

杂交兰双艺金龙根状茎增殖、分化及生根壮苗研究

邓淑雯^{1,2}, 吴悠^{1,2}, 张华园^{1,2}, 李世星^{1,2}, 林子润^{1,2}, 陈南川³, 傅春梅⁴,
饶小琼⁴, 吴沙沙^{1,2}, 翟俊文^{1,2*}

1. 福建农林大学风景园林与艺术学院, 福建福州 350002; 2. 兰科植物保育与利用国家林业和草原局重点实验室, 福建福州 350002; 3. 福建百秭生态科技有限公司, 福建漳州 363599; 4. 福建连城兰花股份有限公司, 福建龙岩 366211

摘要: 杂交兰双艺金龙 (*Cymbidium* ‘Shuangyi Jinlong’) 是福建百秭生态科技有限公司从杂交兰栽培品种黄金龙的无性系变异单株中选育出的新品种, 集花艺和叶艺于一身, 发芽性好, 易开花, 抗性较强, 有较高的市场需求。为提高杂交兰种苗繁殖效率, 提升种苗品质, 建立标准化生产体系, 以双艺金龙的根状茎为材料, 对其根状茎增殖与分化、生根壮苗、炼苗移栽等各阶段影响因素进行正交试验。结果表明: (1) 适宜根状茎增殖生长的培养基是 MS+1.00 mg/L NAA+0.10 mg/L 6-BA+20.00 g/L 蔗糖+1.00 g/L 活性炭+6.30 g/L 琼脂+1.00 g/L 蛋白胨, 根状茎数量和鲜质量增殖系数分别为 3.57 和 4.63。(2) 适宜根状茎芽分化的培养基是 1/2MS+1.50 mg/L NAA+0.90 mg/L TDZ+100.00 g/L 香蕉泥+25.00 g/L 蔗糖+6.30 g/L 琼脂, 芽分化率为 97.78%, 分化系数达 6.87。(3) 生根壮苗效果较好的培养基是 1/2MS+1.00 mg/L IBA+100.00 g/L 香蕉泥+0.17 g/L KH₂PO₄+1.00 g/L 蛋白胨+30.00 g/L 蔗糖+6.30 g/L 琼脂+1.00 g/L 活性炭, 培养 90 d 植株平均生根数 5 条, 根长 5.40 cm, 假鳞茎厚度 4.35 mm, 株高 12.95 cm, 每株苗鲜质量 2.42 g。(4) 炼苗 21 d 后选用水苔: 松树皮 (V: V=1: 1) 为基质进行移栽, 移栽 60 d 存活率为 83.33%。本研究综合考虑各因素的影响效应, 最终确定了各阶段的最佳培养基配方和炼苗移栽方案, 为双艺金龙标准化生产体系的建立提供参考。

关键词: 杂交兰; 根状茎; 增殖; 分化; 生根壮苗

中图分类号: Q945.5; S682.31 文献标志码: A

Rhizome Proliferation, Differentiation and Strong Seedlings of *Cymbidium* ‘Shuangyi Jinlong’

DENG Shuwen^{1,2}, WU You^{1,2}, ZHANG Huayuan^{1,2}, LI Shixing^{1,2}, LIN Zirun^{1,2}, CHEN Nanchuan³,
FU Chunmei⁴, RAO Xiaoqiong⁴, WU Shasha^{1,2}, ZHAI Junwen^{1,2*}

1. College of Landscape Architecture, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, Fujian 350002, China; 2. Key Laboratory of Orchidaceous Plant Conservation and Utilization, State Forestry and Grassland Administration, Fuzhou, Fujian 350002, China; 3. Fujian Bainong Ecological Technology Co. Ltd., Zhangzhou, Fujian 363599, China; 4. Fujian Liancheng Orchid Co., Ltd., Longyan, Fujian 366211, China

Abstract: *Cymbidium* ‘Shuangyi Jinlong’ is a new variety selected and bred from the clonal variation of the hybrid orchid cultivar ‘Golden dragon’ by Fujian Bainong Ecological Technology Co. Ltd.. It integrates flower and leaf art, has good germination, easy flowering and strong resistance, and has a high market demand. The rhizome and tissue culture seedlings of *Cymbidium* ‘Shuangyi Jinlong’ were used as experimental materials, and the orthogonal experiment was conducted to optimize the influencing factors of rhizome proliferation and differentiation, rooting and seedling growth, seedling cultivation and transplanting, in order to improve the seedling reproductive efficiency and seedling quality of hybrid orchid, and establish a standardized production system. The most suitable medium for rhizome proliferation and

收稿日期 2024-07-27; 修回日期 2024-08-16

基金项目 国家重点研发计划项目 (No. 2020YFD1000400); 福建农林大学植物新资源开发与利用服务团队项目 (No. 11899170124); 福建农林大学 2021 年度乡村振兴服务团队项目 (No. 11899170151)。

作者简介 邓淑雯 (1999—), 女, 硕士研究生, 研究方向: 兰科植物遗传育种。*通信作者 (Corresponding author): 翟俊文 (ZHAI Junwen), E-mail: zhai-jw@163.com。

growth was MS medium supplemented with 1.00 mg/L NAA, 0.10 mg/L 6-BA, 20.00 g/L sucrose, 1.00 g/L activated carbon, 6.30 g/L agar, and 1.00 g/L peptone; the quantity value-added coefficient was determined to be 3.57 while the quality value-added coefficient was found to be 4.63. The optimal medium for rhizome differentiation was 1/2MS, 1.50 mg/L NAA, 0.90 mg/L TDZ, 100.00 g/L banana homogenate, 25.00 g/L sucrose 6.30g/L; the leaf bud differentiation rate reached up to 97.78%, with a differentiation coefficient of 6.87. The best-performing medium for rooting and seedlings strengthening was 1/2MS, 1.00 mg/L IBA, 100.00 g/L banana homogenate, 0.17 g/L KH_2PO_4 , 30.00 g/L sucrose, agar and 1.00 g/L activated carbon. After 90 days of cultivation, the average number of roots per plant was five, with a root length of 5.40 cm, a pseudobulb thickness of 4.35 mm, a plant height of 12.95 cm, and a fresh quality of 2.42 g. The recommended method for transplanting tissue culture seedlings involves using water hyacinth : pine bark ($V : V=1 : 1$) as the transplantation substrate after 21 days in vitro culture. The survival rate after 60 days post-transplantation reached 83.33%. Taking into account the impact of various factors, this study ultimately identified the optimal medium compositions at each stage and refined transplanting schemes. This provides a reference for establishing a standardized production system.

Keywords: *Cymbidium* hybrid; rhizome; proliferation; differentiation; rooting and seedlings strengthening

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2025.01.016

由大花蕙兰 (*Cymbidium hybridum*) 和国兰杂交选育而成的一类兰花统称为杂交兰, 它集成了国兰的幽香、典雅和大花蕙兰的艳丽、健壮^[1]。杂交兰双艺金龙 (*Cymbidium* ‘Shuangyi Jinlong’) 是从杂交兰黄金龙无性系变异单株中选育的叶片中部、边缘至尖端和花瓣、萼片具有黄色斑纹的新品种, 发芽性好, 易开花, 抗性较强, 具有较高市场潜力^[2]。该品种自上市以来广受青睐, 需求日益增加, 但种苗繁殖效率低、品质良莠不齐, 因此该品种的组培快繁体系研究对提高生产效率、构建标准化生产体系具有重要意义。目前已研究该品种栽培技术^[3]和株型控制^[4], 但在优质种苗规模化、标准化生产方面仍存在较多空白, 仍在沿用其他杂交兰品种繁育培养基配方, 尚未研发出有针对性的快繁体系。研究表明, 兰科植物的种类不同, 生长发育各个阶段对营养物质需求不同, 培养基成分和配比上也存在显著差异^[5]。如春兰 (*C. goeringii*)、莲瓣兰 (*C. tortisepalum*)、墨兰 (*C. sinense*)、建兰 (*C. ensifolium*) 4 大类国兰品种根增殖、芽分化、生根壮苗及移栽研究结果显示各品种的快繁体系不尽相同^[6]。因此, 为了达到最佳的组培快繁效果, 应根据具体植物品种调整培养基配方来满足规模化、标准化生产需求。

本研究从产业化角度出发, 以杂交兰双艺金龙为试材, 针对根状茎增殖、芽分化、生根壮苗和炼苗移栽等阶段的关键影响因素, 筛选出组培快繁各阶段的最佳培养基组合, 为杂交兰双艺金龙标准化组培快繁体系的建立及优质种苗工厂化生产提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

以杂交兰双艺金龙为试验材料, 试验材料由福建百秭生态科技有限公司提供。

1.2 方法

1.2.1 根状茎增殖 以双艺金龙叶芽组培快繁诱导出的根状茎为试验材料, 探究以 MS、1/2MS、花宝 2 号 (Hyponex II, N : P : K=20 : 20 : 20, 3.00 g/L) 为基本培养基, 不同浓度的 NAA (1.00、3.00、5.00 mg/L) 和 6-BA (0.10、0.30、0.50 mg/L) 对根状茎增殖的影响, 采用 3 因素 3 水平的正交试验, 参考正交试验表 $L_9(3^4)$, 共 9 个处理, 每个处理 3 瓶, 每瓶接种 10 个长度 0.5~0.8 cm、无侧枝的根状茎, 3 次重复, 共 90 个外植体。此外, 各处理培养基均添加 20.00 g/L 蔗糖+1.00 g/L 活性炭+6.30 g/L 琼脂+1.00 g/L 蛋白胨, 每瓶培养基用量 120 mL, pH 5.7。接种后培养条件: 温度(26 ± 2) $^{\circ}\text{C}$, 相对湿度 70%; 暗处理 30 d 后, 光照培养 1000~1500 lx, 光照时间为 2 h/d。培养 60 d 后统计根状茎的侧枝数量, 使用电子天平称量根状茎质量, 计算数量增殖系数和鲜质量增殖系数^[6-7]。数量增殖系数=根状茎侧枝条数/接种根状茎段数; 鲜质量增殖系数=(增殖后根状茎质量-根状茎接种质量)/根状茎接种质量。

1.2.2 根状茎芽分化 以增殖后的根状茎为试验材料, 对不同浓度的 NAA (0.50、1.50、2.50 mg/L) 和 TDZ (0.10、0.50、0.90 mg/L)、活性炭 (0.00、0.50、1.00 mg/L)、3 种有机添加物 (100.00 mL/L 椰汁、100.00 g/L 香蕉泥、100.00 g/L 土豆泥) 做 4 因素 3 水平正交试验。各处理培养基均以 1/2MS

为基本培养基并添加 25.00 g/L 蔗糖+6.30 g/L 琼脂,其他条件同 1.2.1。培养 60 d 后,统计分化出芽的根状茎数和诱导出芽数,计算根状茎的叶芽分化率、芽诱导系数^[8]。分化率=(分化出芽的根状茎数/根状茎总数)×100%;芽诱导系数=诱导出的芽个数/分化出芽的根状茎数。使用直尺测量芽高。

1.2.3 生根壮苗 以长势一致的 4 cm 组培苗为材料,对植物生长调节剂 IBA (0.50、1.50、2.50 mg/L)、有机添加物 (100.00 mL/L 椰汁、100.00 g/L 香蕉泥、100.00 g/L 土豆泥)、KH₂PO₄ (1/2MS 培养基中 KH₂PO₄ 的浓度倍数为 1、2、3 倍)、蛋白胨 (1.00、2.00、3.00 g/L) 做 4 因素 3 水平正交试验。以 1/2MS 为基本培养基,添加 30.00 g/L 蔗糖+6.30 g/L 琼脂+1.00 g/L 活性炭 (pH 5.70)。每个处理接种 3 瓶,每瓶接种 10 株,3 次重复,共接种 90 株。接种后培养条件:温、湿度同 1.2.1,光照时间为 8 h/d,光照强度 1000~1500 lx。90 d 后每处理随机选择 30 株,在超净工作台中统计生根数,使用直尺测量根长、株高,使用游标卡尺测量假鳞茎厚度,使用电子天平称量植株鲜质量。

1.2.4 炼苗与移栽 为提高组培苗出瓶成活率,选择生根壮苗后长势一致、株高约 12 cm、根数 ≥3 条的组培苗,在炼苗大棚内分别炼苗 7、14、21 d (瓶内栽培 3 d 拧松 1/2 瓶盖,第 6 天完全拧松瓶盖),炼苗结束后将组培苗从瓶中取出,洗净根部培养基,阴干至根部微变白再移栽至以下 3 种基质中:(1)水苔;(2)水苔:松树皮=1:1 (V:V);(3)松树皮:珍珠岩=6:4 (V:V)。共 9 组处理,每组各移栽 20 株,3 次重复,移栽后浇足定根水,保持湿润,适当遮阴,放入大棚培

养。移栽 60 d 后,统计移栽存活数并计算存活率;统计植株展叶数、根数,测量株高、叶宽、假鳞茎厚度并称量鲜质量。存活率=(移栽存活的植株数/移栽植株的总数)×100%。

1.3 数据处理

利用 Excel 2007 软件进行数据统计和极差分析;用 SPSS 25.0 软件进行方差分析,用 Duncan 法进行事后多重比较判断处理间的差异显著性,用主体间效应检验计算各因素对有关指标的影响效应。

2 结果与分析

2.1 基本培养基、NAA、6-BA 对根状茎增殖的影响

T₁ 根状茎数量增殖系数为 3.57±0.13,显著高于其他处理;T₉ 根状茎鲜质量增殖系数较高,为 5.86±0.30,但与 T₁、T₈ 差异不显著 (表 1)。以 MS 为基本培养基的 T₁、T₂、T₃ 和以花宝 2 号为基本培养基的 T₇、T₈、T₉,根状茎增殖效果显著优于以 1/2MS 为基本培养基的 T₄、T₅、T₆ (图 1)。综合分析,T₁ 的根状茎数量增殖系数和鲜质量增殖系数的效果整体较好。

由表 2 可知,基本培养基对根状茎增殖起主要作用,MS 培养基和花宝 2 号对根状茎的增殖效果显著优于 1/2MS 培养基;根状茎的数量增殖系数随着 NAA 浓度增加而先增加后减少,但不存在显著差异。主体间效应检验得出:仅基本培养基对根状茎数量和鲜质量增殖系数影响极显著,各因素对根状茎数量和鲜质量增殖系数影响效应排序结果一致 (基本培养基>NAA>6-BA)。

表 1 基本培养基、NAA、6-BA 对根状茎增殖的影响
Tab. 1 Effects of basic medium, NAA and 6-BA on rhizome proliferation

处理 Treatment	基本培养基 Basic culture medium	NAA /(mg·L ⁻¹)	6-BA /(mg·L ⁻¹)	数量增殖系数 Quantity multiplication coefficient	鲜质量增殖系数 Fresh quality multiplication coefficient
T ₁	MS	1	0.1	3.57±0.13 ^a	4.63±1.16 ^{abc}
T ₂	MS	3	0.3	2.77±0.06 ^d	3.50±0.34 ^c
T ₃	MS	5	0.5	3.18±0.11 ^{bc}	4.50±1.13 ^{abc}
T ₄	1/2MS	1	0.3	1.62±0.18 ^f	1.08±0.31 ^d
T ₅	1/2MS	3	0.5	1.98±0.03 ^e	4.02±0.96 ^{bc}
T ₆	1/2MS	5	0.1	1.77±0.08 ^{ef}	2.09±0.39 ^d
T ₇	3 g/L 花宝 2 号	1	0.5	3.23±0.08 ^b	4.14±1.01 ^{bc}
T ₈	3 g/L 花宝 2 号	3	0.1	2.90±0.18 ^{cd}	5.05±0.32 ^{ab}
T ₉	3 g/L 花宝 2 号	5	0.3	3.26±0.42 ^b	5.86±0.30 ^a

注:同列不同小写字母表示处理间差异显著 (P<0.05)。
Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant difference (P<0.05).

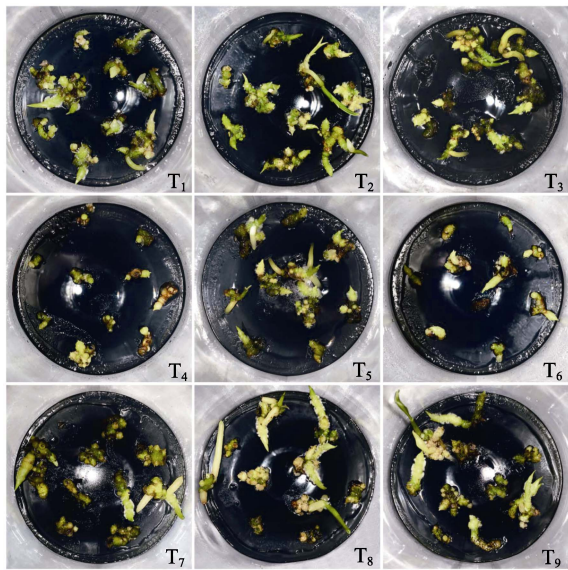


图 1 杂交兰双艺金龙根状茎增殖 60 d 后生长情况
Fig. 1 Growth of rhizomes of *Cymbidium* ‘Shuangyi Jinlong’ after 60 days of proliferation

2.2 NAA、TDZ、活性炭、有机添加物对根状茎芽分化的影响

活性炭浓度越高褐化程度越轻，活性炭浓度设置最高的 D₃、D₅、D₇，芽分化生长较健壮，叶芽较高，且根系粗壮。统计分析各指标，D₁、D₆ 的根状茎分化率较高，达(97.78±1.92)%，其次为 D₈、D₇；D₆ 的芽分化系数为 6.87±0.39，显著高于其他处理组；D₅、D₈、D₉ 分化芽生长较好，芽高显著高于其他处理（表 3）。综合分析，D₆ 根状茎分化芽的分化率、芽分化系数、芽生长高度总体较好。经根状茎芽分化试验培养后，所有处理均未出现芽变现象（分化芽白化或叶艺缺失的返祖现象），芽分化显著较多的是 D₆ 和 D₈，但出现了部分褐化现象（图 2）。经观察，处理 D₆ 培养基继续培养 15 d 可进入生根壮苗培养阶段。

由表 4 可知，活性炭对芽分化系数和芽高生长影响较大，添加活性炭会抑制芽分化系数，

表 2 基本培养基、NAA、6-BA 对根状茎增殖影响的极差分析及方差分析

Tab. 2 Range analysis and variance analysis of the effects of basal medium, NAA and 6-BA on rhizome proliferation

指标 Index	因素 Factor	K ₁	K ₂	K ₃	R	F
数量增殖系数	基本培养基	3.17 ^a	1.79 ^b	3.13 ^a	1.38	83.15 ^{**}
	NAA	2.81 ^a	2.55 ^a	2.74 ^a	0.26	2.40
	6-BA	2.75 ^a	2.55 ^a	2.80 ^a	0.25	2.33
质量增殖系数	基本培养基	4.21 ^a	2.40 ^b	5.02 ^a	2.62	13.96 ^{**}
	NAA	3.28 ^a	4.19 ^a	4.15 ^a	0.91	2.05
	6-BA	3.92 ^a	3.48 ^a	4.22 ^a	0.74	1.07

注：K₁、K₂、K₃代表各试验因素的 3 个水平，R 为极差值，F 为主体间效应检验结果的 F 值；同行不同小写字母表示差异显著（P<0.05）；**表示差异极显著（P<0.01）。

Note: K₁, K₂, K₃ represent the 3 levels of each experimental factor, R is the range value, and F is the F-value of the inter-subject effect test results; Different lowercase letters in the same row indicate significant difference (P<0.05); ** represents extremely significant difference (P<0.01).

表 3 NAA、TDZ、活性炭、有机添加物对根状茎芽分化的影响

Tab. 3 Effect of NAA, TDZ, activated charcoal and organic additives on rhizome bud differentiation

处理 Treatment	NAA /(mg·L ⁻¹)	TDZ /(mg·L ⁻¹)	活性炭 Activated carbon /(g·L ⁻¹)	有机添加物 Organic additive	分化率 Differentiation rate/%	芽分化系数 Budinduction coefficient	芽高 Bud height/cm
D ₁	0.50	0.10	0.00	100.00 mL/L 椰汁	97.78±1.92 ^a	3.80±0.06 ^c	0.75±0.01 ^c
D ₂	0.50	0.50	0.50	100.00 g/L 香蕉泥	85.56±5.09 ^{bc}	1.71±0.06 ^{ef}	0.96±0.04 ^b
D ₃	0.50	0.90	1.00	100.00 g/L 土豆泥	37.78±7.70 ^e	1.06±0.06 ^g	0.88±0.01 ^{bc}
D ₄	1.50	0.10	0.50	100.00 g/L 土豆泥	56.67±3.33 ^d	1.13±0.12 ^g	0.97±0.03 ^b
D ₅	1.50	0.50	1.00	100.00 mL/L 椰汁	88.33±6.01 ^b	2.15±0.09 ^d	1.31±0.05 ^a
D ₆	1.50	0.90	0.00	100.00 g/L 香蕉泥	97.78±1.92 ^a	6.87±0.39 ^a	0.84±0.17 ^{bc}
D ₇	2.50	0.10	1.00	100.00 g/L 香蕉泥	93.33±3.33 ^{ab}	2.04±0.11 ^{de}	1.20±0.15 ^a
D ₈	2.50	0.50	0.00	100.00 g/L 土豆泥	97.65±2.04 ^a	5.25±0.35 ^b	0.77±0.09 ^c
D ₉	2.50	0.90	0.50	100.00 mL/L 椰汁	79.49±4.11 ^c	1.52±0.14 ^f	1.17±0.06 ^a

注：同列不同小写字母表示处理间差异显著（P<0.05）。
Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant difference (P<0.05).

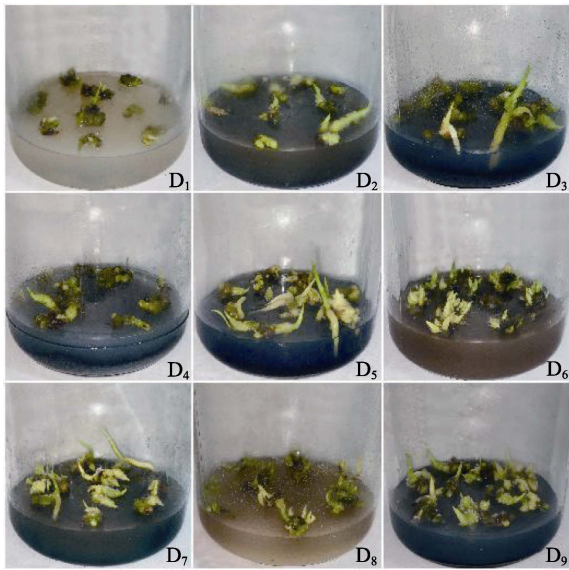


图 2 杂交兰双艺金龙根状茎培养 60 d 后芽分化情况

Fig. 2 Bud differentiation of *Cymbidium* ‘Shuangyi Jinlong’ after 60 days of rhizomes culture

但有利于芽高生长；有机添加物种类对分化率影响较大，100.00 g/L 土豆泥的影响作用均显著低于香蕉泥，100.00 g/L 香蕉泥对根状茎的芽分化系数有显著促进作用，100.00 mL/L 椰汁对芽高生长的促进作用优于香蕉泥但不显著（表 4）。主体间效应检验结果显示：除 TDZ 对芽高影响不显著，其他试验因素对分化率、芽分化系数、芽高

的影响皆表现极显著；分化率和芽高的影响效应排序与极差 *R* 值排序结果一致。而对于芽分化系数的影响效应为：活性炭>有机添加物>NAA>TDZ。

2.3 IBA、有机添加物、KH₂PO₄、蛋白胨对组培苗生根壮苗的影响

R₅、R₈ 根部生长状态总体较好，这 2 组处理的生根数显著高于其他处理，分别为(5.12±0.06)、(5.08±0.08)条（表 5）；组培苗的生根壮苗效果显著（图 3）。对应极差分析显示有机添加物对生根影响较大，100.00 g/L 香蕉泥对该品种的生根数有显著促进作用（表 6）。而 100.00 mL/L 椰汁则对根长有较大的促进作用，R₇ 的生根数(2.13±0.08)较少，但其根长(6.25±0.12)cm 显著较长。R₅ 假鳞茎较厚，为(4.35±0.06)mm，显著高于 R₁、R₂、R₉；1.00 mg/L IBA 和 3 倍 KH₂PO₄ 浓度的 1/2MS 培养基较利于假鳞茎的生长。R₇ 株高为(13.75±0.20)cm 显著高于其他处理，2.00 g/L 蛋白胨最能促进株高生长。R₅ 鲜质量为(2.42±0.02)g 显著较重，100.00 g/L 香蕉泥有助于植株生长、增加鲜质量。综合分析，达到生根壮苗效果较好的培养基是 R₅。

此外，方差分析主体间效应检验结果 *F* 值得出，除有机添加物对植株假鳞茎厚度影响不显著和蛋白胨对假鳞茎厚度和鲜质量影响显著外，各因素相对各检测指标影响表现出极显著结果；其中有机添加物对植株生根数、根长、鲜质量的影

表 4 NAA、TDZ、活性炭、有机添加物对根状茎芽分化影响的极差分析及方差分析

Tab. 4 Range analysis and variance analysis of effects of NAA, TDZ, activated carbon and organic additives on rhizome bud differentiation

指标 Index	因素 Factor	K ₁	K ₂	K ₃	R	F
分化率	NAA	0.74 ^c	0.81 ^b	0.90 ^a	0.16	32.04 ^{**}
	TDZ	0.82 ^b	0.91 ^a	0.72 ^c	0.19	42.10 ^{**}
	活性炭	0.98 ^a	0.74 ^b	0.73 ^b	0.25	92.07 ^{**}
	有机添加物	0.89 ^a	0.92 ^a	0.64 ^b	0.28	110.55 ^{**}
分化系数	NAA	2.19 ^c	3.38 ^a	2.93 ^b	1.19	87.51 ^{**}
	TDZ	2.33 ^b	3.04 ^a	3.15 ^a	0.82	48.34 ^{**}
	活性炭	5.31 ^a	1.45 ^c	1.75 ^b	3.86	1109.20 ^{**}
	有机添加物	2.49 ^b	3.54 ^a	2.48 ^b	1.06	89.53 ^{**}
芽高	NAA	0.86 ^b	1.04 ^a	1.04 ^a	0.18	12.78 ^{**}
	TDZ	0.97 ^a	1.01 ^a	0.97 ^a	0.04	0.73 [*]
	活性炭	0.79 ^c	1.03 ^b	1.13 ^a	0.34	37.45 ^{**}
	有机添加物	1.08 ^a	1.00 ^a	0.87 ^b	0.21	12.96 ^{**}

注：K₁、K₂、K₃ 代表各试验因素的 3 个水平，*R* 为极差值，*F* 为主体间效应检验结果的 *F* 值；同行不同小写字母表示差异显著（*P*<0.05）；^{*}表示差异显著（*P*<0.05），^{**}表示差异极显著（*P*<0.01）。

Note: K₁, K₂, K₃ represent the 3 levels of each experimental factor, *R* is the range value, and *F* is the *F*-value of the inter-subject effect test results; Different lowercase letters in the same row indicate significant difference (*P*<0.05); ^{*} represents significant difference (*P*<0.05), and ^{**} represents extremely significant difference (*P*<0.01).

表 5 IBA、有机添加物、KH₂PO₄、蛋白胨对组培苗生根壮苗的影响

Tab. 5 Effect of IBA, organic amendments, KH₂PO₄ and peptone on rooting and strengthening of histocultured seedlings

处理 Treatment	IBA /(mg·L ⁻¹)	有机添加物 Organic additive	KH ₂ PO ₄ /multiple	蛋白胨 Peptone /(g·L ⁻¹)	生根数 Rooting number	根长 Root length /cm	假鳞茎厚度 Pseudobulb thickness/mm	株高 Plant height/cm	鲜质量 Fresh qual- ity/g
R ₁	0.50	100.00 mL/L 椰汁	1	1.00	3.10±0.18 ^c	5.30±0.13 ^{bc}	3.81±0.05 ^{cd}	11.95±0.22 ^c	1.49±0.04 ^d
R ₂	0.50	100.00 g/L 香蕉泥	2	2.00	3.65±0.05 ^b	5.33±0.15 ^{bc}	3.58±0.10 ^d	12.27±0.36 ^c	1.62±0.04 ^c
R ₃	0.50	100.00 g/L 土豆泥	3	3.00	2.58±0.03 ^d	4.02±0.12 ^e	4.10±0.22 ^{ab}	11.31±0.16 ^d	1.28±0.03 ^e
R ₄	1.00	100.00 mL/L 椰汁	2	3.00	3.06±0.19 ^c	4.89±0.13 ^d	4.25±0.10 ^a	12.25±0.23 ^c	1.60±0.07 ^{cd}
R ₅	1.00	100.00 g/L 香蕉泥	3	1.00	5.12±0.06 ^a	5.40±0.12 ^b	4.35±0.06 ^a	12.95±0.11 ^b	2.42±0.02 ^a
R ₆	1.00	100.00 g/L 土豆泥	1	2.00	2.63±0.16 ^d	4.05±0.12 ^e	4.16±0.18 ^{ab}	12.66±0.28 ^b	1.56±0.12 ^{cd}
R ₇	1.50	100.00 mL/L 椰汁	3	2.00	2.13±0.08 ^e	6.25±0.12 ^a	4.23±0.13 ^a	13.75±0.20 ^a	1.66±0.06 ^c
R ₈	1.50	100.00 g/L 香蕉泥	1	3.00	5.08±0.08 ^a	5.14±0.07 ^c	4.15±0.10 ^{ab}	11.05±0.13 ^d	2.02±0.03 ^b
R ₉	1.50	100.00 g/L 土豆泥	2	1.00	2.57±0.10 ^d	3.89±0.15 ^e	3.91±0.18 ^{bc}	11.12±0.25 ^d	1.25±0.05 ^e

注：同列不同小写字母表示处理间差异显著（ $P<0.05$ ）。

Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant difference ($P<0.05$).



图 3 杂交兰双艺金龙组培苗生根壮苗培养 90 d 后的生长情况

Fig. 3 Growth of *Cymbidium* ‘Shuangyi Jinlong’ tissue culture seedlings after 90 days of rooting and strong growth

响最强，IBA 对假鳞茎厚度的影响最强，蛋白胨对株高的影响最强（表 6）。

2.4 炼苗时间及移栽基质对组培苗移栽的影响

炼苗移栽 Y₅ 的存活率最高，为(93.33±5.77)%，即炼苗 14 d 后使用水苔：松树皮（1：1）进行移栽（表 7）。当炼苗天数相同时，水苔：松树皮（1：1）相对另外 2 种移栽基质的存活率高，均在 80%以上；经观察，水苔种植的多为烂根而死；而以松树皮：珍珠岩（6：4）为移栽基质的未存活植株根部出现皱缩现象，植株失水导致死亡。通过松树皮：珍珠岩（6：4）的移栽结果看出，炼苗时间对移栽存活率有显著影响，炼苗 14 d 比 7 d 的存活率提高了 31%。

除了存活率不同，各处理间植株生长状态也存在明显差异，Y₁ 的移栽苗与出瓶时生长状态基本一致；而 Y₂、Y₄、Y₇、Y₈ 的移栽苗生长状况

良好，植株相对健壮（图 4）。统计其生长指标发现，Y₄ 株高较高，为(19.00±1.61)cm，显著高于 Y₁、Y₃，说明水苔相比松树皮：珍珠岩（6：4）作为移栽基质及炼苗时间为 14 d 较适宜移栽苗的生长；而相同移栽基质中，炼苗 14 d 和 21 d 的株高无显著性差异，说明炼苗时间过长会限制植株生长（图 5）。各处理展叶数多在 6 片左右，Y₆ 展叶数显著多于 Y₃、Y₉，移栽松树皮：珍珠岩（6：4）的炼苗 14 d 处理组展叶较多。Y₇ 的叶宽最佳，为(11.18±1.24)mm，水苔能明显促进叶片宽度延展。生根情况较好的是 Y₆、Y₇、Y₈，生根数显著多于其他处理组。Y₇、Y₈ 的假鳞茎厚度显著较高，分别为(6.44±0.30)、(6.28±0.45)mm。Y₇ 的鲜质量最重，为(7.77±1.11)g，可以看出水苔的保水能力有助于鲜质量增加。

综上所述，在杂交兰炼苗移栽环节，以保证存活率为前提，综合移栽后的生长状态，Y₈ 作为组培苗移栽方案较为合适。

3 讨论

3.1 杂交兰根状茎增殖的影响因素

适于兰科植物的基本培养基有 MS、1/2MS、KC、VW、PM、速效复合肥（如花宝 1 号、花宝 2 号）及一些与之对应的改良培养基^[9-10]。品种、发育阶段和培养目标的不同，对基本培养基的需求也不同。研究表明，MS 培养基有助于杂交兰双艺金龙根状茎分枝增殖，花宝 2 号更有利于根状茎营养生长，而 1/2MS 培养基则对根状茎增殖阶段影响较小；就成分差异而言，1/2MS

表 6 IBA、有机添加物、KH₂PO₄、蛋白胨对组培苗生根壮苗影响的极差分析及方差分析
Tab. 6 Range analysis and variance analysis of effects of IBA, organic additives, KH₂PO₄ and peptone on rooting and strengthening seedlings

指标 Index	因素 Factor	K ₁	K ₂	K ₃	R	F
生根数	IBA	3.11 ^c	3.60 ^a	3.26 ^b	0.49	41.69 ^{**}
	有机添加物	2.76 ^b	4.62 ^a	2.59 ^c	2.02	828.96 ^{**}
	KH ₂ PO ₄	3.61 ^a	3.09 ^c	3.28 ^b	0.51	44.76 ^{**}
	蛋白胨	3.60 ^a	2.81 ^b	3.57 ^a	0.79	133.44 ^{**}
根长	IBA	4.88 ^b	4.78 ^b	5.09 ^a	0.31	14.14 ^{**}
	有机添加物	5.48 ^a	5.29 ^b	3.99 ^c	1.49	381.60 ^{**}
	KH ₂ PO ₄	4.83 ^b	4.70 ^c	5.22 ^a	0.52	42.40 ^{**}
	蛋白胨	4.86 ^b	5.21 ^a	4.68 ^c	0.53	41.28 ^{**}
假鳞茎厚度	IBA	3.83 ^c	4.26 ^a	4.10 ^b	0.43	22.41 ^{**}
	有机添加物	4.10 ^a	4.03 ^a	4.06 ^a	0.07	0.60
	KH ₂ PO ₄	4.04 ^b	3.91 ^b	4.23 ^a	0.31	12.08 ^{**}
	蛋白胨	4.02 ^b	3.99 ^b	4.17 ^a	0.18	4.22 [*]
株高	IBA	11.84 ^b	12.62 ^a	11.97 ^b	0.78	30.21 ^{**}
	有机添加物	12.65 ^a	12.09 ^b	11.70 ^c	0.95	39.80 ^{**}
	KH ₂ PO ₄	11.89 ^b	11.88 ^b	12.67 ^a	0.79	36.02 ^{**}
	蛋白胨	12.01 ^b	12.89 ^a	11.54 ^c	1.36	82.25 ^{**}
鲜质量	IBA	1.46 ^c	1.86 ^a	1.64 ^b	0.40	99.88 ^{**}
	有机添加物	1.58 ^b	2.02 ^a	1.36 ^c	0.66	287.36 ^{**}
	KH ₂ PO ₄	1.69 ^b	1.49 ^c	1.78 ^a	0.29	57.27 ^{**}
	蛋白胨	1.72 ^a	1.61 ^b	1.63 ^b	0.11	8.83 [*]

注：K₁、K₂、K₃代表各试验因素的 3 个水平，R 为极差值，F 为主体间效应检验结果的 F 值；同行不同小写字母表示差异显著（P<0.05）；*表示差异显著（P<0.05），**表示差异极显著（P<0.01）。

Note: K₁, K₂, K₃ represent the 3 levels of each experimental factor, R is the range value, and F is the F-value of the inter-subject effect test results; Different lowercase letters in the same row indicate significant difference (P<0.05); * represents significant difference (P<0.05), and ** represents extremely significant difference (P<0.01).

表 7 炼苗时间及移栽基质对组培苗移栽存活率的影响
Tab. 7 Effect of refined seedling time and transplanting substrate on transplanting viability of tissue culture seedlings

处理 Treatment	炼苗时间 Templing time/d	移栽基质 Transplanting medium	存活率 Survival rate/%
Y ₁	7	水苔	71.67±2.89 ^c
Y ₂	7	水苔：松树皮（1：1）	90.00±5.00 ^{ab}
Y ₃	7	松树皮：珍珠岩（6：4）	45.00±8.66 ^d
Y ₄	14	水苔	75.00±5.00 ^c
Y ₅	14	水苔：松树皮（1：1）	93.33±5.77 ^a
Y ₆	14	松树皮：珍珠岩（6：4）	76.67±7.64 ^c
Y ₇	21	水苔	78.33±2.89 ^{bc}
Y ₈	21	水苔：松树皮（1：1）	83.33±7.64 ^{abc}
Y ₉	21	松树皮：珍珠岩（6：4）	80.00±8.66 ^{bc}

注：同列不同小写字母表示处理间差异显著（P<0.05）。

Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant difference (P<0.05).

培养基为 MS 培养基的大量元素减半，花宝 2 号的 P、K 含量高于 MS 培养基，说明杂交兰双艺

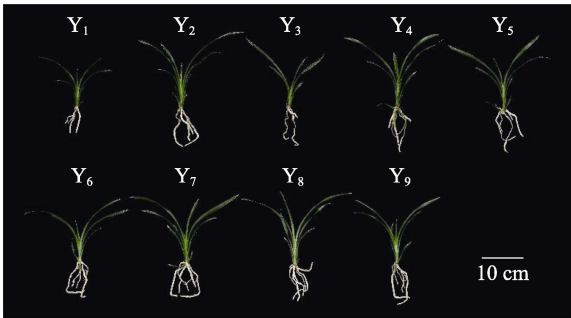
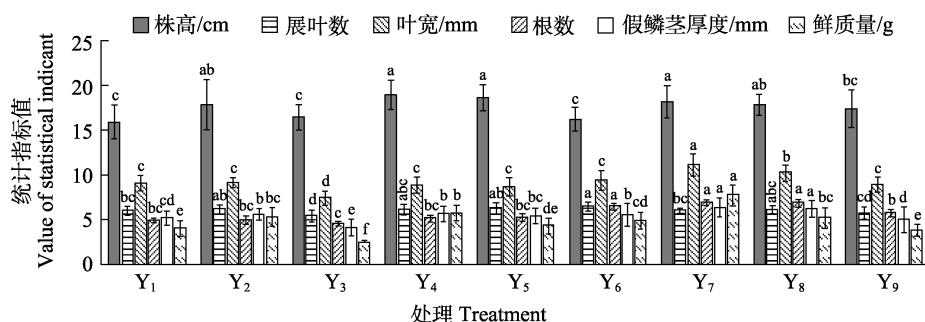


图 4 杂交兰双艺金龙组培苗炼苗移栽培养 60 d 后的生长情况

Fig. 4 Growth of *Cymbidium* ‘Shuangyi Jinlong’ tissue culture seedlings after 60 days of transplantation and cultivation

金龙对无机盐浓度需求较高，P、K 无机盐可促进其根状茎的生长。此外，生长素 NAA 能明显促进兰科植物根状茎增殖和生长，添加细胞分裂素 6-BA 能促进侧枝生长^[11]。因此在本研究中选择高浓度的 NAA 和低浓度的 6-BA 进行根状茎增殖培养试验，但结果显示相比于基本培养基种类，



不同小写字母表示同一指标不同处理间差异显著 ($P < 0.05$)。

Different lowercase letters indicate significant difference between different treatments in the same indicator ($P < 0.05$).

图 5 炼苗时间及移栽基质对组培苗移栽生长的影响

Fig. 5 Effect of seedling refining time and transplanting substrate on growth of transplanted histocultured seedlings

它们对杂交兰双艺金龙的根状茎增殖影响不显著, 其中细胞分裂素 6-BA 浓度的影响效应最小, 这一结论与杂交兰红美人 (*C. 'Hong Mei Ren'*) × 寒兰杨贵妃 (*C. kanran 'Yang Gui Fei'*) 杂交后代增殖^[12]的研究结果一致。

3.2 杂交兰根状茎芽分化的影响因素

生长素和细胞分裂素之间的相互作用调控一些重要的发育过程, 如植物体所必需的分生组织的形成和维持^[13]。本研究选择不同浓度的生长素 NAA 和细胞分裂素 TDZ 进行试验, NAA 和 TDZ 对杂交兰双艺金龙的根状茎芽分化率和分化系数均有显著影响。但在芽高生长方面, NAA 有较高的影响效应, 说明 NAA 在植株形态增长上有更明显的促进作用^[14]。观察芽分化情况的同时发现不同程度的褐化情况, 活性炭浓度的增加可减轻褐化, 这是由于活性物质具有丰富的孔隙网络吸附物质, 不可逆吸附培养基中的抑制性化合物, 减少了有毒代谢物和酚类渗出物积累^[15]。同时, 活性炭使培养基为根系提供黑暗环境促进植物极性发生, 有利于其正常生长^[16], 但活性物质也会吸附营养物质, 从而限制植物养分吸收。本研究也证明了这一观点, 活性炭浓度与根状茎分化率和芽分化系数成反比, 与芽高成正比。因此在保证芽分化效果最佳的前提下, 若要使芽高生长可增加暗环境处理或适量增加环境温度代替活性炭作用, 促使分化芽快速生长。此外, 在培养基中添加的有机添加物是维生素、氨基酸、脂肪酸、碳水化合物和矿物质等营养物质的来源^[17]。研究表明 80.00 g/L 香蕉泥有利于玉兔兰玉香兰 (*C. Jade Hare 'Yuxiang'*) 芽分化^[18]; 100.00 mL/L 椰汁有利于杂交墨兰芽分化^[7]。本研究表明 100.00 g/L 香蕉泥更有利于杂交兰根状茎的芽分化。

3.3 杂交兰组培苗生根壮苗的影响因素

杂交兰组培苗的生根壮苗可以从生根数、根长、假鳞茎厚度、株高、鲜质量等形态指标直观体现。本研究显示 1.00 mg/L IBA 对各指标的影响最佳, 说明适量的 IBA 能促进双艺金龙组培苗生根壮苗。杂交兰 K6 生根壮苗研究同样表明过高或过低的 IBA 浓度均对其组培苗生长起到抑制作用, 0.50 mg/L IBA 更适于 K6 的生根壮苗^[19]。栽培研究表明以 KH_2PO_4 为主的磷钾肥可以促进兰花根系生长和假鳞茎发育, 提高抗逆性^[20]。因此本研究在 MS 培养基原有的基础上提高 KH_2PO_4 含量, 结果显示使用 3 倍的 KH_2PO_4 浓度对杂交兰组培苗的根长、假鳞茎厚度、株高、鲜质量均有明显促进作用。在组培中可加入土豆泥、香蕉泥、椰汁等植物有机物, 也可加入蛋白胨、酵母提取物等人工提取物^[21], 这两类同时添加可促进假鳞茎膨大和试管苗增殖^[22]。本研究结果显示植物有机添加物均对双艺金龙生根壮苗的生根数、根长、鲜质量具有极显著影响, 而人工提取物蛋白胨则对株高具有极显著影响, 添加 100.00 g/L 香蕉泥和 1.00 g/L 蛋白胨共同作用最有利于组培苗的生根壮苗。此外, IBA、 KH_2PO_4 、蛋白胨的含量对生根壮苗各指标的影响表现显著或极显著, 唯有有机添加物对假鳞茎厚度表现出不显著。这个现象在兰科其他属植物中也有相似的结果, 如香蕉泥、椰汁对蜻蜓石斛 (*Dendrobium pulchellum*) 的茎粗生长影响较小^[23], 但其原因有待研究。

3.4 炼苗时间及移栽基质对杂交兰组培苗移栽的影响

炼苗移栽是植物从组培室到室外成功移植的重要过程^[24]。本研究认为炼苗时间及移栽基质均

是组培苗移栽的关键影响因素, 延长炼苗时间至 21 d 并使用水苔: 松树皮 (1:1) 为移栽基质可显著提高组培苗的移栽存活率并保持良好的生长状态。在移栽基质的相关研究中显示, 疏松透气且保水能力好的基质有利于小苗的生长^[25]。本研究同样体现这一结论, 纯水苔基质的保水能力较强, 透气性较弱, 不利于移栽植株的根部生长; 而以松树皮: 珍珠岩 (6:4) 为移栽基质的透气性较强, 难以保湿。水苔: 松树皮 (1:1) 的移栽基质综合二者保水透气性能且能保证植株的养分供给, 因此该基质移栽的组培苗存活率及生长状态较好。

4 结论

本研究通过正交试验对杂交兰双艺金龙组培快繁各阶段的培养基成分进行研究, 分析各类培养基成分对根状茎及组培苗生长的影响, 筛选各阶段最适培养基, 同时探究炼苗时间及移栽基质的最佳方案。

(1) 基本培养基是杂交兰双艺金龙根状茎增殖的重要影响因素。根状茎增殖的最适培养基为 MS+1.00 mg/L NAA+0.10 mg/L 6-BA+20.00 g/L 蔗糖+1.00 g/L 活性炭+6.30 g/L 琼脂+1.00 g/L 蛋白胨。

(2) NAA、TDZ、活性炭、有机添加物对根状茎的芽分化和生长均有显著影响, 其中活性炭会显著抑制芽分化, 因此 1/2MS+1.50 mg/L NAA+0.90 mg/L TDZ+100.00 g/L 香蕉泥+25.00 g/L 蔗糖+6.30 g/L 琼脂的芽分化培养基对根状茎芽分化效果最好。

(3) 生根壮苗效果较好的培养基是 1/2MS+1.00 mg/L IBA+100.00 g/L 香蕉泥+0.17 g/L KH_2PO_4 +1.00 g/L 蛋白胨+30.00 g/L 蔗糖+6.30 g/L 琼脂+1.00 g/L 活性炭。

(4) 双艺金龙组培苗炼苗 21 d 后移栽在水苔: 松树皮 (V:V=1:1) 基质中效果最好。

参考文献

- [1] LI C, DONG N, ZHAO Y, WU S, LIU Z, ZHAI J. A review for the breeding of orchids: current achievements and prospects[J]. Horticultural Plant Journal, 2021, 7(5): 380-392.
- [2] 陈南川, 陈少云, 陈南东, 林兵, 钟淮钦. 杂交兰新品种‘双艺金龙’[J]. 园艺学报, 2020, 47(增刊): 3054-3055.
- [3] 张小滨, 诏安县杂交兰‘双艺金龙’栽培技术研究[J]. 林业勘察设计, 2022, 42(4): 49-52.
- [4] 林榕燕, 林兵, 孔兰, 吴建设, 钟淮钦. 植物生长调节剂对杂交兰‘双艺金龙’株型控制的影响[J]. 东南园艺, 2023, 11(1): 18-23.
- [5] 刘幸佳. 几种国兰组织培养及春兰菌根真菌研究[D]. 杭州: 浙江农林大学, 2013.
- [6] 曾文静. 几种国兰组织培养技术研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2019.
- [7] 谢娟, 李龙, 邢玥, 翁青史, 樊晚林, 彭东辉. 墨兰‘吴字翠’×墨兰‘红花’杂交后代根状茎增殖及芽分化研究[J]. 热带作物学报, 2020, 41(5): 985-993.
- [8] 刘舒雅, 谢娟, 孙佳婷, 周小琴, 陈云, 郝杨, 陈进燎, 彭东辉. 墨兰‘吴字翠’×墨兰‘红花’杂交后代根状茎增殖与分化[J]. 分子植物育种, 2023, 21(12): 3986-3992.
- [9] HOSSAIN M M, SHARMA M, TEIXEIRA DA SILVA J A, PATHAK P. Seed germination and tissue culture of *Cymbidium giganteum* Wall. ex Lindl.[J]. Scientia Horticulturae, 2010, 123(4): 479-487.
- [10] ZAHARA M, DATTA A, BOONKORKAEW P. Effects of sucrose, carrot juice and culture media on growth and net CO_2 exchange rate in *Phalaenopsis* hybrid ‘Pink’[J]. Scientia Acta Horticulturae Sinica, 2020, 47(Suppl.): 3054-3055. (in Chinese)
- [11] ZHANG X B. Research on the cultivation technology of hybrid *Cymbidium* ‘Shuangyi Jinlong’ in Zhao’an county[J]. Forestry Prospect and Design, 2022, 42(4): 49-52. (in Chinese)
- [12] LIN R Y, LIN B, KONG L, WU J S, ZHONG H Q. Effects of different plant growth regulators on plant type control of hybrid *Cymbidium* ‘Shuangyi Jinlong’[J]. Southeast Horticulture, 2023, 11(1): 18-23. (in Chinese)
- [13] LIU J X. Study on several *Cymbidium* plants tissue culture and *Cymbidium goeringii* mycorrhizal fungi[D]. Hangzhou: Zhejiang A & F University, 2013. (in Chinese)
- [14] ZENG W J. Studies on tissue culture of several Chinese *Cymbidiums*[D]. Beijing: Beijing Forestry University, 2019. (in Chinese)
- [15] XIE J, LI L, XING Y, WENG Q S, FAN W L, PENG D H. Rhizome proliferation and bud differentiation of *Cymbidium sinense* ‘Wuzicui’×*C. sinense* ‘Honghua’ hybrid[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2020, 41(5): 985-993. (in Chinese)
- [16] LIU S Y, XIE J, SUN J T, ZHOU X Q, CHEN Y, HAO Y, CHEN J L, PENG D H. Research on the rhizome proliferation and bud differentiation of hybrid *Cymbidium sinense*[J]. Molecular Plant Breeding, 2023, 21(12): 3986-3992. (in Chinese)

- Horticulturae, 2016, 205: 17-24.
- [11] PENG M, CHEN R, WEI Q, GUO H, ZENG R, XIE L, ZHANG Z, CHEN J. Effects of genotype, light, and plant growth regulators on rhizome browning, proliferation, and sprouting in *Cymbidium*[J]. Hortscience, 2023, 58(6): 671-676.
- [12] 杨松敏, 唐若楠, 程梦雅, 牛沐奇, 陈和明, 彭东辉. 杂交兰‘红美人’×寒兰‘杨贵妃’杂交后代增殖与分化研究[J]. 北方园艺, 2023(14): 63-70.
- YANG S M, TANG R N, CHENG M Y, NIU M Q, CHEN H M, PENG D H. Study on the proliferation and differentiation of rhizomes in the hybrid progeny of hybrid orchid ‘Hongmeiren’×*Cymbidium kanran* ‘Yangguifei’[J]. Northern Horticulture, 2023(14): 63-70. (in Chinese)
- [13] SU Y H, LIU Y B, ZHANG X S. Auxin-cytokinin interaction regulates meristem development[J]. Molecular Plant, 2011, 4(4): 616-625.
- [14] NOVAK S D, LUNA L J, GAMAGE R N. Role of auxin in orchid development[J]. Plant Signaling & Behavior, 2014, 9(10): e972277.
- [15] PAN M J, STADEN J VAN. The use of charcoal in *in vitro* culture-a review[J]. Plant Growth Regulation, 1998, 26(3): 155-163.
- [16] THOMAS T D. The role of activated charcoal in plant tissue culture[J]. Biotechnology Advances, 2008, 26(6): 618-631.
- [17] STEFANO D D, COSTA B N, DOWNING J, FALLAHI E, KHODDAMZADEH A. *In-vitro* micropropagation and acclimatization of an endangered native orchid using organic supplements[J]. American Journal of Plant Sciences, 2022, 13: 380-393.
- [18] 徐礼谱. 玉兔兰组培快繁技术研究[D]. 广州: 华南农业大学, 2018.
- XU L P. Study on micropropagation technology of *Cymbidium* Jade Hare[D]. Guangzhou: South China Agricultural University, 2018. (in Chinese)
- [19] 姚金澳, 王旭承, 唐徐玮, 崔永一. 杂交兰组织培养与快速繁殖技术的分析[J]. 分子植物育种, 2021, 19(3): 929-936.
- YAO J A, WANG X C, TANG X W, CUI Y Y. Analysis of tissue culture and rapid propagation technology of *Cymbidium* hybrid[J]. Molecular Plant Breeding, 2021, 19(3): 929-936. (in Chinese)
- [20] 赵小鸽. ‘小凤兰’和‘玉女兰’栽培技术研究[D]. 广州: 华南农业大学, 2018.
- ZHAO X G. Factors influencing growth of hybrid *Cymbidium* ‘Xiaofeng’ and ‘Yunv’[D]. Guangzhou: South China Agricultural University, 2018. (in Chinese)
- [21] MOMTAJ S, SUSHMA, KAUR S. Role of organic growth supplement *in vitro* multiplication of orchid species-a review[J]. Journal of Pharmaceutical Research International, 2021, 33(52B): 212-215.
- [22] KAUR S, BHUTANI K K. Organic growth supplement stimulants for *in vitro* multiplication of *Cymbidium pendulum* (Roxb.) Sw.[J]. Horticultural Science, 2012, 39(1): 47-52.
- [23] 李娜, 杨蕾蕾, 陈朋, 李凌飞. 蜻蜓石斛类原球茎的诱导与植株再生系统建立[J]. 植物生理学报, 2021, 57(12): 2387-2392.
- LI N, YANG L L, CHEN P, LI L F. Induction of protocorm-like bodies and establishment of plant regeneration system in *Dendrobium pulchellum*[J]. Plant Physiology Journal, 2021, 57(12): 2387-2392. (in Chinese)
- [24] SHERIF N A, FRANKLIN BENJAMIN J H, SENTHIL KUMAR T, RAO M V. Somatic embryogenesis, acclimatization and genetic homogeneity assessment of regenerated plantlets of *Anoectochilus elatus* Lindl., an endangered terrestrial jewel orchid[J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 2018, 132(2): 303-316.
- [25] 罗清, 陆祖正, 谢振兴, 覃茜, 谭奕为, 丁丽琼. 不同栽培基质对杂交兰组培苗移栽的影响[J]. 北方园艺, 2020(16): 51-55.
- LUO Q, LU Z Z, XIE Z X, QIN Q, TAN Y W, DING L Q. Effects of different culture substrates on transplantation of hybrid orchid seedlings[J]. Northern Horticulture, 2020(16): 51-55. (in Chinese)