

麻栗坡兜兰的无菌播种与快速繁殖

丁长春^{1,2,3}, 夏念和^{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; ³文山学院生物资源开发研究中心, 云南文山 663000

Aseptic Sowing and Rapid Propagation of *Paphiopedilum malipoense* S. C. Chen & Z. H. Tsi *in vitro*

DING Chang-Chun^{1,2,3}, XIA Nian-He^{1,*}

¹South China Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650, China; ²Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; ³Research and Development Center of Bioresources, Wenshan College, Wenshan, Yunnan 663000, China

1 植物名称 麻栗坡兜兰(*Paphiopedilum malipoense* S. C. Chen & Z. H. Tsi)。

2 材料类别 种子。

3 培养条件 种子萌发培养基: (1) 1/4MS; (2) 1/2MS; (3) MS; (4) 花宝1号(美国 Haponex 公司产品, N:P:K=7:6:19) 3.0 g·L⁻¹。原球茎增殖和分化成苗培养基: (5) 1/4MS+6-BA 1.0 mg·L⁻¹(单位下同)+NAA 0.1; (6) 1/4MS+6-BA 1.0+NAA 0.1+AgNO₃ 1.0; (7) 花宝1号 3.0 g·L⁻¹+6-BA 1.0+NAA 0.1; (8) 花宝1号 3.0 g·L⁻¹+6-BA 1.0+NAA 0.1+AgNO₃ 1.0。丛生芽诱导培养基: (9) 1/2MS+6-BA 5.0+NAA 1.0; (10) 1/2MS+6-BA 5.0+Ad 5.0+NAA 1.0+GA₃ 1.0; (11) 花宝1号 3.0 g·L⁻¹+6-BA 5.0+NAA 1.0; (12) 花宝1号 3.0 g·L⁻¹+6-BA 5.0+Ad 5.0+NAA 1.0+GA₃ 1.0。壮苗生根培养基: (13) 花宝1号 3.0 g·L⁻¹+10% 香蕉汁+2.0 g·L⁻¹ 活性炭; (14) 花宝1号 3.0 g·L⁻¹+10% 香蕉汁+0.5 g·L⁻¹ 活性炭+NAA 1.0。以上培养基均添加 2.0% 蔗糖, 0.58% 琼脂固化, pH 为 5.4~5.6。培养温度为 (25±1) °C, 光照强度为 30~50 μmol·m⁻²·s⁻¹, 光照时间为 10~12 h·d⁻¹。培养基(1)~(12)均添加 100 mL·L⁻¹ 椰子乳。培养基(1)~(4)均添加活性炭 1.0 g·L⁻¹。

4 生长与分化情况

4.1 材料的无菌处理 对麻栗坡兜兰进行人工授粉。180 d 后采收蒴果。自来水清洗后于超净工作台上用 70% 酒精浸泡 60 s, 转入 0.1% 升汞溶液中浸泡 15 min, 取出蒴果, 吸干水分, 剖开蒴果, 将种子放入 0.5% NaClO 溶液中处理 8 min, 用一次性注射器吸出液体, 倒入无菌水清洗种子 1 次, 最后将种子均匀地播在培养基表面。

4.2 种子萌发 培养初期进行暗培养。8 周后比较萌发率。培养基(1)的萌发效果最好, 可达 36%; 其次为培养基(4), 萌发率达 19%, 但萌发后有明显褐化迹象; 培养基(2)的萌发率为 11%, 高于培养基(3)的 9%, 且培养基(3)中也有明显褐化现象。

4.3 原球茎增殖和分化出苗 8 周后将培养物转入(5)~(8)号培养基进行光照培养, 约 1 周后原球茎转绿, 并开始分化出芽。培养基(6)和(8)的分化均优于培养基(5)和(7), 但在 4 周后培养基(8)的苗生长速度优于培养基(6), 且苗更为粗壮。

4.4 丛生芽诱导 将高度 2 cm 以上的苗单株接入(9)~(12)号培养基中培养, 6 周后(10)和(12)号培养基丛生芽诱导情况优于(9)和(11)号培养基。(10)和(12)号培养基丛生芽增殖率均达 300% 以上, 但营养维持能力以(12)号培养基为佳。

4.5 壮苗和生根培养 将高度 2.0 cm 以上的苗单株接入培养基(13)和(14)中培养, 生根率均达 90% 以上, 12 周后比较发现培养基(13)的根系更为自然, 而培养基(14)的根系长而细。

4.6 炼苗和移栽 将高度为 5 cm 以上生根苗移入大棚条件下适应 10~15 d, 用镊子夹住苗基部小心取出, 洗净根部附着的培养基, 用 0.1% 的高锰酸钾溶液浸泡 2 min, 晾干后定植于粒径 3~5 mm 的松树皮基质中, 15 d 内注意保湿, 防止叶面脱水。30 d

收稿 2009-09-29 修定 2009-10-20

资助 中国科学院知识创新工程和云南省教育厅基金(520208B)。

* 通讯作者(E-mail: nhxia@scib.ac.cn; Tel: 020-37252565)。

后新根萌动。统计成活率达90%以上。之后进行正常水、肥、药管理。

5 意义与进展 麻栗坡兜兰为兰科(Orchidaceae)兜兰属植物, 分布于越南北部和我国云南、贵州和广西(Cribb 1998)。已列入《濒危野生动植物种国际贸易公约》(Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora, CITES)附录 I, 是绝对禁止野生资源贸易的物种。麻栗坡兜兰的种子在野外需要与其真菌共生才能萌发, 自然状态下的萌发率极低。常规的分株繁殖率也很低。本文对其无菌萌发、原球茎分化以及丛生芽诱导进行探索的结果对该植物的保护和栽培利用有一定的参考价值。与其同属的其他种的组培工作

已有报道(丁长春等 2005; 王莲辉等 2008; 曾宋君等 2006; Arditti 1982), 但麻栗坡兜兰的无菌播种和丛生芽快速繁殖未见报道。

参考文献

- 丁长春, 虞泓, 刘方媛, 魏兴强(2005). 杏黄兜兰胚培养与快速繁殖. 植物生理学通讯, 41 (1): 55
- 王莲辉, 姜运力, 余金勇, 罗在柒, 陈景艳(2008). 同色兜兰的组织培养与快速繁殖. 植物生理学通讯, 44 (6): 1171~1172
- 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
- Arditti J (1982). *Orchid Biology, Reviews and Perspective II*. Ithaca: Cornell University Press
- Cribb P (1998). *The Genus Paphiopedilum* (2nd ed). Kota Kinabalu: Natural History Publications (Borneo)