于已灭菌的碎树皮基质中(移栽前浇透水), 放置在遮光度50%~60%、湿度达80%以上的温室中。2

个月后, 成活率达90%以上。

5 意义与进展 黄花鹤顶兰是兰科鹤顶兰属植物, 产于贵州、云南、广西和海南等地, 生长在海拔1800 m林下和沟谷阴处, 是一种集观赏和药用于一体的兰科植物。假鳞茎粗状, 叶大型, 长70 cm, 宽10 cm。花序从茎基部或叶腋中抽出, 高达1 m以上; 总状花序具多朵花; 花色丰富, 艳丽芳香, 较美丽, 花期长达1个月以上, 可作盆栽及切花。由于野生植株被过度采挖, 再加上种子无胚乳, 黄花鹤顶兰在野外的有性繁殖因种子萌发需与真菌共生才能萌发, 自然条件下萌发率极低, 已濒临灭绝; 人工栽培中虽然可以用常规的分株繁殖获得种苗, 但繁殖率低, 繁殖慢。本文的播种技术已获得大量试管苗, 这对物种的保护和开发可能有一定的潜在应用前景。黄花鹤顶兰的组织培养与快速繁殖未见报道。