

不同贮藏温度和时间对钻喙兰人工种子萌发及其幼苗成活的影响

黄卫昌, SUNITHA Nagaraj

(上海植物园, 上海 200231)

Effects of storage temperature and time on germination of synthetic seeds and survival of seedlings of *Rhynchosstylis retusa* HUANG Wei-chang, SUNITHA Nagaraj (Shanghai Botanical Garden, Shanghai 200231, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2005, 14(3): 63-64

Abstract: Seeds of *Rhynchosstylis retusa* (L.) Bl. germinate faster on the KC medium than on the VW medium. Protocorms of *R. retusa* were successfully encapsulated in the KC solution (containing 3% sodium alginate) to get synthetic seeds and germination rate of synthetic seeds stored at 4°C was higher than at 20°C and 25°C on the KC medium containing 15% coconut milk, 2 g · L⁻¹ peptone and 1 mg · L⁻¹ NAA. Time taken for germination will be longer and germination rate will decrease at different storage temperatures with the increasing of storage time. Survival rates of seedlings from the synthetic seeds stored at 4°C for 15, 30, 45, 60 and 75 d are 93%, 89%, 80%, 75% and 63% on field transfer, respectively.

关键词: 钻喙兰; 人工种子; 贮藏; 萌发率; 成活率

Key words: *Rhynchosstylis retusa* (L.) Bl.; synthetic seed; storage; germination rate; survival rate

中图分类号: S604+.3 文献标识码: A 文章编号: 1004-0978(2005)03-0063-02

植物人工种子技术已广泛应用于花卉、林木和蔬菜的优良品种快速繁殖以及种质资源的超低温保存等方面^[1]。由于兰花种子自然萌发较为困难,因此兰花种子的无菌培养和外植体离体培养成为兰花繁育的重要手段^[2],而人工种子技术仅仅在紫花苞舌兰(*Spathoglottis plicata* Bl.)、大苞鞘石斛(*Dendrobium wardianum* Warner)等少数兰花种类的繁育中得到应用^[3-6]。

钻喙兰属(*Rhynchosstylis* Bl.)植物是花具芳香和很高观赏价值的附生兰,与指甲兰属(*Aerides* Lour.)、鸟舌兰属(*Ascocentrum* Schltr.)和万代兰属(*Vanda* Jones ex R. Br.)等杂交形成45个兰花人工杂交属。钻喙兰[*Rhynchosstylis retusa* (L.) Bl.]植株分株少,且生长缓慢,因此探讨其人工繁殖的方法具有理论意义和一定的应用价值。为此以钻喙兰原球茎为材料,对在不同温度条件下贮藏不同时间的人工种子的萌发率及其幼苗成活率进行了研究。

1 材料和方法

1.1 实验材料

钻喙兰2001年3月引自云南保山,栽培于上海植物园温室,实验用种子来自2003年6月人工授粉后结实产生的未开裂蒴果。

1.2 方法

1.2.1 人工种子的制作 将钻喙兰蒴果于75%乙醇中浸泡2 min,然后用10%(V/V)次氯酸钠溶液消毒10 min,再用无菌蒸馏水冲洗3次。将消毒后的蒴果在无菌操作台上剖开,并将种子分别播在KC和VW培养基上^[2]。记录种子开始萌发和形成叶原基芽突起所需天数,取5瓶的平均值。

用滴球法^[7]制作人工种子,具叶原基芽突起的原球茎作为人工种子包埋材料。将原球茎分别悬浮在包埋剂A[含3%海藻酸钠的KC溶液(不含琼脂)]和包埋剂B(3%海藻酸钠溶液)中,0.075 mol · L⁻¹ CaCl₂溶液为凝固剂,10 min后用KC溶液(不含琼脂)冲洗,分别形成人工种子A型和B型。将所制备的人工种子分别贮藏于4°C、20°C和25°C的KC溶液(不含琼脂)和无菌蒸馏水(对照)中备用。

1.2.2 无菌萌发实验 将贮藏于4°C、20°C和25°C条件下的人工种子A型和贮藏于4°C下的人工种子B型每隔15、30、45、60、75、90和120 d取出进行萌发实验。发芽培养基采用KC添加培养基(含15%椰子乳、2 g · L⁻¹蛋白胨和1 mg · L⁻¹ NAA),KC培养基作对照。每处理50粒人工种子,3次重复。统计萌发所需时间及发芽率,并计算平均值。

1.2.3 幼苗成活率观察 4°C下贮藏的人工种子A型萌发并生根后,选择20株长势均匀的幼苗移栽至介质土(木炭+砖粒)中于温室条件下栽培。分别记录第1和第2片新叶出现的天数,并在上盆后6周统计幼苗成活率,并以新鲜人工种子A型作对照。

2 结果和分析

2.1 不同培养基对钻喙兰种子萌发的影响

钻喙兰种子在KC培养基上63 d开始萌发,萌发后7 d形成适合制作人工种子的具叶原基芽突起的原球茎。在VW培养基上69 d开始萌发,12 d后才形成同样发育阶段的原球

收稿日期: 2005-04-25

作者简介: 黄卫昌(1971-),江西临川人,硕士,工程师,从事热带植物引种驯化的研究。

茎。因而,在钻喙兰种子的培养中,KC培养基的效果优于VW培养基。

2.2 不同贮藏温度和时间对钻喙兰人工种子萌发率的影响

贮藏于4℃下的钻喙兰人工种子B型在KC培养基和KC添加培养基中均不能萌发,并在40 d后出现干燥萎缩。原因是包埋剂B本身不含养分,而且具有一定的隔离作用,将原球茎与发芽培养基隔离,使原球茎不能充分吸收养分。

在4℃下贮藏15 d的人工种子A型在KC培养基中开始萌发需48 d,在KC添加培养基中33 d即可萌发;贮藏120 d后,在KC添加培养基中需46 d才能萌发(见表1)。可以看出,随贮藏时间的延长,人工种子萌发所需的时间延长,萌发率下降。在25℃下,贮藏超过45 d,人工种子则不能萌发。

表1 不同贮藏时间和温度对钻喙兰人工种子A型萌发的影响(KC添加培养基)¹⁾

Table 1 The effects of storage temperature and time on germination of synthetic seeds (A) of *Rhynchostylis retusa* (L.) Bl. on supplemented KC medium¹⁾

贮藏时间/d Storage time	不同贮藏温度下 萌发所需时间/d Time taken for germination at different storage temperatures			不同贮藏温度下 的萌发率/% Germination rate at different storage temperatures		
	4℃	20℃	25℃	4℃	20℃	25℃
	15	33	44	40	92	82
30	37	46	47	89	77	71
45	32	44	45	83	71	13
60	38	47	-	79	47	0
75	38	48	-	61	19	0
90	44	55	-	26	11	0
120	46	56	-	18	3	0

¹⁾ 包埋剂为含3%海藻酸钠的KC溶液 The embedding medium is the KC solution containing 3% sodium alginate. KC添加培养基含15%椰子乳、2 g·L⁻¹蛋白胨和1 mg·L⁻¹ NAA The supplemented KC medium contains 15% coconut milk, 2 g·L⁻¹ peptone and 1 mg·L⁻¹ NAA. - : 不萌发 No germination

2.3 不同贮藏时间对幼苗生长和幼苗成活率的影响

新鲜钻喙兰人工种子A型在KC添加发芽培养基上10 d即可萌发,根系发达后移栽至介质土中,幼苗成活率达60%。而4℃下贮藏15、30、45、60和75 d的人工种子A型幼苗成活率均高于新鲜人工种子的幼苗成活率(表2),且新叶萌发所需时间随贮藏时间延长而增加。

3 结 论

相对于VW培养基而言,钻喙兰种子在KC培养基中萌发更快,形成适合包埋的原球茎的时间更短,是更适合钻喙兰快速繁殖的种子萌发培养基。

包埋剂A(含3%海藻酸钠的KC溶液)包埋的钻喙兰人工种子贮藏于4℃条件下,在添加15%椰子乳、2 g·L⁻¹蛋

表2 贮藏不同时间的钻喙兰人工种子幼苗新叶出现所需时间和幼苗成活率

Table 2 Time taken for the emergence of new leaf and survival rate of seedlings from synthetic seeds of *Rhynchostylis retusa* (L.) Bl. stored for different time

贮藏时间/d Storage time	新叶出现所需时间/d Time taken for the emergence of new leaf		成活率/% Survival rate
	第1片新叶 1st new leaf	第2片新叶 2nd new leaf	
	15	38	
30	35	53	89
45	37	54	80
60	49	62	75
75	49	68	63
90	60	78	41
120	70	90	23

白胨和1 mg·L⁻¹ NAA的KC培养基中发芽效果最好,但发芽所需时间随贮藏时间增加而延长,发芽率则下降。而仅用3%海藻酸钠溶液包埋的人工种子不能正常萌发。

包埋剂A包埋的钻喙兰人工种子在4℃贮藏条件下,15 d时萌发率可达92%,贮藏120 d仍具萌发力。20℃和25℃下,贮藏15 d萌发率分别为82%和77%。因此,4℃是最佳贮藏温度。

贮藏15、30、45、60和75 d的人工种子的幼苗成活率均高于新鲜人工种子的成活率,人工种子的包埋剂所具有的养分起主要作用。

参考文献:

- [1] 李修庆. 植物人工种子研究[M]. 北京: 北京大学出版社, 1990.
- [2] 陈心启, 吉占和. 中国兰花全书[M]. 北京: 中国林业出版社, 1998.
- [3] Singh F. Encapsulation of *Spathoglottis plicata* protocorms [J]. Lindleyana, 1991, 6: 61-62.
- [4] Sharma A, Tandon P, Anjani K. Regeneration of *Dendrobium wardianum* from synthetic seeds [J]. Indian Journal of Experimental Biology, 1992, 30: 747-748.
- [5] Corrie S, Tandon P. Propagation of *Cymbidium giganteum* through high frequency conservation of encapsulated protocorms under *in vivo* and *in vitro* conditions [J]. Indian Journal of Experimental Biology, 1993, 31: 61-64.
- [6] Malemnganba H, Ray B K, Bhattacharyya S, et al. Regeneration of encapsulated protocorms of *Phaius tankervilleae* stored at low temperature [J]. Indian Journal of Experimental Biology, 1996, 34: 802-805.
- [7] 崔凯荣, 戴若兰. 植物体细胞胚发生的分子生物学[M]. 北京: 科学出版社, 2000.

(责任编辑: 惠 红)