



图1 长苏石斛唇瓣有长流苏

长 苏石斛 (*Dendrobium brymerianum* f.) 为我国原生种, 兰科石斛属多年生草本植物。长苏石斛的唇瓣有很长的流苏(图1), 花金黄色, 观赏价值极高, 多生于海拔1100~1900m的林中树干或岩石上, 我国云南是其主要分布中心。组织培养可快速获得大量种苗, 成苗快而整齐, 具有一定的潜在应用前景。建立长苏石斛离体培养和再生体系将为长苏石斛进一步的生理、遗传育种等方面的研究奠定基础。

材料类别

长苏石斛茎段。

培养条件

芽萌发培养基 (1) MS+6-BA1.0mg/L+NAA0.1mg/L; (2) MS+6-BA2.0mg/L+NAA0.1mg/L。

继代培养基 (1) MS+6-BA0.5mg/L; (2) MS+6-BA0.5mg/L+NAA0.1mg/L;

(3) MS+6-BA1.0mg/L+NAA0.1mg/L;
(4) MS+6-BA1.0mg/L+NAA0.5mg/L;
(5) MS+6-BA0.5mg/L+NAA0.1mg/L+椰子水10%。

生根培养基 1/2MS+IBA0.5mg/L+活性炭0.5mg/L。

上述培养基中均添加20mg/L蔗糖和7.0mg/L琼脂, pH值为5.6~5.8。培养温度为 $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$, 光照强度为20000lux, 光照时间为12小时/天。

生长与分化

无菌材料的获得 选择生长健壮的植株, 剪取当年生上部6~8cm长的幼嫩茎段, 放入洗洁精溶液中漂洗5~8分钟, 然后在自来水下冲洗30分钟, 去除叶片, 剪成2~3段, 放入无菌瓶中, 在超净工作台上用70%酒精浸泡30秒, 0.1%升汞灭菌8分钟, 无菌水冲洗6~8次, 然后用无菌吸水纸吸干, 切取1cm左右带节的茎段。

芽的诱导 将茎段接种到芽萌发培养基(1)和(2)上, 10天后培养基(2)上的茎段侧芽开始萌动(图2), 15天后培养基(1)上的侧芽也开始萌发, 但诱导率明显低于培养基(2)。培养基(2)的

诱导率达70%, 培养基(1)的诱导率仅为56%。

芽的增殖与继代 当侧芽长至1~2cm, 叶片2~3枚时, 将侧芽从茎段上切下转接入继代培养基(1)~(5)中进行增殖, 以50天为一个继代增殖周期, 计算出每种培养基的扩繁系数(图3)。其中长苏石斛在继代培养基(5)上的扩繁系数最高, 达5.7, 在继代培养基(1)上的扩繁系数最低, 仅3.2。添加了椰子水的培养基上的丛生芽生长较健壮, 适合生根移栽。

生根及移栽 将丛生芽切成单个芽体, 选取生长健壮的个体转接入生根培养基上进行不定根的诱导。培养约15天后, 从试管苗基部长出2~3条白色的根(图4), 形成完整植株, 生根率达90%。待根长2~3cm, 根量增多, 根系粗壮时, 置于温室中, 3~5天后打开瓶盖, 每天用喷壶喷水, 防止幼苗失水。2~3天后从培养瓶中取出幼苗, 洗净根部的培养基, 移栽入湿润的水苔中(图5), 喷水保湿, 以后每隔3~5天用喷壶喷施1次MS营养液, 直至幼苗长至5cm左右且生长健壮。保持环境温度 $20^\circ\text{C} \sim 25^\circ\text{C}$, 成活率可达80%。■



图2 侧芽萌发



图3 继代增殖



图4 生根



图5 移栽