



# 兜兰无菌萌发研究进展

初美静, 宫子惠, 孙纪霞, 张英杰, 张京伟, 郭文姣, 刘学庆

(烟台市农业科学研究院, 山东 烟台 265500)

**摘要:** 为了解近年来兜兰无菌播种的研究成果, 以 15 个兜兰品种为研究对象, 综述了近 10 年来兜兰无菌播种的情况。综合分析表明: 兜兰种子无菌萌发的情况与果龄有关, 不同品种的兜兰种子萌发最适果龄不同; 一般情况而言, 最适合兜兰种子无菌播种的培养基为 1/2 MS, 且在培养基里添加椰乳会更有利于种子的萌发。

**关键词:** 兜兰; 无菌萌发; 无菌播种

兜兰属(*Paphiopedilum*)植物隶属兰科(Orchidaceae)中最为原始, 最具特色的类群<sup>[1-2]</sup>, 因其唇瓣呈高度特化的兜状, 故名兜兰, 又因形似拖鞋, 故俗称拖鞋兰、仙履兰<sup>[3]</sup>。兜兰属的所有植物都可用于观赏, 经过选育产生的栽培种和杂交种形态各异, 具有极高的商业价值<sup>[4]</sup>。但由于兜兰的种子没有胚乳, 人工授粉存活率低, 无菌萌发和组培快繁难度较大<sup>[5]</sup>。本文综述了国内近 10 年来兜兰无菌萌发及组织培养的研究进展, 展望了兜兰无菌萌发及组培快繁的应用前景, 以期得到兜兰无菌萌发及组培快繁的最佳方式, 为兜兰种质资源保护及实现商业价值提供理论依据。

## 1 无菌播种

### 1.1 基础培养基的选择

兜兰无菌播种可供选择的基础培养基有 9 种: VW、Thomale GD、RE、R、KC、Heller、GD、花宝、MS, 其中最为常见的、使用最为频繁的为 MS 培养基, 在不同的培养方案中, MS 培养基中组分的变化量很大, 从 1/8 MS 到 MS 不等, 其次使用较多的为花宝, 其中花宝 1 号、花宝 2 号、花宝 16 和花宝 26 都曾在兜兰的培养方案中使用<sup>[6]</sup>。其它类型的基础培养基在不同学者的培养方案中均有使用, 如周丽等<sup>[7]</sup>在格力兜兰的无菌播种试验中使用了 RE 培养基; 杨燕萍等<sup>[8]</sup>在亨利兜兰茎尖诱导试验中使用了 Heller 培养基。综合各学者的研究成果, 可以看出 1/4MS 基础培养基最适合兜兰种子的萌发<sup>[9]</sup>。

### 1.2 有机添加物的选择

有机添加物的使用对兜兰种子萌发有很大的作用, 常见的有机添加物的种类有椰乳、椰汁、香蕉泥、土豆泥、蛋白胨、苹果泥、水解酪蛋白和佛手瓜泥等<sup>[6]</sup>。其中使用最多的为椰乳、椰汁及香蕉泥。

### 1.3 植物生长调节剂的选择

常用的生长调节剂有 6-BA、NAA、2, 4-D、TDZ、IBA、KT 等, 不同激素的配比及用量会对植物生长产生很大的影响, 但在兜兰的无菌播种方面, 一般不需要添加植物生长调节剂<sup>[5]</sup>。

### 1.4 播种方式的选择

兜兰常用的培养方式为固体培养, 即将处理好的种子均匀地撒落在培养基中即可; 较为少见的为浅层培养法, 即将兜兰种子撒入含有 0.1% 吐温 80 的无菌水中, 无菌水约为 30~50 mL, 轻轻晃动使种子均匀散开成悬浮液, 使用已灭菌的移液枪吸取 0.5~1.5 mL 的种子悬浮液, 播种于培养基的表面形成浅层液体, 此法可使种子均匀分布, 提高种子的萌发率<sup>[9]</sup>。

### 1.5 培养光照的选择

不同品种兜兰种子的萌发对光照的需求不同, 带叶兜兰种子萌发需要暗培养 21 d 之后转入 12 h·d<sup>-1</sup> 的光照培养<sup>[10]</sup>; 麻栗坡兜兰需要暗培养 56 d 再转入光培养<sup>[11]</sup>; 魔帝兜兰种子则需要 7 d 暗培养<sup>[12]</sup>。

## 2 不同兜兰品种无菌播种最佳方案

### 2.1 同色兜兰

王蓬辉、刘其府、李秀玲等<sup>[13-15]</sup>分别在 2008、2012 及 2016 年对同色兜兰无菌播种进行研究, 综合三者所述, 授粉后 210 d 的种子萌发率最高, 萌发率可达到 77.79%; 1/2 MS 和 1/4 MS 培养基上种子萌发情况最佳, 分别为 56.13% 和

收稿日期: 2018-03-16

基金项目: 山东省 2017 年度农业重大应用技术创新资助项目(2015NC039)。

第一作者简介: 初美静(1993-), 女, 在读硕士, 从事园林植物育种与生理研究。E-mail: 863825552@qq.com。

通讯作者: 刘学庆(1969-), 男, 博士, 研究员, 从事花卉栽培与品种选育研究。E-mail: lxqflower@163.com。

62.33%；椰乳和蛋白胨是适合同色兜兰种子萌发的最佳添加物，萌发率为 74.54%；光照方式即是否进行暗培养对同色兜兰种子萌发没有影响。

## 2.2 胼胝兜兰

周丽等<sup>[16]</sup>研究表明，270 d 果龄的种子无菌萌发率高，约 95% 以上，且种子萌发最佳的培养基为  $1/2 \text{ RE} + \text{CM } 100 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1} + \text{椰粉 } 12 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} + \text{香蕉泥 } 70 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ；在丁长春等<sup>[17]</sup>的试验中，选择了果龄为 180 d 的种子，并在  $1/4 \text{ MS} + \text{椰乳 } 100 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$  的培养基上取得了较高的结果，萌发率为 52%，由此可见胼胝兜兰无菌萌发最适宜的果龄时期为 270 d。

## 2.3 麻栗坡兜兰

2009 年，丁长春等<sup>[11]</sup>对果龄为 180 d 的麻栗坡兜兰无菌播种方面进行研究，结果表明  $1/4 \text{ MS} + \text{椰乳 } 100 \text{ mL}$  的培养基适合麻栗坡兜兰种子萌发。

## 2.4 彩云兜兰

曾宋君等<sup>[18]</sup>在 2009 年对果龄为 250 d 的彩云兜兰种子进行无菌播种，其结果表明  $1/2 \text{ MS}$  培养基适合彩云兜兰种子的萌发，椰乳的添加对彩云兜兰种子的萌发率影响不大。

## 2.5 长瓣兜兰

在王莲辉等<sup>[19]</sup>的研究中可以看出，适宜长瓣兜兰无菌萌发的果龄为 420 d，在  $1/2 \text{ MS}$  培养基上种子萌发率较高，约 60% 以上，且添加椰乳有利于种子的萌发。

## 2.6 文山兜兰

黄玮婷等<sup>[20]</sup>在 2010 年对文山兜兰的白变种进行研究，发现 180 d 果龄的种子在无菌播种过程中萌发率较高，且  $1/2 \text{ MS}$  培养基适宜种子萌发，萌发率为 40% 左右，且加入椰乳可以加快种子萌发。

## 2.7 小叶兜兰

尤佳妍等<sup>[21]</sup>在研究中指出，适宜小叶兜兰萌发的最佳果龄为 255 d，萌发率高达 90.71%，王莲辉等<sup>[22]</sup>也对小叶兜兰的进行研究，二者都认为  $1/2 \text{ MS}$  培养基为小叶兜兰种子萌发的最佳培养基，萌发率达 80% 以上，且椰乳的添加有利于种子萌发。

## 2.8 亨利兜兰

曾宋君等<sup>[23]</sup>对亨利兜兰的无菌播种进行研究，采用的 300 d 果龄的种子进行播种效果较好，在 VW 基本培养基上培养种子萌发率快且萌发

率高，为 50% 左右。

## 2.9 白花兜兰

王莲辉等<sup>[24]</sup>在对白花兜兰的研究中发现，对 180 d 果龄的种子进行无菌播种，在  $1/2 \text{ MS}$  培养基上种子萌发率最好，萌发率达 80%，且添加椰乳有利于种子的萌发。2014 年，田凡等<sup>[25]</sup>也对白花兜兰的无菌萌发做了研究，其结果与王莲辉等的试验结果保持一致。

## 2.10 硬叶兜兰

丁长春与周艳等<sup>[26-27]</sup>在 2011 及 2013 年分别对硬叶兜兰的无菌播种方面进行了研究，综合二者的结果可知，150 d 果龄的种子萌发率最佳，且在  $1/4 \text{ MS}$  培养基上，种子萌发效果最佳，萌发率达 35% 以上。

## 2.11 格力兜兰

周丽等<sup>[7]</sup>对格力兜兰的无菌播种试验表明，210 d 果龄的种子，其萌发率最高， $1/2 \text{ RE}$  培养基为种子萌发的最佳培养基。

## 2.12 白旗兜兰

陈莹等<sup>[28]</sup>在 2015 年对白旗兜兰展开研究。结果表明，270 d 果龄的种子萌发率最高，且  $1/4 \text{ MS}$  培养为种子无菌萌发的最佳培养基。添加 10% 椰汁更有利于种子萌发。

## 2.13 带叶兜兰

张娟娟、陈尔、田凡等<sup>[29-31]</sup>分别对带叶兜兰的无菌萌发做了研究，综合 3 人试验结果可知，适合带叶兜兰种子萌发的最佳果龄为 130 d，萌发率达 78.7%，且  $1/2 \text{ MS}$  培养基最有利于种子萌发，且椰乳的添加对种子原球茎的分化有促进作用。

## 2.14 海伦兜兰

胡琦敏<sup>[32]</sup>在对海伦兜兰的无菌播种研究中表明，最适种子萌发的培养基为  $1/4 \text{ MS}$  培养基，且添加  $60 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  的香蕉有利于种子的萌发，萌发率达 69.4%。

## 2.15 魔帝兜兰

陈焱德等<sup>[12]</sup>对魔帝兜兰的无菌萌发进行研究。结果表明，150~180 d 果龄的种子萌发率较好，且  $1/2 \text{ MS}$  培养基为适宜魔帝兜兰无菌萌发的最佳培养基，萌发率达 27.5%。

# 3 结论与展望

## 3.1 结论

综合以上专家学者的研究成果可以看出：低浓度的 MS 培养基较适合兜兰种子的萌发，大多

数兜兰品种,种子萌发的培养基为 1/2 MS,而硬叶兜兰、白旗兜兰种子萌发最佳培养基为 1/4 MS、格力兜兰种子萌发的最佳培养基为 1/2 RE。

有机添加物会增加培养基中的营养,促进种子的萌发,一般而言,兜兰无菌萌发过程中,添加椰乳会促进兜兰种子的萌发及原球茎的生成。

激素的作用一般为加速细胞生长与组织分化,而在兜兰的无菌萌发试验中,只需要种子萌发,因此,无需添加激素。

授粉后,果龄的时间很大程度上会影响兜兰种子的萌发,果龄时间过短或过长,产生的原球茎都会出现很严重的白化现象,不能正常分化,而不同的兜兰品种种子的萌发所需的果龄长度是各不相同的,最少的如魔帝兜兰需要 150 d,最长的如长瓣兜兰需要 420 d。

对于其它杂交兜兰如肉饼兜兰而言,一般就可以采取 1/2 MS+100 mL·L<sup>-1</sup> 椰乳作为无菌萌发的培养基,但对于最适播种的果龄还需在试验中进一步确定,一般可以对授粉 150 d 后的果龄进行研究。

### 3.2 展望

兜兰的观赏价值和经济价值逐年提高,而通过无菌播种技术会大幅度提高兜兰的萌发率,但通过无菌播种产生的后代,品种的差异性较大,因此,应寄希望于兜兰的无性繁殖,通过无菌播种和组织培养技术来保护兜兰原生种,实现兜兰的商业化生产。

### 参考文献:

- [1] 李宗艳,吴玉兰,彭坤. 兜兰属(*Paphiopedilum*) 10 种植物叶表皮微观结构特征比较[J]. 植物研究, 2014, 34(6): 723-729.
- [2] 徐波,曾宋君,宋凤鸣,等. 兜兰茎腐病原鉴定和生物学特性及室内药剂筛选研究[J]. 广东农业科学, 2014(14): 70-75.
- [3] 陈红岩,张毓,张雪,等. 兜兰属植物引种栽培及应用研究[J]. 中国植物园, 2011(10): 122-131.
- [4] 尤佳妍. 几种兜兰的种胚发育及无菌萌发研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2014.
- [5] 曾宋君,陈之林,吴坤林,等. 兜兰无菌播种和组织培养研究进展[J]. 园艺学报, 2007(3): 793-796.
- [6] 张敬虎,康红涛,邹金美,等. 兜兰无菌播种与组培技术研究进展[J]. 福建热作科技, 2017, 42(2): 61-64.
- [7] 周丽,李松克,邓克云,等. 格力兜兰的无菌播种与组培快繁研究[J]. 安徽农业科学, 2012, 40(18): 9590-9592.
- [8] 杨燕萍,徐晓薇,姚丽娟,等. 亨利兜兰茎尖诱导与离体快繁试验[J]. 农业科技通讯, 2011(4): 53-55.
- [9] 王亚平,谭志勇,张乐萍,等. 兜兰无菌播种技术研究[J]. 现代农业科技, 2012(18): 157-171.
- [10] 陈宝玲,周千淞,陈尔,等. 带叶兜兰壮苗生根培养基及移栽基质选择[J]. 广西林业科学, 2017, 46(2): 206-209.
- [11] 丁长春,夏念和. 麻栗坡兜兰的无菌播种与快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 2009, 45(12): 1201-1202.
- [12] 陈羨德,康红涛,邹金美,等. 魔帝兜兰非共生萌发与组织培养研究[J]. 闽南师范大学学报(自然科学版), 2017, 30(1): 73-76.
- [13] 王莲辉,姜运力,余金勇,等. 同色兜兰的组织培养与快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 2008, 44(6): 1171-1172.
- [14] 刘其府,傅燕艳,曾宋君,等. 同色兜兰种子非共生萌发试验[J]. 广东农业科学, 2012, 39(12): 47-49.
- [15] 李秀玲,黄昌艳,宋倩,等. 同色兜兰的非共生萌发与快速繁殖研究[J]. 植物科学学报, 2016, 34(1): 127-134.
- [16] 周丽,邓克云,魏春杰. 胼胝兜兰的组培快繁技术研究[J]. 北方园艺, 2010(24): 154-156.
- [17] 丁长春. 胼胝兜兰的无菌播种和快速繁殖[J]. 文山师范高等专科学校学报, 2009, 22(4): 108-109.
- [18] 曾宋君,陈之林,吴坤林,等. 彩云兜兰的离体快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 2009, 45(10): 1011-1012.
- [19] 王莲辉,姜运力,余金勇,等. 长瓣兜兰的组织培养与快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 2009, 45(9): 887-888.
- [20] 黄玮婷,曾宋君. 文山兜兰白变种的无菌播种和试管成苗[J]. 植物生理学通讯, 2010, 46(10): 1069-1070.
- [21] 尤佳妍,张毓,刘岩,等. 小叶兜兰的种子发育和无菌萌发[J]. 植物生理学报, 2014, 50(3): 275-282.
- [22] 王莲辉,魏鲁明,姜运力,等. 小叶兜兰的组织培养与快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 2010, 46(11): 1169-1170.
- [23] 曾宋君,陈之林,吴坤林,等. 亨利兜兰的离体快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 2010, 46(5): 471-472.
- [24] 王莲辉,魏鲁明,姜运力,等. 白花兜兰的组织培养与快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 2010, 46(10): 1071-1072.
- [25] 田凡,姜运力,罗在柒,等. 白花兜兰种子无菌萌发及试管成苗技术研究[J]. 贵州林业科技, 2014, 42(3): 34-38.
- [26] 丁长春,李蕾,夏念和. 硬叶兜兰的无菌播种和试管成苗[J]. 北方园艺, 2011(5): 115-117.
- [27] 周艳,周洪英,朱立,等. 硬叶兜兰的无菌播种和离体快速繁殖[J]. 贵州科学, 2013, 31(5): 79-82.
- [28] 陈莹,范旭丽,高江云. 白旗兜兰种子非共生萌发与试管苗快速繁育[J]. 植物分类与资源学报, 2015, 37(5): 611-615.
- [29] 张娟娟,严宁,胡虹. 三种兜兰属植物种子发育过程及其与无菌萌发的关系[J]. 植物分类与资源学报, 2013, 35(1): 33-40.
- [30] 陈尔,陈宝玲,杨舒婷,等. 带叶兜兰非共生萌发试验[J]. 北方园艺, 2016(22): 100-103.
- [31] 田凡,颜凤霞,姜运力,等. 带叶兜兰种子无菌萌发及试管成苗技术研究[J]. 江苏农业科学, 2017, 45(9): 30-33.
- [32] 胡琦敏,李勇毅,黄云峰,等. 海伦兜兰的无菌播种与快速繁殖[J]. 植物生理学报, 2016, 52(9): 1443-1448.



# 果蔬天然保鲜剂研究进展

郑贺云,张翠环,耿新丽,再吐娜·买买提,廖新福

(新疆维吾尔自治区葡萄瓜果研究所,新疆 鄯善 838200)

**摘要:**为促进果蔬保鲜剂的安全发展,针对植物源、动物源、微生物源保鲜剂在果蔬保鲜中的抗菌活性机理,综述了其在贮藏保鲜中的应用发展现状,为今后开发天然果蔬保鲜剂提供理论依据。

**关键词:**果蔬保鲜;植物源保鲜剂;动物源保鲜剂;微生物源保鲜剂

新鲜的果蔬从采收、贮藏、运输到消费各个环节均会受到病原微生物的浸染,导致大量果蔬腐烂变质,对资源和经济带来极大的损失。病原微生物引起果蔬腐烂的同时会产生对人体有害的毒素,导致食用者食物中毒,危及人们的身体健康。统计显示,发达国家新鲜果蔬贮藏期受病原微生物侵染致腐烂的果实约占 10%~20%,发展中国家高达 40%~50%,因此,果蔬贮藏保鲜过程中急需解决的问题就是控制病原微生物的生长和繁殖。目前,化学合成和天然提取物是果蔬保鲜剂的 2 个重要来源,利用最多的仍然是化学合成杀菌剂,其保鲜防腐效果较好,能够有效地控制微生物的生长繁殖来达到延缓果实腐烂的目的,但多数化学合成物质给人体健康带来致癌、致畸、致突变等负面影响。因此,果蔬保鲜行业研究的热点就落脚在广谱、低毒、高效的天然提取物上,近年

来在此研究上也取得了可喜的成果。本文就植物源、动物源、微生物源保鲜剂在贮藏保鲜中的应用发展现状展开综述,为今后开发天然果蔬保鲜剂提供理论依据。

## 1 植物源保鲜剂

植物是获得天然杀菌剂的巨大自然群体资源,多数研究表明,从植物的根、茎、叶中提取的活性物质多数均具有抑制微生物的潜力。Wilson 及其合作者们早在 1989 年就发现有 300 多种植物的提取物对 *Botrytis cinerea* 病菌有较强的抑制作用<sup>[1]</sup>。因此,植物提取物已成为防治病害的研究重点。

### 1.1 香辛植物保鲜

香辛料植物,在中国烹饪中使用较多并且历史悠久,具有强烈的呈味,有呈香和抗菌防腐作用,目前开发的防腐剂香辛植物有:大蒜、生姜、丁香、洋葱、八角、茴香、薄荷、肉桂、迷迭香、胡椒、牛漆草、月桂、芥子、紫苏等。大蒜提取液对导致桃和凤梨果实采后腐烂的病原真菌 *Monilinia fructicola* 和 *Circotocystis paradoxa* 均有明显的抑制作用<sup>[2]</sup>;胡月芳等<sup>[3]</sup>研究表明,水和大蒜提取

收稿日期:2018-03-01

基金项目:国家西甜瓜产业技术体系资助项目(CARS-26)。

第一作者简介:郑贺云(1984-),女,硕士,农艺师,从事西甜瓜贮藏与运输研究。E-mail:1450597505@qq.com。

通讯作者:廖新福(1960-),男,硕士,研究员,从事西甜瓜贮藏与运输研究。E-mail:kxf3838@163.com。

## Research Progress on Aseptic Germination of *Paphiopedilum*

CHU Mei-jing, GONG Zi-hui, SUN Ji-xia, ZHANG Ying-jie, ZHANG Jing-wei, GUO Wen-jiao, LIU Xue-qing

(Yantai Agricultural Science and Technology Institute, Yantai 265500, China)

**Abstract:** In order to understand the research results of *Paphiopedilum* aseptic sowing in recent years. Taking 15 varieties of *Paphiopedilum* as the research object, the situation of *Paphiopedilum* aseptic seeding in the past 10 years was reviewed. The results showed that the aseptic germination of the *Paphiopedilum* seeds was related to the fruit age. In general, the most suitable medium for *Paphiopedilum* aseptic seeding was 1/2 MS, and adding coconut milk to the medium was more favorable for seed germination.

**Keywords:** *Paphiopedilum*; aseptic germination; aseptic sowing