

版纳蝴蝶兰的组织培养与快速繁殖

方中明^{1,2}, 吴坤林¹, 陈之林¹, 段俊¹, 曾宋君^{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

Tissue Culture and Rapid Propagation of *Phalaenopsis mannii* Rchb. F.

FANG Zhong-Ming^{1,2}, WU Kun-Lin¹, CHEN Zhi-Lin¹, DUAN Jun¹, ZENG Song-Jun^{1,*}

¹South China Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650, China; ²Graduate University, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

1 植物名称 版纳蝴蝶兰(*Phalaenopsis mannii* Rchb. F.)。

2 材料类别 种子。

3 培养条件 种子萌发培养基:(1) MS;(2) MS+椰子乳 100 mL·L⁻¹;(3) 1/2MS;(4) 1/2MS+椰子乳 100 mL·L⁻¹;(5) 1/4MS;(6) 1/4MS+椰子乳 100 mL·L⁻¹;(7) 1/2MS+苹果汁 100 mL·L⁻¹;(8) 1/2MS+椰子乳 100 mL·L⁻¹+苹果汁 100 mL·L⁻¹;(9) VW;(10) VW+椰子乳 100 mL·L⁻¹;(11) KC;(12) KC+椰子乳 100 mL·L⁻¹。原球茎增殖与分化培养基:(13) 1/2MS+6-BA 2.0 mg·L⁻¹(单位下同)+NAA 0.5;(14) 1/2MS+椰子乳 50 mL·L⁻¹+6-BA 2.0+NAA 0.5;(15) 1/2MS+活性炭 2 g·L⁻¹+6-BA 0.5+NAA 1.0;(16) 1/2MS+活性炭 2 g·L⁻¹+椰子乳 100 mL·L⁻¹+6-BA 0.5+NAA 1.0。生根与壮苗培养基:(17) 花宝 1号 3 g·L⁻¹+蛋白胨 2 g·L⁻¹+活性炭 2 g·L⁻¹+NAA 0.5+椰子乳 100 mL·L⁻¹+香蕉汁 50 g·L⁻¹;(18) 花宝 1号 1.5 g·L⁻¹+花宝 2号 1.5 g·L⁻¹+蛋白胨 2 g·L⁻¹+活性炭 1.5 g·L⁻¹+NAA 0.5+椰子乳 100 mL·L⁻¹+香蕉汁 50 g·L⁻¹。以上培养基均附加 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 将版纳蝴蝶兰进行人工授粉, 150 d左右荚果成熟, 取略带黄色的荚果用自来水洗净后, 在超净工作台上用 70% 酒精的棉球擦拭干净荚果表面, 接着于 70% 酒精中浸泡 30 s, 再用 0.1% 升汞消毒 15 min, 无菌水冲洗 5 次。用无菌解剖刀将荚果纵向剖成两半, 用无菌滤纸吸干荚果表面水分, 剪除上下两端, 沿中缝线纵向切开荚果, 刮出种子于无菌水中制成悬浮液, 并将其摇匀后吸取 1 mL 滴入培养基(1)~(12)上, 使之

均匀分布。每处理小瓶播种 20 瓶, 从中取各处理中小瓶 5 瓶于黑暗条件下培养, 其他光照培养。**4.2 种子萌发** 在光照培养中, 1 周后原球茎膨大, 30 d 后转绿, 60 d 后原球茎上端出芽。培养基(1)、(3)、(7)、(9)、(11)上萌发率在 10% 左右, (2)、(8)、(10)上为 50% 左右, (12)上为 60% 左右, (6)上为 70% 左右, (5)上仅极少数萌发, (4)上萌发率最高, 达到 85% 左右。培养基(2)、(4)、(6)、(8)、(10)、(12)中的萌发和生长速度比(1)、(3)、(5)、(7)、(9)、(11)中快, 说明椰子乳能促进版纳蝴蝶兰种子的萌发。在暗培养中, (1)、(3)、(9)、(10)上的萌发率比光下培养的高 10% 左右, (4)、(6)、(10)、(12)上的萌发率为 60% 左右。光暗培养比较表明, 在培养基(4)上光下培养有利于版纳蝴蝶兰种子萌发。

4.3 原球茎的增殖与分化 切下种子萌发形成的实生苗的幼叶后, 将其培养在培养基(13)和(14)中均能进行原球茎的增殖, (14)的效果明显比(13)好, 在(13)中增殖时有部分原球茎死亡, 40 d 的继代周期内可达到 2.5 倍左右, 而(14)中原球茎的增殖率在 40 d 的继代周期内可达到 3 倍以上(图 1)。原球茎在(15)、(16)中能分化成苗, 培养基(16)对原球茎分化效果较好, 分化率可达 85% 以上。

4.4 生根与壮苗 将分化出具有 1~2 片叶长 1.0~1.5 cm 的小苗转入培养基(17)、(18)上培养, 20 d 左右统计, 生根率均可达 95% 以上, 每株有 3~4 条

收稿 2008-03-12 修定 2008-05-21

资助 广州市科技计划项目(2007Z3-E0631)和中国科学院知识创新工程重要方向项目(kscx2-sw-319)。

* 通讯作者(E-mail: zengsongjun@scib.ac.cn; Tel: 020-37252990)。

根,但培养基(18)上的根系更为健壮(图2)。

4.5 炼苗与移栽 出瓶时,将培养瓶置于温棚中炼苗1周后,取出生根苗,洗净根部附着的培养基,以1000倍多菌灵溶液浸泡1h的白水苔为基质,挤去水分,包住苗根部,种植于直径为0.5cm小盆中。保持适宜湿度,置于阴凉通风处,期间不浇水,2周后移入温棚中栽培,并正常水、肥、药管理,成活率达98%以上(图3)。

5 意义与进展 版纳蝴蝶兰是兰科蝴蝶兰属植物,生长于海拔1350m的常绿阔叶林中树干上,分布于我国云南南部、尼泊尔、锡金、印度东北

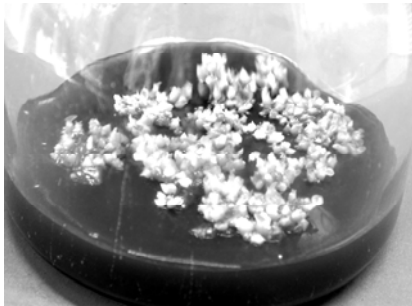


图1 版纳蝴蝶兰原球茎在培养基(14)中的增殖和分化



图2 版纳蝴蝶兰原球茎在培养基(18)上壮苗生根



图3 移栽成活的版纳蝴蝶兰试管苗

部、缅甸、越南等地。其花色带紫褐色横纹斑块,观赏价值高,是重要的野生观赏兰花和杂交亲本。由于其原生地环境的破坏和过度的人工采挖,野外种群数量已极为稀少,日益濒危。版纳蝴蝶兰的种子在自然状态下需与真菌共生才能萌发,萌发率极低,也很难用其他的传统繁殖方式进行繁殖。采用无菌播种培养,能够在短时间内获得大量种苗,对满足市场需要和野生资源的保护可能有潜在的应用价值。同属植物中虽有蝴蝶兰的无菌播种(范成五等2006)和组织培养的报道(曾宋君等2000;李进进等2000;王再花等2007),但版纳蝴蝶兰的无菌萌发和试管育苗尚未见报道。

参考文献

- 范成五,黄燕芬,苟久兰,刘建英(2006). 蝴蝶兰无菌播种繁殖试验. 贵州农业科学, 34 (4): 28~29
- 李进进,廖俊杰,柯丽婉,蔡佩玲(2000). 蝴蝶兰根段的组织培养. 植物生理学通讯, 36 (1): 37
- 王再花,朱根发,吕复兵,叶庆生(2007). 蝴蝶兰快速繁殖及花芽诱导. 亚热带植物科学, 36 (3): 65~66
- 曾宋君,彭晓明,张京丽,赵逢畔(2000). 蝴蝶兰的组织培养和快速繁殖. 武汉植物学研究, 18 (4): 344~346