

杏黄兜兰胚培养与快速繁殖

丁长春^{1,2,*} 虞泓^{2,**} 刘方媛³ 魏兴强³

¹云南文山师范高等专科学校, 文山 663000; ²云南大学生命科学学院生态遗传学实验室, 昆明 650091; ³云南英茂生物农业有限公司, 昆明 650301

Embryo Culture and Rapid Propagation of *Paphiopedilum armeniacum*

DING Chang-Chun^{1,2,*}, YU Hong^{2,**}, LIU Fang-Yuan³, WEI Xing-Qiang³

¹Wenshan Teachers College, Wenshan 663000; ²Laboratory of Ecological Genetics, College of Life Science, Yunnan University, Kunming 650091; ³Yunnan Yingmao Bio-Agriculture Company Limited, Kunming 650301

1 植物名称 杏黄兜兰 (*Paphiopedilum armeniacum*)。

2 材料类别 蒴果内的胚。

3 培养条件 (1)播种培养基(液体浅层静置培养): 1/4MS+1 g·L⁻¹胰蛋白胨+15%(V/V)椰乳+KT 0.5 mg·L⁻¹(单位下同)+15 g·L⁻¹蔗糖+1 g·L⁻¹活性炭; (2)增殖培养基: 1/3MS+2 g·L⁻¹胰蛋白胨+10%(V/V)椰乳+ 6-BA 1+Ad 5+NAA 0.5+20 g·L⁻¹蔗糖; (3)原球茎分化培养基: MS+2 g·L⁻¹胰蛋白胨+6-BA 0.5+NAA 0.2+20 g·L⁻¹蔗糖; (4)壮苗及生根培养基: 1/2MS+ 3 g·L⁻¹胰蛋白胨+NAA 1+6-BA 0.2+10%(W/V)香蕉泥+20 g·L⁻¹蔗糖+1 g·L⁻¹活性炭。以上培养基 pH 均为 5.2~5.4, 培养温度为(25±2)℃。

4 生长与分化情况

4.1 启动培养 将成熟果荚内的种子取出,用滤纸包好后,置于1%次氯酸钠溶液中消毒,并以磁力搅拌器搅拌,直至种子明显变白为止(时间为15 min~3 h,依种子成熟度而定)。然后将种子刮入无菌水中清洗,接着用无菌漏斗过滤。再将种子刮入少量无菌水中,摇匀。最后用吸管将胚带水吸出,接种于培养基(1)上进行黑暗培养。约20 d后可看到种子吸水膨大,50 d发育形成原球体。

4.2 增殖培养 将如上获得的原球体接种到培养基(2)上,弱光照培养(约500 lx)。7 d后原球体开始萌动,70 d时原球体明显增殖。增殖系数3~4,以80 d为1个继代周期。

4.3 小苗诱导及生根 将增殖的原球体切割分离,转入培养基(3),光照度加强至1 000~2 000 lx。约40 d后,叶原基出现,生长加快。约90 d时发育形成完整的小植株。待植株长至2~3 cm高时,将其移至培养基(4),光照度加强至3 000~5 000 lx。经过60~90 d,试管苗的生根率达95%以上。植

株高4~5 cm,根长1.5~2.0 cm,可准备炼苗移栽。**4.4 小苗移栽与养护** 移栽前2周,在超净工作台上将塞子取去,换上2层牛皮纸封口,然后移至温室苗床上摆放。移栽时先往瓶里灌入少量水,将培养基摇散后,用镊子轻轻取出小苗,注意不要伤及根部。用水洗去根部附着的培养基,将根部放入70%甲基托布津药液中消毒4 h,药液浓度为1 500倍。然后将植株凉干,置于背阴处定植。定植材料以优质水苔为佳。定植后,初期温度为18~25℃,空气湿度70%~90%,光照度3 000~6 000 lx。1个月后统计移栽成活率,达到85%以上。健壮、高大的苗适应力更强,成活率更高些。

5 意义与进展 杏黄兜兰为兰科兜兰属植物。花形奇特且色彩艳丽,曾多次在国际大型兰花展览中获金牌奖。近几十年来,由于原生地理环境的破坏及人为滥采乱挖,野生资源已十分稀少。杏黄兜兰种子在自然状态下萌发需要共生真菌存在,且萌发率极低;而采用其他外植体(如茎段、茎尖)培养,目前仍然无可操作性强的操作流程。本文采用人工授粉技术,然后收集适龄蒴果进行繁殖。由于蒴果内含有大量的种子,用以培养可实现大量繁殖,这不仅可以解决杏黄兜兰资源面临枯竭的问题,且对建立迁地保护技术体系也有一定的意义。因此,这可能是一条值得考虑的繁殖途径。国内外尚无该种植物组培成功的报道。

收稿 2003-10-16 修定 2004-06-16

资助 云南大学省级生物技术人才培养基地项目和云南大学植物学博士点基金项目。

* E-mail: cc_ding@yahoo.com.cn, Tel: 0876-2622210

** 通讯作者(E-mail: fisher@public.km.yn.cn, Tel: 0871-8327767)。