

石斛新品种粉佳人增殖及生根条件优化

江金兰

三明市农业科学研究院/福建省山区作物遗传改良与创新利用重点实验室, 福建三明 365051

摘要: 粉佳人是三明市农业科学研究院选育的观赏石斛新品种, 在工厂化育苗中, 发现粉佳人丛芽增殖慢, 增殖系数低, 组培苗根系不够发达等问题, 影响该品种大规模生产。为提高石斛新品种粉佳人工厂化育苗效率, 以粉佳人无菌苗为外植体, 采用 $L_9(3^3)$ 正交试验探讨植物生长调节剂 6-BA、NAA 及添加物香蕉泥、活性炭 AC 对粉佳人茎段不定芽增殖及组培苗生根的影响。结果表明, 粉佳人茎段不定芽增殖适宜的培养基为 $1/2\text{ MS}+6\text{-BA } 3\text{ mg/L}+\text{香蕉泥 } 100\text{ g/L}+\text{白糖 } 30\text{ g/L}+\text{AC } 1\text{ g/L}+\text{琼脂粉 } 5.6\text{ g/L}$ 。培养 4 个月后, 茎段不定芽增殖系数为 5.08。极差分析结果表明, 3 种因素(6-BA、NAA、香蕉泥)的主次关系为 6-BA>NAA>香蕉泥, 主体间效应检验表明 6-BA 对生长速度系数的影响达显著水平 ($P<0.05$)。粉佳人生根壮苗最适宜的培养基为 $1/2\text{ MS}+\text{NAA } 1\text{ mg/L}+\text{香蕉泥 } 100\text{ g/L}+\text{白糖 } 15\text{ g/L}+\text{琼脂粉 } 5.6\text{ g/L}$, 培养 2 个月后, 组培苗生根的生长速度系数为 12.82, 苗平均株高 12.66 cm, 平均叶长 4.02 cm, 平均根数 11.80 条, 平均单株重 1.67 g。极差分析表明 3 种因素(NAA、AC、香蕉泥)的主次关系为 NAA>AC>香蕉泥, 主体间效应检验表明, 3 种因素(NAA、AC、香蕉泥)对粉佳人生根的影响均不显著。表型性状相关性分析结果表明, 苗单株重与株高、叶长、叶宽、根数呈极显著正相关 ($P<0.01$)。本研究对石斛新品种粉佳人的增殖及生根条件进行了优化, 可为石斛新品种及其他兰科植物的种苗繁育提供技术参考。

关键词: 石斛; 粉佳人; 组织培养; 增殖; 生根

中图分类号: S682.31 **文献标志码:** A

Optimization of Proliferation and Rooting Conditions for a New Variety of *Dendrobium* Fenjiaren

JIANG Jinlan

Sanming Academy of Agricultural Sciences / Fujian Key Laboratory of Crop Genetic Improvement and Innovative Utilization for Mountain Area, Sanming, Fujian 365051, China

Abstract: Fenjiaren is a new *Dendrobium* variety bred by Sanming Academy of Agricultural Sciences for both ornamental and edible purposes. In factory seedling cultivation, it was found that Fenjiaren had slow cluster bud proliferation, low proliferation coefficient, underdeveloped root system of tissue culture seedlings and other problems, which affecting the large-scale production of this variety. To improve the efficiency of factory seedling cultivation of the variety, the sterile seedlings were used as the explants, the effects of plant growth regulators including 6-BA, NAA, and additives such as banana puree and AC on the proliferation of stem segments and the rooting of seedlings were studied using $L_9(3^3)$ orthogonal experiments. The suitable culture medium for the proliferation of stem segments of Fenjiaren was $1/2\text{ MS}+6\text{-BA } 3\text{ mg/L}$, banana puree 100 g/L, white sugar 30 g/L, activated carbon AC 1 g/L, and agar powder 5.6 g/L. After 4 months of cultivation, the proliferation coefficient of the stem segment was 5.08. Range analysis indicated that the primary and secondary relationship of the factors was 6-BA>NAA>banana puree. The inter subject effect test showed that 6-BA had a significant impact on the growth rate coefficient ($P<0.05$). The most suitable culture medium for rooting was $1/2\text{ MS}+\text{NAA } 1\text{ mg/L}+\text{banana puree } 100\text{ g/L}+\text{white sugar } 15\text{ g/L}+\text{agar powder } 5.6\text{ g/L}$. After 2 months of cultivation, the growth rate coefficient of the rooting was 12.82, the average plant height of the seedling was 12.66 cm,

收稿日期 2023-08-15; 修回日期 2023-09-15

基金项目 福建省星火项目 (No. 2021S0018, No. 2023S0018); 福建省引导性项目 (No. 2021N0046)。

作者简介 江金兰 (1973—), 女, 学士, 高级农艺师, 研究方向: 兰科植物育种及生物技术; E-mail: 420465520@qq.com。

the average leaf length was 4.02 cm, the average number of roots was 11.80, and the average plant weight was 1.67 g. Range analysis indicated that the primary and secondary relationship of the factors was NAA>AC>banana puree. This study optimized the proliferation and rooting conditions of a new variety of Fenjiaren, which could provide technical reference for the seedling breeding of new varieties of *Dendrobium* and other Orchid plants.

Keywords: *Dendrobium*; Fenjiaren; tissue culture; proliferation; rooting

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2024.06.010

石斛属 (*Dendrobium*) 植物是兰科 (Orchidaceae) 多年生附生草本植物^[1], 不仅具有药用价值, 还具有很高的观赏价值, 是兰科植物中观赏价值较高的四大名兰之一^[2]。目前, 石斛兰已被广泛栽培于世界各地, 经过育种家开展的新品种选育工作, 已有不少经典石斛兰品种流行于市场。我国开展石斛兰新品种选育较晚, 目前市场流行品种大都为国外引进品种^[3]。

三明市农业科学研究院自 2012 年起开展石斛种质资源收集、保存等工作^[4-16]。粉佳人是本课题组选育的观赏石斛新品种, 2020 年获得农业农村部植物新品种权 (CNA20182196.6)。粉佳人结合了父母本的优良性状, 生长速度快、抗病虫性好、花色彩明丽, 茎秆粗壮、生长量大, 具有良好的开发潜力。

与传统石斛种苗生产以种子播种繁殖不同, 为稳定石斛新品种特性, 在生产中需要通过茎段不定芽繁殖途径进行种苗繁育。相对种子播种的原球茎途径, 茎段不定芽繁殖途径因增殖系数低^[17], 培养时间长^[18], 产量有限^[19], 难以实现规模化生产。本研究针对石斛新品种粉佳人茎段增殖特点, 通过优化生长调节物质及添加物等条件对茎段不定芽增殖、小苗生根的影响, 以提高增殖系数, 获得健壮的组培苗。本研究将为石斛新品种及其他兰科植物的种苗繁育提供技术参考。

1 材料与方法

1.1 材料

以石斛新品种粉佳人无菌苗为供试材料, 试验于 2022 年 3~9 月在三明市农业科学研究院药用植物研究所组培室进行。

1.2 方法

1.2.1 茎段不定芽增殖 采用 $L_9(3^3)$ 正交试验设计 (表 1), 优化粉佳人茎段不定芽增殖培养基配方, 各处理以 1/2 MS+白糖 30 g/L+AC 1 g/L+琼脂粉 5.6 g/L 为基本培养基, pH 5.6~5.8, 每瓶接种 20 条单节茎段为一个重复, 每个处理 5 个

生物学重复, 接种 4 个月后统计茎段不定芽生长速度系数、长芽率、增殖系数。培养条件为光照 14 h/d, 光照强度 1500~2000 lx, 培养温度 $(25\pm 2)^{\circ}\text{C}$ 。 $K_1=(Q_2-Q_1)/Q_1$, $K_2=(N_2/N_1)\times 100\%$, $K_3=N_3/N_1$ 。式中, K_1 表示生长速度系数, Q_1 表示接种的质量, Q_2 表示增殖后的质量; K_2 表示长芽率, N_2 表示长芽的茎段数, N_1 表示接种的茎段数; K_3 表示增殖系数, N_3 表示增殖后的茎段数。

表 1 不定芽增殖正交试验设计
Tab. 1 Orthogonal design of experiments of adventitious bud proliferation

水平 Level	因素 Factor		
	6-BA/ ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	NAA/ ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	香蕉泥 Banana puree/($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)
1	1	0.0	0
2	2	0.5	50
3	3	1.0	100

1.2.2 组培苗生根壮苗培养 采用 $L_9(3^3)$ 正交试验设计 (表 2), 优化粉佳人生根壮苗培养基配方, 各处理以 1/2 MS+白糖 15 g/L+琼脂粉 5.6 g/L 为基本培养基, pH 5.6~5.8, 每瓶接种 20 株 2~3 cm 无根苗为一个重复, 每个处理 5 个生物学重复, 接种 2 个月后统计生根苗生长速度系数 (同上)、合格苗比率 (种苗分级标准参照 T/ZNZ 168.3—2023《丽水市铁皮石斛标准综合体 第 3 部分: 种苗繁育》^[20])、折干率及表型性状。培养条件同上。 $H=N_4/N_5\times 100\%$, $F=W_1/W_2\times 100\%$ 。 H 表示合格苗比率, N_4 表示合格苗株数, N_5 表示生根苗总数; F 表示折干率, W_1 表示整株苗干重, W_2 表示整株苗鲜重。

表 2 生根培养正交试验设计
Tab. 2 Orthogonal design of experiments of rooting culture

水平 Level	因素 Factor		
	NAA/ ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	活性炭 AC/ ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	香蕉泥 Banana puree/($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)
1	0.0	0.0	0
2	0.5	0.5	50
3	1.0	1.0	100

1.3 数据处理

采用 Excel 2007 软件进行数据统计, SPSS 19.0 软件进行方差分析及相关性分析。

2 结果与分析

2.1 不同处理对茎段不定芽增殖的影响

由表 3 可知,处理 7 的生长速度系数为 12.38,极显著高于其他处理;长芽率前 3 位分别为处理 7 (88.49%)、处理 1 (85.00%)、处理 4 (84.09%),且三者间差异不显著;增殖系数位于前 2 位的是处

理 7 (5.08)、处理 4 (4.75),且二者间差异不显著。综合考虑生长速度系数、长芽率和增殖系数,最适宜粉佳人茎段增殖的为处理 7: 6-BA 3 mg/L+香蕉泥 100 g/L。

极差分析结果表明,3 个因素对生长速度系数的影响依次为: 6-BA>NAA>香蕉泥,对长芽率的影响依次为: NAA>6-BA>香蕉泥;对增殖系数的影响依次为: 6-BA>NAA>香蕉泥。根据各列 *K* 值大小可知,生长速度系数、长芽率和增殖系数的最优组合为 A₃B₁C₃: 6-BA 3 mg/L+香蕉泥 100 g/L。

表 3 6-BA、NAA 和香蕉泥对粉佳人茎段增殖的影响
Tab. 3 Effects of 6-BA, NAA and banana puree on the proliferation of stem segments of Fenjiaren

处理 Treatment	6-BA/ (mg·L ⁻¹)	NAA/ (mg·L ⁻¹)	香蕉泥 Banana puree/(g·L ⁻¹)	生长速度系数 Growth rate coefficient	长芽率 Bud growth rate/%	增殖系数 Multiplication
1	1	0.0	0	5.16±0.19 ^{abA}	85.00±0.15 ^{cB}	2.82±0.09 ^{abAB}
2	1	0.5	50	6.10±1.78 ^{abA}	51.00±0.03 ^{abAB}	2.49±0.10 ^{aA}
3	1	1.0	100	2.34±0.11 ^{aA}	33.67±0.06 ^{aA}	2.46±0.19 ^{aA}
4	2	0.0	50	3.80±0.37 ^{abA}	84.09±0.08 ^{cB}	4.75±1.03 ^{cBC}
5	2	0.5	100	5.09±1.10 ^{abA}	68.33±0.10 ^{bcAB}	4.13±0.44 ^{bcABC}
6	2	1.0	0	5.98±1.19 ^{abA}	55.67±0.05 ^{abAB}	2.82±0.40 ^{abAB}
7	3	0.0	100	12.38±2.37 ^{cB}	88.49±0.07 ^{cB}	5.08±0.72 ^{cC}
8	3	0.5	0	7.25±0.99 ^{baA}	74.33±0.08 ^{bcB}	4.37±0.34 ^{bcABC}
9	3	1.0	50	5.75±0.59 ^{abA}	70.47±0.09 ^{bcAB}	4.35±0.17 ^{bcABC}
K _{a1}	13.64	22.28	18.36			
K _{a2}	14.87	21.34	15.65			
K _{a3}	25.38	14.07	19.81		R _a 值: A>B>C 最优水平: A ₃ B ₁ C ₃	
R _a	3.91	2.74	1.39			
K _{b1}	1.69	2.58	1.60			
K _{b2}	2.08	1.93	2.05			
K _{b3}	2.33	1.60	2.15		R _b 值: B>A>C 最优水平: A ₃ B ₁ C ₃	
R _b	0.21	0.33	0.18			
K _{c1}	7.77	12.03	10.01			
K _{c2}	11.70	11.61	10.99			
K _{c3}	13.82	9.65	12.29		R _c 值: A>B>C 最优水平: A ₃ B ₁ C ₃	
R _c	2.02	0.79	0.76			

注: 同列数据后不同小写字母表示处理间差异显著 ($P<0.05$), 不同大写字母表示处理间差异极显著 ($P<0.01$); K_a 表示生长速度系数, R_a 表示生长速度系数的极差; K_b 表示长芽率, R_b 表示长芽率的极差; K_c 表示增殖系数, R_c 表示增殖系数的极差。
Note: Data followed different small and capital letters within column indicate significant difference extremely significant difference at 0.05 and 0.01 levels by multiple comparison, respectively; K_a represents the growth rate coefficient, and R_a indicates the range of growth rate coefficient; K_b indicates the rate of sprouting, while R_b indicates the range of sprouting rates; K_c indicates the multiplication coefficient, while R_c indicates the range of multiplication coefficients.

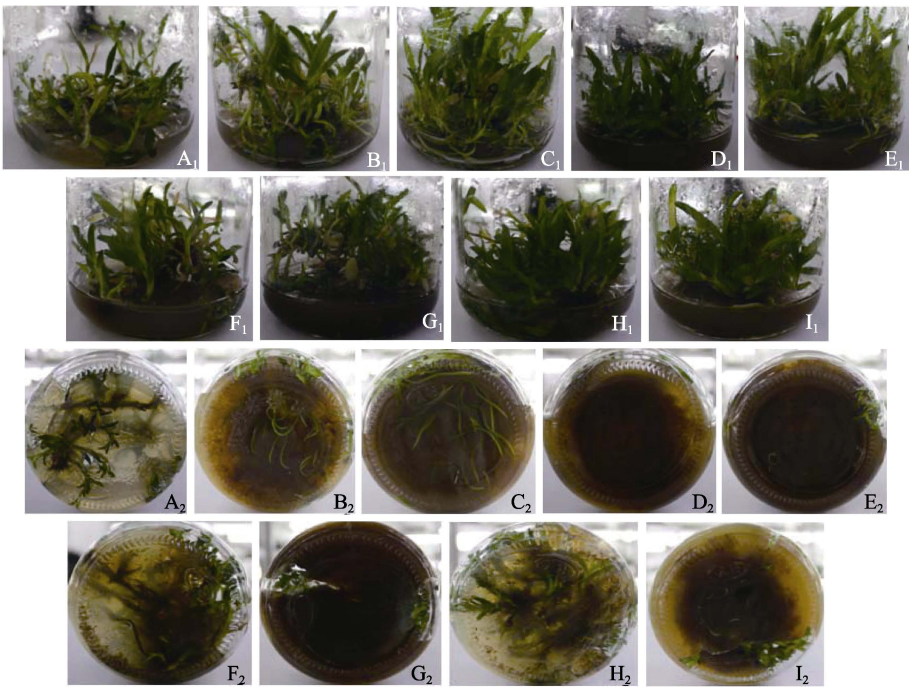
主体间效应检验 (表 4) 表明, NAA 和香蕉泥对粉佳人茎段增殖影响不显著, 6-BA 对生长速度系数的影响达显著水平 ($P<0.05$), 对长芽率的影响达极显著水平 ($P<0.01$), 三者对增殖系数影

响的主次关系为: 6-BA>NAA>香蕉泥。不同处理的茎段增殖情况见图 1, 生长速度系数、长芽率和增殖系数最高的处理 7 (图 1G₁、G₂) 茎段萌出的芽多、壮、长势均匀, 增殖程度最佳。

表 4 茎段增殖主体间效应的检验

Tab. 4 Test of inter host effects of stem segment proliferation

源 Source	因变量 Dependent variable	Ⅲ型平方和 Type III sum of squares	df	Ms	F	P
修正模型	生长速度系数	98.108	6	12.263	1.335	0.289
	长芽率	0.606	6	0.076	2.345	0.063
	增殖系数	7.085	6	0.886	0.506	0.836
截距	生长速度系数	966.368	1	966.368	105.176	0.000
	长芽率	12.438	1	12.438	385.389	0.000
	增殖系数	369.408	1	369.408	211.093	0.000
6-BA	生长速度系数	82.326	2	41.163	4.480	0.026
	长芽率	0.493	2	0.247	7.645	0.004
	增殖系数	3.183	2	1.591	0.909	0.420
NAA	生长速度系数	6.873	2	3.437	0.374	0.693
	长芽率	0.018	2	0.009	0.286	0.755
	增殖系数	1.455	2	0.727	0.416	0.666
香蕉泥	生长速度系数	1.010	2	0.505	0.055	0.947
	长芽率	0.053	2	0.027	0.822	0.456
	增殖系数	0.094	2	0.047	0.027	0.973
误差	生长速度系数	165.387	18	9.188		
	长芽率	0.581	18	0.032		
	增殖系数	31.500	18	1.750		
总计	生长速度系数	1229.863	27			
	长芽率	13.625	27			
	增殖系数	407.993	27			
校正的总计	生长速度系数	263.494	26			
	长芽率	1.186	26			
	增殖系数	38.585	26			



A₁~I₂ 为处理 1~9 茎段增殖情况（其中 A₁~I₁ 从组培瓶正面看，A₂~I₂ 从组培瓶底部看）。
A₁~I₂ represents the proliferation of stem segments treated with 1~9 (where A₁~I₁ was viewed from the front of the tissue culture bottle and A₂~I₂ was viewed from the bottom of the tissue culture bottle).

图 1 粉佳人茎段增殖生长情况

Fig. 1 The proliferation and growth of stem segments of Fenjiaren

2.2 不同处理对粉佳人生根壮苗的影响

由表 5 可知, 生长速度系数位于前 3 位的是处理 7 (12.82)、处理 1 (6.69)、处理 8 (4.94), 处理 7 极显著高于其他处理; 合格苗比率位于前 3 位的分别为处理 9 (93.79%)、处理 7 (93.33%)、处理 2 (93.04%), 三者间差异不显著; 折干率位于前 3 位的是处理 7 (9.42)、处理 1 (8.82)、处理 3 (8.53), 处理 7、处理 1 二者间差异不显著。综合考虑生长速度系数、合格苗比率和折干率, 最适宜粉佳人生根的为处理 7: NAA 1 mg/L+香蕉泥 100 g/L。

极差分析结果表明, 3 个因素对生长速度系数的影响依次为: NAA>AC>香蕉泥, 对合格苗比率的影响依次为: 香蕉泥>NAA>AC; 对折干率的影响依次为: 香蕉泥>NAA>AC。根据各列 *K* 值大小可知, 生长速度系数、合格苗比率和折干率的最优组合为 A3B1C3: NAA 1 mg/L +香蕉泥 100 g/L。

主体间效应检验 (表 6) 表明, NAA、AC 和香蕉泥对粉佳人生根的影响均不显著, 三者对生长速度系数的影响的主次关系为 NAA>AC>香蕉泥。不同处理的小苗生根情况见图 2, 处理 7 (图 2 G₁、G₂), 芽苗的长势优于其他处理。

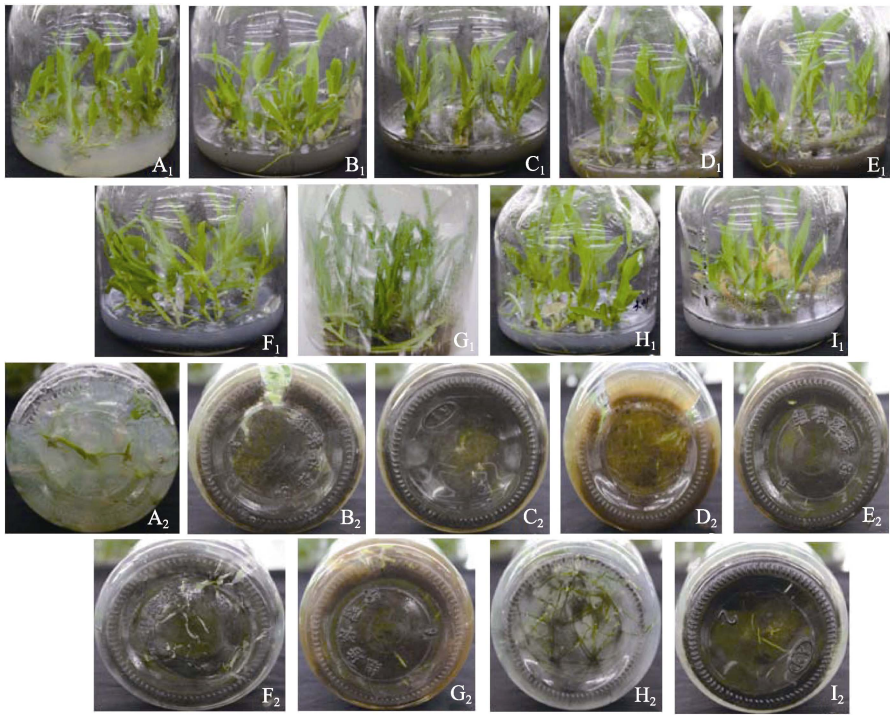
表 5 NAA、AC 和香蕉泥对粉佳人生根的影响
Tab. 5 Effects of NAA, AC and banana puree on the rooting of Fenjiaren

处理 Treatment	NAA/ (mg·L ⁻¹)	活性炭 AC/ (g·L ⁻¹)	香蕉泥 Banana puree/(g·L ⁻¹)	生长速度系数 Growth rate coefficient	合格苗比率 Qualified seedling rate/%	折干率 Drying rate/%
1	0.0	0.0	0	6.69±1.05 ^{Aa}	81.24±0.01 ^a	8.82±0.10 ^{CDde}
2	0.0	0.5	50	4.91±0.51 ^{Aa}	93.04±0.03 ^{ab}	7.60±0.15 ^{ABab}
3	0.0	1.0	100	3.02±0.72 ^{Aa}	89.93±0.02 ^{ab}	8.53±0.25 ^{BCDcd}
4	0.5	0.0	50	4.84±0.45 ^{Aa}	91.04±0.05 ^{ab}	7.34±0.16 ^{Aa}
5	0.5	0.5	100	5.22±1.11 ^{Aa}	92.99±0.03 ^{ab}	8.28±0.18 ^{ABCbcd}
6	0.5	1.0	0	4.65±0.44 ^{Aa}	85.03±0.06 ^{ab}	7.95±0.22 ^{ABCabc}
7	1.0	0.0	100	12.82±6.51 ^{Bb}	93.33±0.02 ^{ab}	9.42±0.52 ^{De}
8	1.0	0.5	0	4.94±0.15 ^{Aa}	91.39±0.03 ^{ab}	7.80±0.23 ^{ABCabc}
9	1.0	1.0	50	2.21±0.36 ^{Aa}	93.79±0.03 ^b	8.54±0.19 ^{BCDcd}
<i>K</i> _{a1}	14.11	24.35	15.68		<i>R</i> _a 值: A>B>C 最优水平: A ₃ B ₁ C ₃	
<i>K</i> _{a2}	14.62	15.07	11.96			
<i>K</i> _{a3}	19.97	9.28	21.06			
<i>R</i> _a	5.02	3.03	1.95			
<i>K</i> _{b1}	264.21	277.42	257.66		<i>R</i> _b 值: C>A>B 最优水平: A ₃ B ₁ C ₃	
<i>K</i> _{b2}	269.06	268.75	276.25			
<i>K</i> _{b3}	278.51	265.61	277.87			
<i>R</i> _b	4.77	3.94	6.74			
<i>K</i> _{c1}	24.95	25.58	24.57		<i>R</i> _c 值: C>A>B 最优水平: A ₃ B ₁ C ₃	
<i>K</i> _{c2}	23.57	23.68	23.48			
<i>K</i> _{c3}	25.76	25.02	26.23			
<i>R</i> _c	0.73	0.63	0.92			

注: 同列数据后不同小写字母和大写字母分别表示差异显著 ($P<0.05$) 和极显著 ($P<0.01$); *K*_a 表示生长速度系数, *R*_a 表示生长速度系数的极差; *K*_b 表示优质苗比率, *R*_b 表示优质苗比率的极差; *K*_c 表示折干率, *R*_c 表示折干率的极差。
Note: Data followed different small and capital letters within column indicate significant difference extremely significant difference at 0.05 and 0.01 levels by multiple comparison, respectively; *K*_a indicates the growth rate coefficient, and *R*_a represents the range of growth rate coefficient; *K*_b indicates the ratio of high-quality seedlings, while *R*_b indicates the extreme difference in the ratio of high-quality seedlings; *K*_c indicates the drying rate, while *R*_c indicates the range of drying rates.

表 6 粉佳人生根主体间效应的检验
Tab. 6 Testing the intersubjective effect of rooting of ‘Fenjiaren’

源 Source	因变量 Dependent variable	Ⅲ型平方和 Type III sum of squares	df	Ms	F	P
修正模型	生长速度系数	116.816	6	19.469	0.989	0.461
	长芽率	0.015	6	0.002	0.345	0.904
	增殖系数	0.000	6	0.000	0.086	0.993
截距	生长速度系数	976.350	1	976.350	49.621	0.000
	长芽率	20.028	1	20.028	2784.461	0.000
	增殖系数	0.060	1	0.060	623.089	0.000
NAA	生长速度系数	51.094	2	25.547	1.298	0.297
	长芽率	0.001	2	0.000	0.048	0.954
	增殖系数	0.000	2	0.000	0.009	0.924
AC	生长速度系数	39.194	2	19.597	0.996	0.389
	长芽率	0.013	2	0.007	0.934	0.411
	增殖系数	0.000	2	0.000	0.077	0.786
香蕉泥	生长速度系数	25.407	2	12.704	0.646	0.536
	长芽率	0.001	2	0.001	0.085	0.919
	增殖系数	0.000	2	0.000	0.239	0.633
误差	生长速度系数	354.167	18	19.676		
	长芽率	0.129	18	0.007		
	增殖系数	0.001	18	0.000		
总计	生长速度系数	1430.620	25			
	长芽率	20.735	25			
	增殖系数	0.122	25			
校正的总计	生长速度系数	470.983	24			
	长芽率	0.144	24			
	增殖系数	0.001	24			



A₁~I₂ 为处理 1~9 小苗生根情况（其中 A₁~I₁ 从组培瓶正面看，A₂~I₂ 从组培瓶底部看）。
A₁~I₂ represents the rooting situation of seedlings in treatment 1~9 (where A₁~I₁ was viewed from the front of the tissue culture bottle, and A₂~I₂ was viewed from the bottom of the tissue culture bottle).

图 2 粉佳人生根情况
Fig. 2 Rooting situation of Fenjiaren

2.3 生根苗表型性状分析

由表 7 可知, 处理 7 (表 7、图 3G) 生根苗的株高 (12.66)、叶长 (4.02)、根数 (11.80)、单株重 (1.67) 均高于其他处理, 其中株高与处理 1 (9.10) 的差异显著 ($P<0.05$); 叶长与其他处理差异不显著; 根数与处理 1 (4.60)、处理 2 (2.80)、处理 3 (6.20)、处理 4 (5.60)、处理 6 (3.00)、处理 8 (5.80) 的差异极显著 ($P<0.01$), 与处理 5 (7.20)、处理 9 (6.60) 的差异显著 ($P<0.05$); 单株重与处理 1 (0.55)、处理 2 (0.63)、处理 3 (0.68)、处理 6 (0.78)、处理

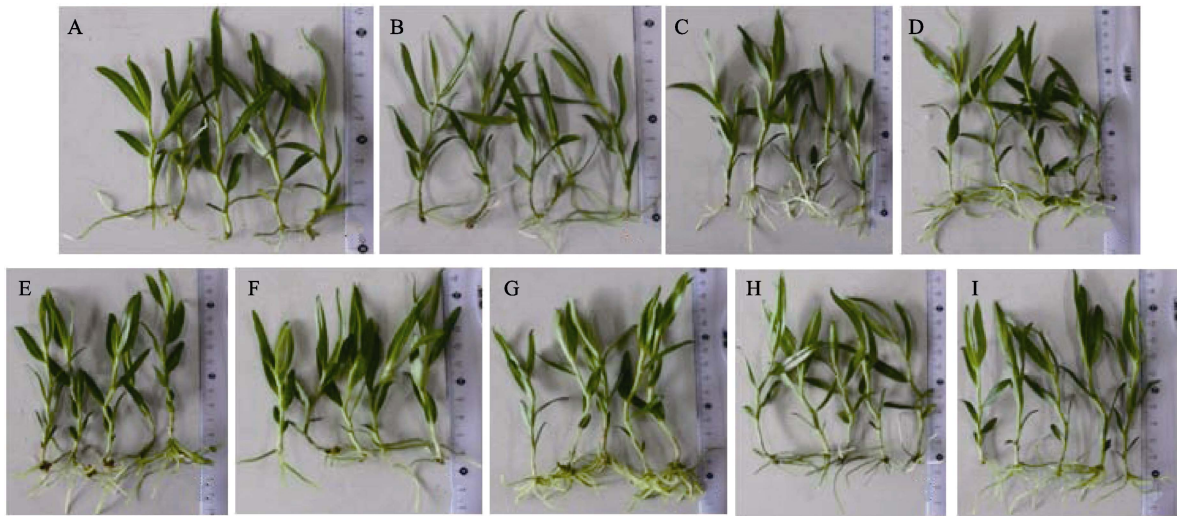
8 (0.82)、处理 9 (0.76) 差异极显著水平 ($P<0.01$), 与处理 4 (1.29)、处理 5 (1.30) 差异显著 ($P<0.05$)。处理 7 的茎粗 (2.54)、叶宽 (0.84)、叶数 (7.60) 和根长 (5.30) 位于第二, 其中茎粗与最高的处理 8 (2.72) 差异不显著, 叶宽与其他处理差异不显著, 叶数与最高的处理 5 (8.40) 差异不显著, 根长与最高的处理 2 (5.52) 差异不显著。

相关分析 (表 8) 表明, 单株重与株高、叶长、叶宽、根数呈极显著正相关 ($P<0.01$), 与叶数、根长无相关性。

表 7 生根苗表型性状
Tab. 7 Phenotypic traits of rooted seedlings

处理 Treatment	株高 Height/cm	茎粗 Stem diameter/mm	叶长 Leaf length/cm	叶宽 Leaf width/cm	叶数 leaf number	根长 Root length/cm	根数 Root	单株重 Single plant weight/g
1	9.10±0.57 ^a	2.14±0.15 ^{ABCabc}	3.44±0.26	0.60±0.03	7.60±0.40 ^{ABab}	3.64±0.77	4.60±0.60 ^{Aab}	0.55±0.05 ^{Aa}
2	10.22±0.54 ^{ab}	1.86±0.12 ^{Aa}	3.40±0.30	0.70±0.07	6.40±0.40 ^{Aa}	5.52±0.99	2.80±0.86 ^{Aa}	0.63±0.11 ^{Aa}
3	10.34±0.54 ^{ab}	2.02±0.02 ^{ABab}	3.26±0.19	0.76±0.05	6.40±0.24 ^{Aa}	3.78±0.46	6.20±1.43 ^{ABab}	0.68±0.09 ^{Aa}
4	10.84±2.76 ^{ab}	2.48±0.14 ^{ABCbcd}	3.16±0.80	0.78±0.20	7.50±0.29 ^{ABab}	3.80±1.10	5.60±2.06 ^{Aab}	1.29±0.19 ^{BCb}
5	11.62±0.20 ^{ab}	2.54±0.13 ^{BCcd}	3.76±0.13	0.88±0.07	8.40±0.60 ^{Bb}	4.80±0.37	7.20±1.98 ^{ABb}	1.30±0.14 ^{BCb}
6	9.90±0.51 ^{ab}	2.14±0.12 ^{ABCabc}	3.92±0.19	0.74±0.04	6.80±0.20 ^{Aa}	3.70±0.60	3.00±0.55 ^{Aab}	0.78±0.05 ^{ABa}
7	12.66±0.62 ^b	2.54±0.26 ^{BCcd}	4.02±0.32	0.84±0.05	7.60±0.00 ^{ABab}	5.30±0.41	11.80±1.07 ^{Bc}	1.67±0.28 ^{Cb}
8	11.54±0.62 ^{ab}	2.72±0.19 ^{Cd}	3.94±0.17	0.68±0.07	7.00±0.32 ^{ABa}	5.26±0.55	5.80±0.86 ^{Aab}	0.82±0.08 ^{ABa}
9	10.84±0.42 ^{ab}	2.14±0.14 ^{ABCabc}	3.34±0.29	0.72±0.06	7.00±0.45 ^{ABa}	3.86±0.18	6.60±1.47 ^{ABab}	0.76±0.11 ^{ABa}

注: 同列数据后不同小写字母和大写字母分别表示差异显著 ($P<0.05$) 和极显著 ($P<0.01$)。
Note: Data followed different small and capital letters within column indicate significant difference extremely significant difference at 0.05 and 0.01 levels by multiple comparison, respectively.



A~I 为处理 1~9 生根苗。
A~I represents the rooting seedlings in treatment 1~9.
图 3 粉佳人生根苗
Fig. 3 Rooting seedlings of Fenjiaren

表 8 生根苗表型性状相关分析
Tab. 8 Correlation analysis of phenotypic traits of rooted seedlings

表型性状 Phenotypic traits	株高 Height	叶数 Leaf number	叶长 Leaf length	叶宽 Leaf width	根数 Root	根长 Root length	单株重 Single plant weight	茎粗 Stem diameter
株高	1.000							
叶数	0.639**	1.000						
叶长	0.795**	0.757**	1.000					
叶宽	0.773**	0.684**	0.678**	1.000				
根数	0.478**	0.327*	0.317*	0.492**	1.000			
根长	0.460**	0.257	0.298*	0.357*	0.182	1.000		
单株重	0.571**	0.284	0.415**	0.622**	0.641**	0.184	1.000	
茎粗	0.371*	0.108	0.234	0.190	0.346*	0.310*	0.607**	1.000

注：*表示显著相关（ $P<0.05$ ），**表示极显著相关（ $P<0.01$ ）。
Note: * indicates significant correlation ($P<0.05$), ** indicates extremely significant correlation ($P<0.01$).

3 讨论

3.1 6-BA 对粉佳人茎段增殖影响显著

石斛组织培养中，与原球茎增殖途径相比，茎段不定芽诱导途径增殖系数普遍更低，因此，不定芽诱导增殖培养是决定石斛茎段快繁的重要环节。当粉佳人的茎段接种于 1/2 MS+白糖 30 g/L+AC 1 g/L+琼脂粉 5.6 g/L+6-BA 3 mg/L+NAA 0 mg/L+香蕉泥 100 g/L 培养基时，增殖系数可达 5.08，芽诱导率达 88.49%。6-BA 是主要影响因子，6-BA 对茎段增殖生长速度系数及长芽率的影响呈显著或极显著水平。随着 6-BA 浓度升高，茎段不定芽增殖的平均生长速度、长芽率、增殖速度也随之升高。当 6-BA 浓度不变，增殖系数随着 NAA 浓度升高而降低，表明较高浓度的 NAA 会抑制芽的增殖。这一点在其他种石斛的培养中也有类似的发现，姜燕燕等^[21]用茎段不定芽诱导、增殖及生根 3 步法实现铁皮石斛培养，在 不定芽诱导中同样发现，6-BA 对不定芽的诱导和增殖的影响作用显著，当 6-BA 的浓度达到 2 mg/L 时，诱导率就可达到 92.9%，但当 6-BA 的浓度为 1 mg/L 与 3 mg/L 时，增殖系数分别下降了 43.5%~47.9%与 31.8%~35.2%。郭国业等^[22]同样在铁皮石斛研究中发现，当使用 MS+0.8%琼脂+3%蔗糖+0.1 mg/L NAA+1 mg/L 6-BA 培养基，可使铁皮石斛芽增殖系数达到 2.13，过高的 6-BA 虽能诱导较多的芽苗，但易导致诱导芽苗生长势变弱。

而本试验使用 3 mg/L 6-BA 仍可使芽诱导数及增殖系数保持较高水平，除了种质特性不同，还可能与本试验中在芽诱导阶段添加较高浓度香蕉泥有关。香蕉泥对粉佳人茎段芽增殖有促进作

用，当香蕉泥浓度为 100 g/L 时，茎段芽增殖的平均生长速度系数、折干率最高。蔡正旺^[23]在铁皮石斛的茎段培养中也得到类似结果。因此，较高浓度的 6-BA，低浓度的 NAA 及较高浓度香蕉泥是保证茎段芽苗诱导与芽体质量的重要因素。

3.2 NAA 是粉佳人生根壮苗的主要影响因子

石斛组织培养中，与原球茎途径分化的芽相比，虽然茎段诱导的芽的生长势更强，根系更壮^[24]，但为了提高移栽成活率，仍需进行生根壮苗培养。在本试验中，不同水平的 NAA、AC 及香蕉泥对生根苗的合格率及折干率影响均不显著，可能是茎段诱导的芽对环境具备较强的适应能力。3 个因素中，NAA 虽然对粉佳人的增殖效果不明显，但在生根阶段，NAA 是主要的影响因子，随着 NAA 浓度的升高，平均生根速度、平均合格苗的比率也升高。当 NAA 的浓度为 1 mg/L，生根效果最优，植株健壮，根系发达。这与李媛等^[25]在肿节石斛、尖刀唇石斛、报春石斛 3 种石斛的生根培养的结果略有不同，李媛等^[25]的研究结果表明，NAA 浓度为 0.5~0.75 mg/L 时，3 种石斛的茎段生根苗可以达到最佳的生根诱导率与生长势，NAA 的浓度为 1 mg/L 时，3 种石斛的生根率、生根条数和根生长情况均有所下降。本研究中，粉佳人生根苗在 NAA 浓度为 1 mg/L 的处理 7 中，其生长速度系数达到 12.82，折干率达到 9.42%，远高于 NAA 为 0.5 mg/L 的 3 个处理。这可能与培养基中添加的 AC 有关。AC 常用于多种植物组培苗生根培养，但本试验中，AC 对粉佳人的生根及长势产生明显的抑制作用。这在其他兰科植物中也有类似的发现，刘丹^[26]研究表明，低浓度或

不添加 AC 的处理更适合金线莲生根。本研究也表明,不添加活性炭 AC 时,芽苗长势更优,生根苗的平均株高、平均叶长、平均根数、平均单株重高于 AC 0.5 g/L 和 1 g/L 浓度。

本研究利用三因素三水平正交试验,探讨植物生长调节剂(6-BA、NAA)和添加物(香蕉泥、AC)对石斛新品种粉佳人茎段不定芽增殖及小苗生根的影响,建立了高效的粉佳人种苗生产体系,可为石斛及其他兰科植物新品种工厂化育苗提供理论支持和技术参考。

参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志, 第 19 卷[M]. 北京: 科学出版社, 1999: 67.
Delectis Florae Reipublicae Popularis Sinicae, Agenda Academiae Sinicae Edita. Florae reipublicae popularis sinicae, tomus 19[M]. Beijing: Science Press, 1999: 67. (in Chinese)
- [2] 龚建英, 王华新, 陈宝玲, 陈尔, 李永霞, 王珠娜. 3 种观赏石斛蒴果特征及无菌播种萌发的影响因素[J]. 江苏农业科学, 2015, 43(1): 184-186.
GONG J Y, WANG H X, CHEN B L, CHEN E, LI Y X, WANG Z N. Characteristics of capsule and factors influencing germination of three species of ornamental *Dendrobium*[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2015, 43(1): 184-186. (in Chinese)
- [3] 崔学强, 唐璇, 黄昌艳, 邓杰玲, 李秀玲, 卢家仕, 张自斌. 基于 iPBS 标记的石斛兰种质资源遗传多样性分析及 DNA 指纹图谱构建[J]. 热带作物学报, 2021, 42(2): 317-324.
CUI X Q, TANG X, HUANG C Y, DENG J L, LI X L, LU J S, ZHANG Z B. Genetic diversity analysis and fingerprinting construction of *Dendrobium* germplasm resources by iPBS marker[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2021, 42(2): 317-324. (in Chinese)
- [4] 江金兰. 激素和有机质对铁皮石斛×重唇石斛 F₁ 代增殖的影响[J]. 亚热带农业研究, 2022, 18(4): 252-258.
JIANG J L. Effects of hormones and organic matter on proliferation of *Dendrobium officinale*×*D. hercoglossum* F₁ generation[J]. Subtropical Agriculture Research, 2022, 18(4): 252-258. (in Chinese)
- [5] 李永清, 江金兰, 叶炜, 雷伏贵, 华树妹. 37 份药用石斛种质资源亲缘关系的 ISSR 分析[J]. 福建农业学报, 2015, 30(2): 131-135.
LI Y Q, JIANG J L, YE W, LEI F G, HUA S M. Relationships among 37 germplasm resources of medicinal *dendrobium* based on ISSR[J]. Fujian Journal of Agricultural Science, 2015, 30(2): 131-135. (in Chinese)
- [6] 李永清, 叶炜, 江金兰, 雷伏贵. 铁皮石斛种质亲缘关系的 ISSR 分析[J]. 西南农业学报, 2015, 28(4): 1530-1534.
LI Y Q, YE W, JIANG J L, LEI F G. Analysis of genetic diversity of germplasm resources of *Dendrobium officinale* by ISSR[J]. Southwest China Journal Agricultural Sciences, 2015, 28(4): 1530-1534. (in Chinese)
- [7] 江金兰, 叶炜, 李永清, 范志敏, 雷伏贵, 张锐. 福建泰宁野生铁皮石斛种群的 ISSR 亲缘关系分析[J]. 热带亚热带植物学报, 2016, 24(3): 259-266.
JIANG J L, YE W, LI Y Q, FAN Z M, LEI F G, ZHANG R. Genetic relationships among wild *Dendrobium officinale* populations in Taining, Fujian by ISSR[J]. Journal of Tropical and Subtropical Botany, 2016, 24(3): 259-266. (in Chinese)
- [8] 江金兰, 叶炜, 李永清, 范志敏, 雷伏贵. 福建泰宁野生铁皮石斛 ISSR 亲缘关系分析[J]. 浙江农业科学, 2016, 57(2): 208-210, 213.
JIANG J L, YE W, LI Y Q, FAN Z M, LEI F G. Analysis of genetic relationship among wild *Dendrobium officinale* in Taining, Fujian by ISSR molecular marks[J]. Journal of Zhejiang Agricultural Sciences, 2016, 57(2): 208-210, 213. (in Chinese)
- [9] 曹亦鸯, 江金兰, 李永清, 雷伏贵, 叶炜. 基于叶绿体 DNA rps16 序列的福建泰宁野生铁皮石斛多样性分析[J]. 福建农业学报, 2016, 31(8): 833-838.
CAO Y Y, JIANG J L, LI Y Q, LEI F G, YE W. Diversity analysis based on chloroplast DNA rps16 sequence for wild *Dendrobium officinale* from Taining, Fujian[J]. Fujian Journal of Agricultural Science, 2016, 31(8): 833-838. (in Chinese)
- [10] 李永清, 叶炜, 江金兰. 药用石斛种质资源生物学特性观察[J]. 安徽农业科学, 2015, 43(12): 39-40, 50.
LI Y Q, YE W, JIANG J L. Observation of biological characteristics of *Dendrobium* germplasm resources[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2015, 43(12): 39-40, 50. (in Chinese)
- [11] 李永清, 叶炜, 江金兰, 雷伏贵. 石斛兰人工授粉结实性研究[J]. 福建农业学报, 2015, 30(8): 779-783.
LI Y Q, YE W, JIANG J L, LEI F G. Effect of artificial self-and cross-pollination on fruit-bearing of *Dendrobium*[J]. Fujian Journal of Agricultural Sciences, 2015, 30(8): 779-783. (in Chinese)
- [12] 李永清, 江金兰, 叶炜, 曹亦鸯, 雷伏贵, 杨学. SSR 分子标记鉴定铁皮石斛与霍山石斛的正反交后代[J]. 福建农业学报, 2017, 32(8): 870-873.
LI Y Q, JIANG J L, YE W, CAO Y Y, LEI F G, YANG X. Differentiation between reciprocal-crossed hybrids of *Dendrobium officinale* and *D. huoshanense* using SSR mark-

- ers[J]. Fujian Journal of Agricultural Sciences, 2017, 32(8): 870-873. (in Chinese)
- [13] 王培育, 郑世仲, 叶炜, 江金兰, 颜沛沛, 李永清. 铁皮石斛与金钗石斛杂交及回交后代的 SSR 鉴定[J]. 亚热带农业研究, 2019, 15(4): 251-256.
- WANG P Y, ZHENG S Z, YE W, JIANG J L, YAN P P, LI Y Q. Identification of (*Dendrobium catenatum*×*D. nobile*) F₁ hybrids and their backcross progenies by SSR markers[J]. Subtropical Agriculture Research, 2019, 15(4): 251-256. (in Chinese)
- [14] 江金兰. 铁皮石斛与霍山石斛杂交后代性状分析[J]. 热带作物学报, 2020, 41(8): 1574-1581.
- JIANG J L. Character analysis of hybrid offspring of *dendrobium officinale* and *dendrobium huoshanense*[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2020, 41(8): 1574-1581. (in Chinese)
- [15] 颜沛沛, 周建金, 叶炜, 江金兰, 王培育. 铁皮石斛和重唇石斛及其杂交子代花的挥发性成分分析[J]. 热带亚热带植物学报, 2022, 30(4): 558-566.
- YAN P P, ZHOU J J, YE W, JIANG J L, WANG P Y. Volatile components in flowers of *Dendrobium officinale*, *D. hercoglossum* and their hybrids[J]. Journal of Tropical and Subtropical Botany, 2022, 30(4): 558-566. (in Chinese)
- [16] 江金兰, 叶炜, 李永清, 周建金, 雷伏贵, 魏道智. 同源四倍体铁皮石斛的生长及多糖积累[J]. 植物生理学报, 2014, 50(4): 519-526.
- JIANG J L, YE W, LI Y Q, ZHOU J J, LEI F G, WEI D Z. Growth and polysaccharides accumulation in autotetraploid *Dendrobium officinale*[J]. Plant Physiology Journal, 2014, 50(4): 519-526. (in Chinese)
- [17] 戴小英, 张淑霞, 周莉茜, 江香梅. 铁皮石斛不同外植体组培快繁技术比较研究[J]. 中国农学通报, 2011, 27(10): 122-126.
- DAI X Y, ZHANG S X, ZHOU L Y, JIANG X M. The study of comparative techniques for tissue culture with different explants in *Dendrobium officinale*[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2011, 27(10): 122-126. (in Chinese)
- [18] 琚淑明, 朱伟玲, 王伟亮, 高云, 马涛. 铁皮石斛茎段离体培养一次成苗技术研究[J]. 甘肃农业大学学报, 2016, 51(1): 45-48.
- JU S M, ZHU W L, WANG W L, GAO Y, MA T. Direct regeneration of seedling from stem fragments of *dendrobium candidum*[J]. Journal of Gansu Agricultural University, 2016, 51(1): 45-48. (in Chinese)
- [19] 袁芳, 宋凯杰, 杨泽东, 王兵, 蔡熙彤, 兰小中. 铁皮石斛茎段类原球茎的诱导及植株再生[J]. 东北农业科学, 2019, 44(4): 66-71.
- YAUN F, SONG K J, YANG Z D, WANG B, CAI X T, LAN X Z. Protocorm-like bodies induction and plant regeneration from stem segments of *Dendrobium officinale* kimura et migo[J]. Journal of Northeast Agricultural Sciences, 2019, 44(4): 66-71. (in Chinese)
- [20] 浙江省农产品质量安全学会. 丽水市铁皮石斛标准综合体, 第3部分: 种苗繁育 非书资料: TZNZ 168.3—2023[S]. 丽水: 浙江省农产品质量安全学会, 2023: 2.
- Zhejiang Association of Quality and Safety for Agricultural Products. Integrated standards for *Dendrobium officinale* from Lishui: part 3: seeding propagation non-book material: T / ZNZ 168.3—2023[S]. Lishui: Zhejiang Association of Quality and Safety for Agricultural Products, 2023: 2. (in Chinese)
- [21] 姜燕燕, 李建民. 铁皮石斛的组织培养与快速无性繁殖[J]. 青海草业, 2021(3): 19-25.
- JIANG Y Y, LI J M. Study on rapid propagation system of *Dendrobium officinale*[J]. Qinghai Prataculture, 2021(3): 19-25. (in Chinese)
- [22] 郭国业, 徐梦琴, 张乃群, 林青松. 铁皮石斛茎段组织培养研究[J]. 园艺与种苗, 2022, 42(11): 6-8.
- GUO G Y, XU M Q, ZHANG N Q, LIN Q S. Study on tissue culture technology of stem of *Dendrobium officinale*[J]. Horticulture & Seed, 2022, 42(11): 6-8. (in Chinese)
- [23] 蔡正旺. 铁皮石斛组织培养研究[J]. 湖北农业科学, 2022(13): 161-164.
- CAI Z W. Study on tissue culture of *Dendrobium officinale*[J]. Hubei Agricultural Sciences, 2022(13): 161-164. (in Chinese)
- [24] 李得萍, 何元秦, 许丁帆, 易元慧, 董红雨, 刘艳军. 铁皮石斛组织快繁技术[J]. 浙江农业科学, 2022, 42(11): 6-8.
- LI D P, HE Y Q, XU D F, YI Y H, DONG H Y, LIU Y J. Study on tissue culture and rapid propagation of *Dendrobium officinale*[J]. Journal of Zhejiang Agricultural Sciences, 2022, 42(11): 6-8. (in Chinese)
- [25] 李媛, 朱丹红, 潘会堂, 张启翔. 3种石斛兰以茎段为外植体的离体快繁技术[J]. 东北林业大学学报, 2013(8): 77-81.
- LI Y, ZHU D H, PAN H T, ZHANG Q X. *In vitro* propagation of three *Dendrobium* species from stems[J]. Journal of Northeast Forestry University, 2013(8): 77-81. (in Chinese)
- [26] 刘丹. 福建戴云山金线莲工厂化育苗关键技术研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2013.
- LIU D. Studies on the key techniques of industrial-scale micropropagation in *Anoectochilus roxburghii* from Daiyunshan mountain in Fujian[D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2013. (in Chinese)