

寒兰的组织培养与试管开花

朱国兵^{1,2,*}, 杨柏云¹, 敖爱艳²

¹南昌大学生命科学学院, 南昌 330031; ²广西农业职业技术学院, 南宁 530007

Tissue Culture and *in vitro* Flowering of *Cymbidium kanran* Makino

ZHU Guo-Bing^{1,2,*}, YANG Bo-Yun¹, AO Ai-Yan²

¹College of Life Sciences, Nanchang University, Nanchang 330031, China; ²Guangxi Vocational College of Agriculture, Nanning 530007, China

1 植物名称 寒兰(*Cymbidium kanran* Makino)。

2 材料类别 种子。

3 培养条件 种子萌发培养基: (1) 1/2B₅+6-BA 0.6 mg·L⁻¹ (单位下同)+NAA 0.4; 根状茎增殖培养基: (2) B₅+6-BA 0.6+NAA 1.5; 芽分化培养基: (3) B₅+6-BA 1.0+NAA 0.2; 生根培养基: (4) 1/2B₅+NAA 0.2; 试管开花培养基: (5) B₅+6-BA 1.0+NAA 0.2; (6) B₅+6-BA 2.0+NAA 0.2。其中培养基(1)~(4)添加 35 mg·L⁻¹ 蔗糖、1 g·L⁻¹ 水解酪蛋白和 0.5 g·L⁻¹ 活性炭; (5)、(6)添加 45 g·L⁻¹ 蔗糖。上述各培养基均附加 6.8 g·L⁻¹ 琼脂, pH 5.6~5.8。培养温度(25±2) °C, 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 实生苗的获得 八成熟未开裂的蒴果在洗衣粉溶液浸泡 15 min, 自来水冲洗干净表面后用无菌水清洗 3 次, 用 70% 酒精中表面消毒 40 s, 0.1% 的升汞溶液灭菌 7~8 min, 且反复摇动, 最后用无菌水洗多次。将蒴果表面水份用无菌纸吸干, 剖开蒴果将粉末状的种子均匀接种到培养基(1)。培养 95 d 左右, 种子萌发成绿色类原球茎, 附有表皮毛, 呈桑果状; 120 d 时种子萌发率为 29.3%。种子萌发期不一致, 16 个月之后仍可见种子萌发(图 1)。将类原球茎接种到培养基(2)上, 其顶端迅速伸长, 形成色泽鲜绿多分支、表皮根毛浓密的根状茎, 30 d 时根状茎增殖系数达 3.7 (图 2)。根状茎在分化培养基(3)中则停止生长, 其顶端分生组织分化成带有数片苞叶和 1~2 片幼叶的芽, 当芽长至 3 cm 左右时接种到培养基(4)上进行生根壮苗培养, 40~45 d, 芽分化出 1~4 条根从而形成植株, 生根率 100% (图 3)。当苗高 7~8 cm, 根系粗壮时, 于温室中炼苗 5 d 后移栽至珍珠岩:

锯末:火烧土(1:1:1)的介质中, 用 1/2B₅ 的营养液每周浇灌一次, 环境温度保持 20~25 °C, 相对湿度 75%, 植株成活率 85% 以上。

4.2 试管开花的诱导 将培养 50~60 d 的实生苗接种到培养基(5)、(6)上, 25~30 d 后花芽从假鳞茎苞叶的叶腋中诱导出来, 花芽的横切面呈椭圆形且饱满, 与根状茎分化出来的营养芽有显著的区别。在花芽分化速度上, 培养基(5)中的植株出现花芽比培养基(6)要慢。约 50 d 时花芽形成达到高峰期, 花芽诱导率在培养基(5)上为 46.3%, 培养基(6)上为 78.2%。花芽伸长发育形成花葶, 约 25 d, 花葶上长出细小的花梗, 花梗顶端分化出 1 个花蕾。部分花蕾的后期停止发育而黄化死亡, 其中培养基(5)中死亡严重, 死亡率达 75% 左右, 培养基(6)中死亡率约为 12%, 说明 6-BA 对试管成花很重要; 部分花蕾经过 60 d 发育形成完整的花朵且顺利开花, 花朵顶生(图 4), 花朵在解剖结构、色泽大小与野生自然状态的花一致, 且花期长达 2 个月。

5 意义与进展 寒兰为兰科兰属中的地生兰, 花色丰富, 花香清醇, 叶姿优雅, 极具观赏价值, 但因过度开采, 加上种子无胚乳, 自然条件下极难萌发, 野生寒兰濒临灭绝。本文中采用种子无菌萌发获得大量实生苗, 且种子萌发率高。自然界中寒兰从种子萌发到进行生殖生长通常要 5~7 年, 而本文由种子萌发到开花只用了 13~14 个月时间, 这些结果对寒兰的快速繁殖和培育有价值的试管花卉有一定参考意义。寒兰的组织培养已

收稿 2008-02-22 修定 2008-04-08

资助 江西省农业重点攻关项目(20061b0200202)。

* E-mail: zgbing007@163.com; Tel: 0771-3278615

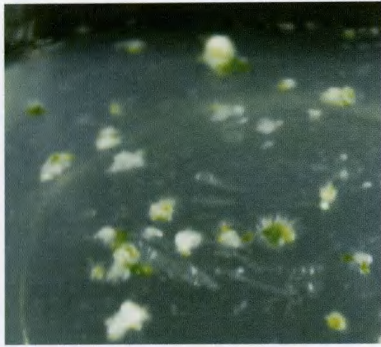


图1 寒兰种子的萌发



图2 寒兰根状茎的增殖



图3 寒兰的实生苗



图4 寒兰的试管开花

有过报道(段金玉和谢亚红 1982; 朱国兵等 2006), 日本和韩国研究报道相对较多(Kokubu 等 1980; Lee 等 1986; Kim 等 1996), 但从种子无菌播种产生实生苗再到试管开花的整个生理过程的报道迄今尚未见。

参考文献

- 段金玉, 谢亚红(1982). 在无菌条件下, 激素和种子处理对兰属十种植物种子萌发的影响. 云南植物研究, 4 (2): 197~201
- 朱国兵, 杨柏云, 蔡奇英, 罗丽萍, 管毕才(2006). 寒兰的快速繁殖技术. 热带亚热带植物学报, 14 (2): 151~156
- Kim KH, Ko TS, So IS (1996). Seed pod formation in cross- and self-pollinated *Cymbidium kanran* native to Cheju and the rhizome formation on various media. J Korean Soc Hortic Sci, 37 (1): 152~157
- Kokubu T, Kaieda Y, Higashi Y, Kitano T, Fukamizu K (1980). Organogenesis in Sterile Culture of Oriental Cymbidium, *Cymbidium kanran* Makino. Memoirs of the Faculty of Agriculture, Kagoshima University (Japan), 16: 53~64
- Lee JS, Shim KK, Yoo MS, Lee JS, Kim YJ (1986). Studies on rhizome growth and organogenesis of *Cymbidium kanran* cultured *in vitro*. J Korean Soc Hortic Sci, 27 (2): 174~180