

文山红柱兰快速繁殖技术的研究

丁长春¹ 张 铁¹ 刘方媛²

(1.文山师范高等专科学校 生物资源开发研究中心,云南 文山 663000;

2.中国科学院 昆明植物研究所,云南 昆明 650204)

【摘要】 文山红柱兰授粉后180天的种子具有较高的萌发率,且1/3MS培养基显著优于其他基本培养基;基本培养基中添加10%的椰乳有利于种子的萌发;茎尖在MS + NAA0.3 + BA3.0(单位:mg/L,下同) + 椰乳10%的培养基上诱导产生原球茎的几率最高;原球茎在MS + NAA0.1 + BA0.5的培养基上增殖,同时部分分化成芽;幼芽在附加5%香蕉汁和5%马铃薯汁的1/2 MS培养基上诱导出根而再生完整小植株。

【关键词】 兰属;文山红柱兰;种子;茎尖;组织培养;快速繁殖

【中图分类号】 Q949.71 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-3303(2005)03-0225-02

文山红柱兰(*Cymbidium wenshanense* Y.S. Wu et F. Y. Liu)产于云南文山,是1990年发现的兰科兰属新种^[1],又称彩蝶玉兰。在兰花热潮的冲击下,挖掘野生兰花一度到了疯狂的程度,包括文山红柱兰在内的国产珍稀大花种类,如美花兰、大雪兰、独占春已濒临灭绝,仅在一些交通极不发达的偏远山区还保存有少量植株。文山红柱兰快速繁殖至今尚未见报道。最近,作者以其种子和茎尖为材料,利用植物组织培养技术,建立了人工快速繁殖技术体系,为快速繁殖和开发利用这一野生资源奠定了基础。

1 材料与方 法

1.1 材 料

材料为引种栽培的云南省文山州野生文山红柱兰植株,取其人工授粉后4~10个月的果实和5~10cm高的嫩芽。

1.2 方 法

材料经表面清洗后,放入75%酒精中灭菌30秒,再以0.1%升汞灭菌7~10分钟,用无菌水冲洗4~5次。在无菌条件下把果实切开,将种子均匀撒播在培养基上,茎尖材料剥取约10 mm³的生长点接种到诱导培养基上。

以花宝一号(Hyponex 1, 7-6-19) 3 g/L、改良VW(Vacin和Went, 1949, 添加MS的微量元素)、MS、KC(Knudson C, 1946)为基本培养基,根据不同培养阶段及不同试验方法,添加不同的激素。蔗糖浓度2%,灭菌前调整pH值至5.6。培养温度25℃,每天连续光照12 h,光照强度1 500~3 000 lx。表1~表2的试验中,每种处理接种5瓶材料,重复试验2次。增殖率为两次试验的平均值(污染瓶数不在统计范围)。文山

红柱兰类原球茎个体较小,本次试验以培养前后原球茎鲜重差求月增殖率。

2 结果与分析

2.1 影响文山红柱兰种子萌发的因素

试验结果如表1所示。在各种培养基上,授粉后4个月的种子仅有少量能萌发,5个月的种子萌发率更佳,6月时达到最高,随着时间的推移,种子过熟,萌发率反而逐步下降。这说明成熟度合适的种子具有最好的萌发能力。试验中添加椰乳(CM)10%有利于种子的萌发。试验结果还表明,以1/3MS作基本培养基,种子萌发率高于花宝培养基、KC培养基和改良的VW培养基。

表1 影响文山红柱兰种子萌发的因素

培养基 Medium(mg/L)	种子成熟度 Seed maturity(month)				
	4	5	6	7	8
1/3MS	31	62	90	72	54
1/3MS + 10% CM	45	75	96	78	61
Hyponex	25	41	53	47	51
Hyponex + 10% CM	36	49	61	52	57
改良 VW	19	35	50	41	37
改良 VW + 10% CM	24	41	56	49	42
KC	23	38	49	38	30
KC + 10% CM	31	43	58	40	35

注:播种2个月后统计萌发率。

2.2 类原球茎的诱导、增殖及植株再生

从表2可以看出,茎尖外植体接种到激素组合为NAA0.3 + BA3.0 mg的培养基中,两周后可观察到茎尖外植体膨大、变绿,诱导率最高达61%;而在PLB的后续发育过程中,虽然以添加NAA0.1 + BA1.0的繁殖率最高,但PLB细弱发黄;在组合NAA0.1 + BA0.5中,类

原球茎经过培养不断增殖,颗粒增大、变绿,形成直径 2~3 mm 的圆形颗粒。

类原球茎在增殖培养基中培养约 2~3 个月即进入器官分化,形成小芽(见图 1)。小芽在添加 5% 香蕉汁和 5% 马铃薯的 1/2MS 培养基中培养 1~2 个月,可形成具有 2~3 条小根的完整再生植株(见图 2)。再经过约 100 天,待幼苗植株高度达 10 厘米左右时即可进行炼苗移栽工作。

表 2 外源激素对茎尖诱导 PLB 及其发育的影响

处 理	诱导率	处 理	增殖率
NAA0.1 + BA1	18%	NAA0.1 + BA0.1	110%
NAA0.2 + BA2	29%	NAA0.1 + BA0.5	370%
NAA0.3 + BA3	61%	NAA0.1 + BA1.0	430%

3 小结

(1)文山红柱兰种子在不含激素的改良 1/3MS 培养基上能够萌发,在 6 个月内,萌发率随着种子成熟度

的提高而增加。种子萌发后,胚发育形成原球茎而不是根状茎,这与地生兰类种子萌发后形成根状茎的情况不同。

(2)添加适量的椰乳后,种子萌发率显著增加,表明椰乳内具有某种活性物质可促进种子的萌发,我们在对兰科杏黄兜兰的研究中也得到类似的结果^[2]。

(3)文山红柱兰幼苗茎尖在 MS + NAA0.3 + BA3.0 + 椰乳 10% 的培养基上诱导产生原球茎的几率最高。

(4)文山红柱兰原球茎最佳继代培养配方是 MS + BA 0.5 + NAA 0.1,它既可以使原球茎保持较高的繁殖系数,同时也获得较多有根小苗用于移栽,这部分苗不需经生根培养的程序,有利于大量生产移栽苗。

(5)在生根培养过程中,培养基中附加 5% 的香蕉汁及 5% 的土豆汁对试管苗壮苗及生根有明显促进作用。

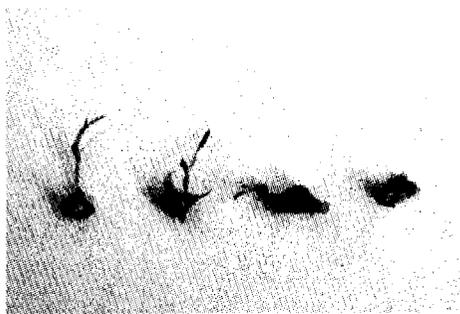


图 1

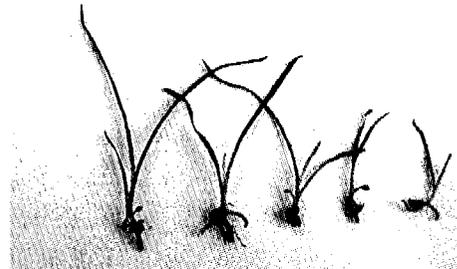


图 2

参考文献:

[1]吴应祥,刘方媛.云南兰属一新种[J].云南植物研究,1990,

12(3): 291-292.

[2]丁长春,虞泓,刘方媛.影响杏黄兜兰种子萌发的因素[J].云南植物研究,2004,26(6):673-677.

Rapid Propagation of *Cymbidium wenshanense* Y. S. Wu et F. Y. Liu

DING Chang - chun¹ ZHANG Tie¹ LIU Fang - yuan²

(1. Wenshan Biological Resources Development Centre, Wenshan Yunnan 663000, China;

2. Kunming Plant Research Institute of Chinese Academy of Sciences, Kunming Yunnan 650204, China)

Abstract: A rapid propagation method of *Cymbidium wenshanense* through in vitro culture of seeds and shoot tips is described in this paper. The germination capacity of young seed is very low but become prominently higher when it reaches six months old. Although seeds could germinate on basic medium, adding of coconut milk to the medium clearly stimulates the germination of seed. After germination, the embryos developed into Protocorm-like bodies (PLBs), which later multiply and differentiate into leaves and roots, and form complete plantlet. It takes more than seven months for seeds to develop into plantlets after sowing. PLBs are induced from shoot tip explants in MS medium supplemented with NAA 0.1 mg/L, BA 3.0 mg/L and with coconut milk 10%. PLBs multiply in MS medium supplemented with NAA 0.1 mg/L and BA 0.5 mg/L. Plantlets are induced from PLBs in the media without hormone. Roots are induced in 1/2 MS medium supplemented with 5% banana juice and 5% potato juice.

Key words: *Cymbidium*; *Cymbidium wenshanense*; seeds; shoot tips; tissue culture; rapid propagation