

云南火焰兰的离体快速繁殖

林丹妮 曾宋君* 陈之林 段俊

中国科学院华南植物园, 广州 510650

In vitro Propagation of *Renanthera imschootiana* Rolfe

LIN Dan-Ni, ZENG Song-Jun*, CHEN Zhi-Lin, DUAN Jun

South China Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650, China

1 植物名称 云南火焰兰(*Renanthera imschootiana* Rolfe)。

2 材料类别 种子和实生苗叶片。

3 培养条件 种子萌发培养基: (1) VW; (2) VW+椰子乳 100 mL·L⁻¹; (3) 1/2MS; (4) 1/2MS+椰子乳 100 mL·L⁻¹; (5) MS; (6) MS+椰子乳 100 mL·L⁻¹; (7) VW+椰子乳 100 mL·L⁻¹+活性炭 2 g·L⁻¹。叶片离体培养基 (8) VW+2, 4-D 1.0 mg·L⁻¹ (单位下同)+6-BA 2.5 +NAA 0.2; (9) VW+2, 4-D 2.0+6-BA 5.0+NAA 0.5; (10) MS+2, 4-D 2.0+6-BA 5.0+NAA 0.5。原球茎继代增殖和分化培养基: (11) 花宝 1 号(美国 Haponex 公司, N:P:K=7:6:19) 1.5 g·L⁻¹+花宝 2 号(美国 Haponex 公司, N:P:K=20:20:20) 1.5 g·L⁻¹+椰子乳 100 mL·L⁻¹+6-BA 1.0+NAA 1.0 (12) VW+椰子乳 100 mL·L⁻¹+6-BA 1.0+NAA 1.0。生根壮苗培养基: (13) 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+6-BA 0.2; (14) 花宝 1 号 1 g·L⁻¹+花宝 2 号 1 g·L⁻¹+蛋白胨 2 g·L⁻¹+活性炭 2 g·L⁻¹+NAA 0.5+6-BA 0.2。培养基均加 1.5% 蔗糖和 0.6% 琼脂, pH 5.2~5.4。培养温度 (25±2)°C, 光强 30~40 μmol·m⁻²·s⁻¹, 光照 12 h·d⁻¹。

4 生长与分化情况

4.1 材料的无菌处理和种子萌发 将云南火焰兰自花或异花人工授粉, 150 d 左右荚果成熟, 自来水洗净后, 用 70% 酒精消毒 30 s, 0.1% 升汞消毒 15 min, 无菌水洗 5 次。吸干水分, 切开荚果, 将种子散落到培养基 (1)~(7) 上。暗培养 15~25 d 后, 均可见白色原球茎突破种皮; 转入光下, 1 周后原球茎转绿, 5 周后原球茎上端出芽。培养基 (1)、(3) 上萌发率 40% 左右, (5) 上 30% 左右, (2) 上 70% 左右, (4) 上 60% 左右, (6) 上为 50% 左右。培养基 (2)、(4)、(6) 中的萌发和生长速度比 (1)、(3)、(5) 中快, 说明椰子乳对种子萌发有较大影响。(7) 中加了活性炭, 萌发速度比 (2) 慢, 萌发率降为 50% 左右, 但苗生长较粗壮。

4.2 叶片诱导原球茎和原球茎增殖 切下种子萌发形成的实生苗的幼叶, 培养在培养基 (8)~(10) 中。

60 d 左右, (9) 中叶片切口形成原球茎, 诱导率 50%; (8) 中 70 d 左右形成原球茎, 诱导率 35%; (10) 中 70 d 左右形成原球茎, 但诱导率仅 20%。原球茎在培养基 (11) 中继代增殖的效果比 (12) 好, 50 d 左右增殖倍率可达到 3.0, (12) 中为 2.5 左右; 原球茎在增殖的同时有芽的分化。

4.3 壮苗和生根培养 将种子萌发和叶片小苗在培养基 (13)、(14) 上培养, 生根率达 100%。植株生长旺盛, 8 周后形成 3~5 cm 高的小苗。在培养基 (13) 上比 (14) 根系发达, 但植株较小, 生产中采用 (14) 作生根壮苗培养基为宜。

4.4 移栽 将培养瓶置于温棚中炼苗 1 周后, 取出生根苗, 洗净附着的培养基, 将白水苔用 1 000 倍多菌灵溶液浸泡 1 h, 挤干水分, 包裹出瓶苗根部, 种植于 0.5 cm 小盆中。保持适宜湿度, 置于阴凉通风处, 期间不浇水。2 周后移入温棚栽培, 进行正常水、肥、药管理, 成活率达 98% 以上。

5 意义与进展 云南火焰兰为兰科火焰兰属植物, 主要分布于我国云南东南部地区。附生于树上, 花序自叶腋长出, 着花可达十多朵或数十朵, 花色艳丽, 花数众多, 远观如火焰般绚丽, 观赏价值高。由于云南火焰兰与本属中的其它种及其近缘属的种类亲和力较强, 可作为杂交育种的亲本, 因而采挖非常严重, 处于濒危状态。云南火焰兰的种子无胚乳, 在野外需与真菌共生才能萌发, 发芽率极低, 人工栽培中虽然可以用常规的扦插繁殖, 但增殖率也很低。我们采用无菌播种和组织培养, 已生产出 10 000 多株试管苗, 为这一物种的保护和开发应用开辟了新途径。云南火焰兰的无菌播种和利用叶片诱导原球茎再出芽的组织培养方法未见报道。

收稿 2005-06-14 修定 2005-09-26

资助 中国科学院知识创新工程重要方向项目 (kscx2-sw-319)、中国科学院华南植物园前沿项目 (20023301)、广州市科技计划项目 (2004J1-C0201)。

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