

## 疣鞘独蒜兰和岩生独蒜兰的组织培养与快速繁殖

易瑾<sup>1,2</sup>, 龙春林<sup>1,\*</sup>, 程治英<sup>1</sup>

<sup>1</sup>中国科学院昆明植物研究所, 昆明 650204; <sup>2</sup>中国科学院研究生院, 北京 100039

### Tissue Culture and Rapid Propagation of *Pleione praecox* (J. E. Smith) D. Don and *P. saxicola* T. Tang et F. T. Wang ex S. C. Chen

YI Jin<sup>1,2</sup>, LONG Chun-Lin<sup>1,\*</sup>, CHENG Zhi-Ying<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650204, China; <sup>2</sup>Graduate School of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China

**1 植物名称** 疣鞘独蒜兰(*Pleione praecox*)、岩生独蒜兰(*P. saxicola*)。

**2 材料类别** 未开裂果实得到的无菌种子。

**3 培养条件** 种子萌发培养基: (1) MS; (2) 1/2MS; (3) White; (4) HA (Harvais 1982)。原球茎和芽的诱导与增殖培养基: (5) 1/2MS+NAA 1.0 mg·L<sup>-1</sup> (单位下同); (6) 1/2MS+NAA 0.5; (7) 1/2MS+6-BA 1.0; (8) 1/2MS+6-BA 0.5; (9) 1/2MS+NAA 1.0+6-BA 0.5; (10) 1/2MS+NAA 0.5+6-BA 1.0。生根培养基: (11) 1/2MS+NAA 1.0; (12) 1/2MS+IBA 1.0; (13) 1/2MS+NAA 1.0+6-BA 0.5; (14) MS+NAA 1.0。以上培养基分别添加 2% 蔗糖、1 g·L<sup>-1</sup> 活性炭和 7 g·L<sup>-1</sup> 琼脂, pH 5.5。培养温度(25±1) °C。除种子萌发试验以外, 其余光照时间为 12 h·d<sup>-1</sup>, 光照强度 25~35 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>。

#### 4 生长与分化情况

**4.1 无菌种子的萌发** 在授粉 60、90、120 d 后, 采收未开裂的荚果。用 75% 乙醇冲洗 8~10 s, 再用 0.1% 升汞溶液灭菌 15~20 min, 无菌水清洗 3~5 次, 切开荚果, 将种子均匀撒在 4 种种子萌发培养基上。暗培养 10 d 后, 在显微镜下可以观察到授粉 120 d 后采收的果实的种子的胚开始突破种皮(图 1), 种子萌发。培养 12~15 d 出现白色原球茎, 转入光下培养 2 周, 产生直径 1 mm 左右的绿色原球茎。比较发现, 培养基(4)的萌发效果最好, 萌发率达 99%。授粉 60 d 后采收的果实的种子基本没有萌发迹象。授粉 90 d 后采收的果实的种子在培养 30 d 后, 少量萌发, 萌发率为 35%。这说明授粉 120 d 后采收的果实的种子萌发率最高, 授粉 60 d 后采收的果实的种子不萌发可能是由于胚还没有发育完全。不同培养基上种子萌



图 1 岩生独蒜兰的胚突破种皮

发率由高到低依次为 HA、White、1/2MS、MS。

**4.2 原球茎的诱导和增殖** 将种子产生的原球茎接种到培养基(5)~(10)上。培养 15~20 d 后, 所有的培养基上都有不同程度原球茎增殖形成的团块, 培养基(7)的效果最好, 增殖形成原球茎团块数量较多, 可以观察发现芽点。将增殖得到的原球茎仍然接种在培养基(7)上, 反复继代, 可持续增殖, 增殖率达 8 倍以上(图 2)。

**4.3 芽的诱导和分化** 将增殖的原球茎继续在培养基(5)~(10)上培养, 到 25~30 d, 大部分原球茎上产生芽点并生长(图 3), 同时原球茎继续增殖, 形成苗和原球茎混杂的团块(图 4)。比较发现, 芽的诱导和分化在培养基(10)上效果最好, 60 d 后芽可长成高 2~5 cm 的小苗, 而且基部开始膨大, 直径达 5 mm。在培养基(5)和(9)上芽的诱导则较差。说明较高浓度的 6-BA 可以促进芽的诱导与分化。

**4.4 生根和移栽** 将形成的 2~5 cm 高的苗分离出

收稿 2008-04-18 修定 2008-05-09

资助 国家自然科学基金基础条件平台项目(2005DKA21006)。

\* 通讯作者(E-mail: long@mail.kib.ac.cn; Tel: 0871-5223233)。



图2 岩生独蒜兰(左)和疣鞘独蒜兰(右)原球茎增殖



图3 岩生独蒜兰(左)和疣鞘独蒜兰(右)芽的诱导与分化



图4 岩生独蒜兰的苗与原球茎增殖形成的团块

来, 接种到培养基(11)~(14)中。10~15 d后, 叶片继续生长, 茎的基部膨大明显, 20 d后, 膨大的基部下面长出2~4条根(图5)。通过观察和测量, 培养基(11)和(14)的生根效果明显, 生根率可达95%以上, (13)生根率最低。生根较粗壮的是(14), 说明NAA比IBA的生根效果好, 加入6-BA不利于生根。在培养35 d后, 苗的叶片长至8 cm, 苗基部的球茎膨大, 直径可达6 mm。此时将密闭的培养瓶的瓶盖打开, 然后放在栽培温室内炼苗5~7 d, 取出小苗, 洗净培养基后移栽至木屑、腐殖土与瓦砾混合的基质中, 基质表面覆上一层水苔, 注意遮阴, 避免光照直射, 成活率达85%以上。在模拟自然状态的温室内, 独蒜兰属植物在8~9月开始停止生长, 倒苗并进入休眠, 直至第二年的2~3月假鳞茎开始再次萌动。



图5 岩生独蒜兰(左)和疣鞘独蒜兰(右)的生根

**5 意义与进展** 独蒜兰属植物是兰科植物中具有很高观赏价值和药用价值的一个属, 全世界19种, 我国分布16种, 15种被列为二级国家重点保护野生植物, 其中8种是我国特有种。独蒜兰属植物花形独特, 花色艳丽, 其假鳞茎还是传统中药材“山慈姑”的原料。目前独蒜兰属植物在国内和国际市场上都有较大需求, 但我国的野生独蒜兰资源大量受到破坏。此外, 由于兰科植物对生境有特殊的要求, 再生缓慢, 受地域性气候环境影响较大, 以致野生兰花资源日益稀少, 因而独蒜兰属植物也受到国际植物保护公约的保护。同属的白花独蒜兰(*P. albiflora*) (陈之林等2004)、独蒜兰(*P. bulbocodioides*) (李洪林等2005)、云南独蒜兰(*P. yunnanensis*) (吴丽芳等2005)、二叶独蒜兰(*P. scopulorum*) (屈云慧等2008)、毛唇独蒜兰(*P. hookeriana*) (于晓娟等2007)已有过报导, 但是疣鞘独蒜兰和我国特有种岩生独蒜兰的组织培养的报导还未见。

#### 参考文献

- 陈之林, 叶秀麟, 梁承邺, 段俊(2004). 白花独蒜兰的组织培养和快速繁殖. 植物生理学通讯, 40 (4): 455
- 李洪林, 付志惠, 杨波(2005). 独蒜兰的离体快速繁殖. 植物生理学通讯, 41 (5): 632
- 屈云慧, 李进昆, 张婷, 张艺萍(2008). 野生花卉二叶独蒜兰的离体培养与快速繁殖. 植物生理学通讯, 44 (2): 309
- 吴丽芳, 张素芳, 杨春梅, 李树发(2005). 滇独蒜兰的组织培养研究. 云南农业大学学报, 20 (5): 749~752
- 于晓娟, 纳海燕, 胡晓丽, 魏兴强, 范昆, 刘芳媛(2007). 毛唇独蒜兰的离体快速繁殖研究. 四川大学学报(自然科学版), 44 (4): 891~893
- Harvais G (1982). An improved culture medium for growing the orchid *Cypripedium reginae* axenically. Can J Bot, 60: 2547~2555