

doi:10.11937/bfyy.20181812

# 蕙兰组培快繁体系的研究

付秀芹, 周海琳, 方中明, 黄玮婷

(武汉生物工程学院 应用生物技术研究中心, 湖北 武汉 430415)

**摘要:**以蕙兰种子、根状茎及无菌苗为试材,采用组织培养方法,研究了蕙兰种子萌发、根状茎增殖、根状茎分化阶段适宜的培养基以及蕙兰无菌苗适合的移栽基质等,以期进一步优化蕙兰组培快繁体系。结果表明:蕙兰种子萌发最适培养基为  $1/2MS + 6-BA 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{NAA} 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{活性炭} 1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ , 90 d 后萌发率为 80%; 蕙兰根状茎增殖最适培养基为  $MS + 6-BA 3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{NAA} 1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{KT} 1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{活性炭} 0.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} + \text{赖氨酸} 0.3 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ , 40 d 后增殖倍数为 2.057; 蕙兰根状茎分化出芽最佳培养基为  $MS + 6-BA 8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{NAA} 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{柠檬酸钠} 1.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} + \text{山梨醇} 4.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ , 40 d 后出芽率达到 5.125; 蕙兰无菌苗种植的最佳基质组合为松栗王: 苔藓 = 2:3, 60 d 成活率达到 87.50%。

**关键词:**蕙兰; 种子萌发; 根状茎; 添加物; 增殖; 分化

**中图分类号:**S 682.31 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2018)24-0104-06

蕙兰(*Cymbidium faberi* Rolfe)属兰科兰属地生植物,又称夏蕙、九节兰,株形优雅刚毅,花形淡雅,香气纯洁,深受人们的喜爱<sup>[1]</sup>。但野生蕙兰自然结实率只有 7.5%<sup>[2]</sup>,且蕙兰种子无胚乳,未发育完全的种皮结构致密,在自然界很难萌发<sup>[3]</sup>。李风童等<sup>[4]</sup>研究发现蕙兰种子胚珠发育的不同步性造成胚胎细胞不同成熟度,是阻碍蕙兰种子萌发的主要原因。蕙兰传统人工栽培采用分株方法,繁殖周期长、效率低,难以满足规模化生产的需求<sup>[5]</sup>。随着市场需求的不断提高,地生兰尤其是蕙兰出现了供不应求的现象。应用组织培养的方法可以短时间内获得大批遗传性状稳定的优良种苗。已有报道柠檬酸钠添加到培养基中有利于地生兰珍珠矮兰根状茎的增殖<sup>[6-7]</sup>,加速珍珠矮兰

的繁殖。近期也有报道表明,添加猕猴桃汁和柠檬酸钠能显著促进春兰根状茎增殖并降低根状茎的褐化,促进春兰组培快繁进程<sup>[8]</sup>。目前仅报道低无机盐浓度的培养基适合蕙兰种子萌发,椰子汁可促进根状茎的诱导和增殖<sup>[9]</sup>。培养基中添加香蕉汁有利于根状茎的分化<sup>[10]</sup>。有关蕙兰组培快繁方面系统性研究较少。为了系统探究和优化蕙兰组培快繁体系,该研究探讨了蕙兰种子萌发、根状茎增殖、根状茎分化等组培快繁阶段的适宜培养基,及无菌苗适合移栽的基质,以期为蕙兰工厂化育苗提供参考。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验材料

人工授粉后生长 5 个月的成熟健康蕙兰蒴果,由武汉生物工程学院细胞工程实验室提供。试剂  $1/2MS$ 、 $MS$ 、花宝一号、 $B5$  和  $N6$  等培养基购于青岛高科园海博生物技术有限公司;蔗糖、活性炭、苹果酸、赖氨酸、柠檬酸钠、山梨醇、酵母浸提物、脯氨酸、水解酪蛋白、山梨醇、维生素 E 和

第一作者简介:付秀芹(1980-),女,硕士,讲师,研究方向为植物生物技术。E-mail:81700294@qq.com.

责任作者:黄玮婷(1986-),女,硕士,副教授,研究方向为植物生物技术。E-mail:weitingpink@hotmail.com.

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31301250);湖北省教育厅科学技术研究资助项目(B2015394)。

收稿日期:2018-06-27

琼脂等购于国药集团化学试剂有限公司;激素 6-BA、NAA、KT 等购于上海信裕生物科技有限公司;松栗王、苔藓、椰砖、珍珠岩和蛭石购于武汉堤角市场。

## 1.2 试验方法

### 1.2.1 外植体消毒

选择未破损的蕙兰蒴果先用流水冲洗 20 min,再用毛笔沾取洗洁精将蒴果表面杂质洗净;在超净工作台上将蒴果用 75%乙醇浸泡 30 s,无菌水冲洗 1 次,再添加 2 滴吐温 80 到 0.1%升汞溶液中,用溶液浸泡 20 min,期间在摇床上摇动;接着用无菌水冲洗 3~6 次,再用灭菌吸水纸吸干表面水分;用无菌手术刀将蒴果沿着长轴切成两半,再用无菌镊子将其中的种子撒在培养基上。最后利用培养基表面的少许水分将种子摇晃使其尽可能在培养基上分布均匀。

### 1.2.2 萌发培养基的配制

以 1/2MS、花宝一号、B5 和 N6 为蕙兰种子萌发的不同基本培养基(表 1),附加 6-BA  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  + NAA  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  + 活性炭(AC)  $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  + 蔗糖  $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  + 琼脂  $7 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  (pH 5.8),每种处理 5 瓶,重复 3 次。培养期间每个月向培养基中添加无菌水少量,确保种子能够吸水膨胀。3 个月后观察并统计萌发情况。

### 1.2.3 化学添加物对蕙兰根状茎增殖的影响

以 MS + 6-BA  $3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  + NAA  $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  + KT  $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  + 蔗糖  $20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  + 琼脂  $7 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  + AC  $0.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  为根状茎增殖的基本培养基,附加苹果酸、赖氨酸、柠檬酸钠和山梨醇等 4 种供试因子,分别设置不同浓度梯度(表 2),接种 1 cm 左右的根状茎 2 g 到培养基表面,每处理 5 瓶,重复 3 次。40 d 后取出瓶内的根状茎,擦拭水分和培养基后称量,记录称量。增殖倍数 = 根状茎增殖后质量 / 根状茎原始质量。

### 1.2.4 化学添加物对蕙兰根状茎分化的影响

以 MS + 6-BA  $8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  + NAA  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  + 柠檬酸钠  $1.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  + 蔗糖  $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  + 琼脂  $7 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  为根状茎分化出芽的基本培养基,附加酵母浸提物、脯氨酸、水解酪蛋白、山梨醇和维生素 E 等 5 种供试因子,分别设置不同的浓度梯度(表 3),接种 1 cm 左右的根状茎 20 根到培养基表面,每种处理 5 瓶,重复 3 次。

培养 40 d,统计每瓶分化出芽的根状茎数目、每瓶产生的芽总数、每瓶褐化死亡的根状茎数目。分化率 = 分化出芽的根状茎数目 / 接种存活根状茎数,出芽率 = 产生芽数 / 出芽根状茎数。

### 1.2.5 移栽基质对蕙兰苗生长的影响

先将蕙兰瓶苗从无菌培养室放在人工气候室中,不开盖子练苗 2 d,使其适应光照强度。之后把盖子打开 1/3,放置 2 d。最后把盖子完全打开,向瓶内倒入一些静置过的自来水,放置 3 d。取出小苗,选取叶片翠绿根系健壮的蕙兰苗,去除并洗净根上的培养基,在多菌灵  $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  和 IBA  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  溶液中浸泡 3 min,晾干后备用。移栽使用有机基质为松栗王、苔藓、椰砖和无机基质珍珠岩、蛭石等,采用单独种植或配比种植(表 4)。塑料杯底戳上 5 个孔,每种基质种 20 盆。每天早中晚 3 次在蕙兰叶片表面喷水,持续 20 d。分别在移栽后 20、40、60 d 后统计存活率,存活率(%) = 存活苗数 / 移栽苗数  $\times 100$ 。

### 1.2.6 培养条件

培养温度  $23 \text{ }^{\circ}\text{C}$ ,光照强度  $2000 \text{ lx}$ ,光照时间  $16 \text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$ 。

## 1.3 数据分析

采用 SPSS 16.0 软件利用 Duncan 法分析差异显著性,  $P < 0.05$ 。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同基本培养基对蕙兰种子萌发的影响

通过试验观察,1/2MS、花宝一号、N6 及 B5 均能使蕙兰种子萌发。最先长出绿色根状茎的处理是 1/2MS 培养基,其次为花宝一号。从表 1 可以看出,1/2MS 培养基上种子萌发率最高,为 80%。花宝一号培养基中的根状茎生长较多,长度较长,适合根状茎增殖生长(图 1A)。B5 培养基上的种子萌发率少且生长出的根状茎较短,而 N6 培养基上种子萌发率最低,为 1%,B5 和 N6 培养基均不适合种子萌发(图 1B)。由以上结果可知,适合蕙兰种子萌发和根状茎生长的培养基大小依次是 1/2MS > 花宝一号 > B5 > N6。确定蕙兰种子萌发的最适培养基为 1/2MS + 6-BA  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  + NAA  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  + 活性炭  $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  + 蔗糖  $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  + 琼脂  $7 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

表1 不同基本培养基对蕙兰种子萌发的影响

Table 1 Effects of different basic medium on seed germination of *Cymbidium faberi* Rolfe

基本培养基 Basic medium	萌发率 Germination rate/%	萌发状态 Germination status
1/2MS	80	萌发数量多,密集,且萌发出的根状茎普遍为嫩绿色,细小且短,长2~5 mm
花宝一号	70	萌发量较多,萌发出的根状茎为深绿色,粗壮且较长,长10~14 mm
B5	20	萌发量少,萌发出的根状茎翠绿色,粗壮但短,长约5 mm
N6	1	萌发量最少,萌发出的根状茎翠绿色,细小且短,长3~4 mm

## 2.2 不同化学添加物对蕙兰根状茎增殖的影响

根状茎增殖是地生组织培养再生的特殊阶段,决定了快速繁殖的进程。通过观察不同化学添加物对蕙兰根状茎增殖的影响发现,蕙兰根状茎培养40 d后,对照中根状茎周围新长出绒毛,且有细密明显的分枝,尖端为嫩绿色。而苹果酸和柠檬酸钠处理只出现根状茎伸长生长较多,分枝较少,且根状茎增殖倍数很低,当苹果酸和柠檬酸钠处理浓度分别为 $1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,根状茎增殖倍数分别为1.329和1.417(表2)。说明苹果酸和柠檬酸钠均不适合根状茎的增殖。而山梨醇和赖氨酸促进根状茎增殖效果显著,根状茎伸长,且有明显的分枝,当赖氨酸浓度为 $0.3\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,其根状茎增殖倍数最高,为2.057(表2,图1C),表明山梨醇和赖氨酸有利于蕙兰根状茎增殖。故确定蕙兰根状茎最佳增殖培养基为MS+6-BA $3\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +NAA $1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +KT $1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +AC $0.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ +赖氨酸 $0.3\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ +蔗糖 $20\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ +琼脂 $7\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

表2 不同化学添加物对蕙兰根状茎增殖的影响

Table 2 Effects of different chemical additives on the rhizome proliferation of *Cymbidium faberi* Rolfe

添加物 Additive	浓度 Concentration /( $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ )	增殖倍数 Proliferation rate
对照	—	$1.477\pm 0.028\text{bcdef}$
苹果酸	1	$1.329\pm 0.101\text{cdef}$
	2	$1.239\pm 0.099\text{def}$
	3	$1.139\pm 0.099\text{def}$
赖氨酸	0.1	$1.659\pm 0.200\text{bcd}$
	0.3	$2.057\pm 0.121\text{a}$
	0.5	$1.831\pm 0.036\text{b}$
柠檬酸钠	0.5	$1.183\pm 0.020\text{ef}$
	1	$1.417\pm 0.081\text{cdef}$
	2	$1.224\pm 0.034\text{def}$
山梨醇	2	$1.537\pm 0.453\text{bcdef}$
	4	$1.737\pm 0.137\text{bc}$
	6	$1.674\pm 0.420\text{bcd}$

## 2.3 不同化学添加物对蕙兰根状茎分化的影响

根状茎分化出芽决定了再生植株的数量,通过观察不同化学添加物对蕙兰根状茎分化的影响发现,蕙兰根状茎培养40 d后,酵母浸提物、水解酪蛋白和维生素E处理的蕙兰根状茎分化出芽率较低(表3),且根状茎和培养基出现了褐化现象。说明酵母浸提物、水解酪蛋白和维生素E不适合根状茎分化;而添加脯氨酸和山梨醇分化率和出芽率均较高,说明脯氨酸和山梨醇有利于根状茎分化,脯氨酸 $0.7\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理分化率和出芽率均较高,分别为0.828和3.248。添加山梨醇 $4.0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 显著促进根状茎分化,分化率和出芽率分别为1.000和5.125(表3),且根状茎培养基不产生明显褐化(图1D),而维生素E处理的分化根状茎及培养基此时已经发生严重褐化(图1E)。确定最佳根状茎分化培养基为MS+6-BA $8\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +NAA $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +柠檬酸钠 $1.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ +山梨醇 $4\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ +蔗糖 $30\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ +琼脂 $7\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

## 2.4 不同移栽基质对蕙兰苗生长的影响

通过观察不同移栽基质对蕙兰苗生长的影响发现,单独使用松栗王,保水性较差,但透气性好,不会引起烂根。而纯苔藓具有良好的保水性。椰砖有好的保水性,根能迅速生长,但是长时间培养根始终细长,颜色发黑,容易烂根,最终成活率很低(表4)。而松栗王+蛭石+珍珠岩处理,肉质根粗大强壮,存活率也较高,达到87.50%。而以松栗王+苔藓组合处理蕙兰根生长健康,60 d成活率高达87.50%(表4,图1F)。确定最佳移栽基质及比例为松栗王:苔藓=2:3。

## 3 讨论

该试验结果表明,1/2MS培养基适合蕙兰种子萌发,氮浓度较高的N6等培养基不适合蕙兰种子萌发。孙崇波等<sup>[9]</sup>研究表明低浓度的无机氮

表 3 不同化学添加物对蕙兰根状茎分化的影响

Table 3 Effects of different chemical additives on rhizome differentiation of *Cymbidium faberi* Rolfe

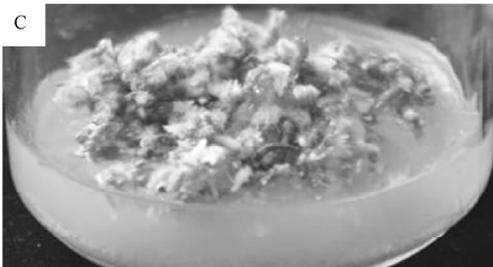
添加物 Additive	浓度 Concentration/(g · L <sup>-1</sup> )	分化率 Differentiation rate	出芽率 Bud rate
	0	0.425 ± 0.106defg	2.357 ± 0.407c
酵母浸提物	0.1	0.525 ± 0.177cdef	2.885 ± 0.385c
	0.3	0.350 ± 0.05efgh	3.257 ± 0.416b
	0.5	0.125 ± 0.106hi	1.500 ± 0.507d
	0.7	0.150 ± 0.0711hi	3.750 ± 0.353b
	脯氨酸	0.1	0.700 ± 0.141bc
	0.3	0.800 ± 0.087b	3.018 ± 0.419c
	0.5	0.525 ± 0.075cdef	3.451 ± 0.596b
	0.7	0.828 ± 0.055b	3.248 ± 0.305b
水解酪蛋白	0.05	0.230 ± 0.061gh	2.389 ± 0.329c
	0.10	0.600 ± 0.071cd	3.259 ± 0.328b
	1.50	0.257 ± 0.178gh	2.926 ± 0.534c
	2.00	0.325 ± 0.106fgh	2.038 ± 0.229c
山梨醇	0.5	0.900 ± 0.141a	4.225 ± 0.235a
	2.0	0.900 ± 0.141a	3.563 ± 0.396b
	4.0	1.000 ± 0.11a	5.125 ± 0.237a
维生素 E	0.04	0.290 ± 0.128gh	3.563 ± 0.265b
	0.08	0.575 ± 0.106cdef	3.304 ± 0.5142b
	0.16	0.450 ± 0.070defg	3.863 ± 0.371b



A: 1/2MS+6-BA 0.5 mg · L<sup>-1</sup>+NAA 0.1 mg · L<sup>-1</sup>+AC 1 g · L<sup>-1</sup>+蔗糖 30 g · L<sup>-1</sup>+琼脂 7 g · L<sup>-1</sup>培养基上蕙兰种子萌发情况



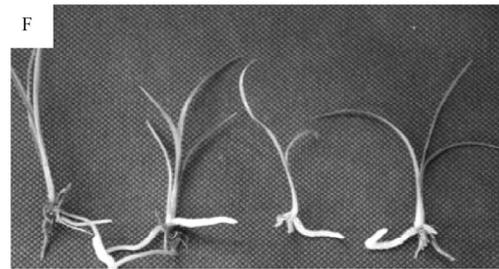
B: N6+6-BA 0.5 mg · L<sup>-1</sup>+NAA 0.1 mg · L<sup>-1</sup>+AC 1 g · L<sup>-1</sup>+蔗糖 30 g · L<sup>-1</sup>+琼脂 7 g · L<sup>-1</sup>培养基上蕙兰种子萌发情况



C: MS+6-BA 3 mg · L<sup>-1</sup>+NAA 1 mg · L<sup>-1</sup>+KT 1 mg · L<sup>-1</sup>+AC 0.5 g · L<sup>-1</sup>+赖氨酸 0.3 g · L<sup>-1</sup>+蔗糖 20 g · L<sup>-1</sup>+琼脂 7 g · L<sup>-1</sup>培养基上蕙兰根状茎增殖



D: MS+6-BA 8 mg · L<sup>-1</sup>+NAA 0.5 mg · L<sup>-1</sup>+柠檬酸钠 1.5 g · L<sup>-1</sup>+山梨醇 4 g · L<sup>-1</sup>+蔗糖 30 g · L<sup>-1</sup>+琼脂 7 g · L<sup>-1</sup>培养基上蕙兰根状茎分化出芽情况



E:MS+6-BA  $8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +NAA  $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +柠檬酸钠  $1.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ +维生素E  $0.08 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ +蔗糖  $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ +琼脂  $7 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 培养基上蕙兰根状茎分化出芽情况

F:松栗王:苔藓=2:3 基质中培养 60 d 的蕙兰幼苗情况

图1 蕙兰无菌播种及组培快繁过程

Fig. 1 The process of aseptic sowing, tissue culture and rapid propagation of *Cymbidium faberi* Rolfe

表4 不同基质对蕙兰组培苗移栽的影响

Table 4 Effects of different substrates on seedling transplanting of *Cymbidium faberi* Rolfe

基质成分 Substrate element	体积比 Volume ratio	存活率 Survival rate/%			叶色 Leaf color	根系生长状况 Root growth status
		20 d	40 d	60 d		
松栗王	—	93.75	75.00	50.00	浓绿有光泽	有断损
苔藓	—	100.00	75.00	68.75	嫩绿	部分烂根
椰砖	—	87.50	25.00	0.00	枯黄	根细长,部分变黑腐烂
松栗王:苔藓	2:3	100.00	93.75	87.50	浓绿有光泽	健康
松栗王:蛭石:珍珠岩	3:1:1	100.00	68.75	68.75	浓绿有光泽	生长出粗大的白色肉质根

有利于蕙兰种子的萌发,该研究结果与其一致。另外,花宝一号可以提高种子萌发率,可以提供种子萌发所需营养<sup>[11]</sup>,该试验表明花宝一号也可以促进蕙兰种子的萌发,但萌发率不及1/2MS培养基。赖氨酸对蕙兰根状茎增殖有显著促进作用,这可能是低浓度的赖氨酸增加了根状茎的营养,促进了根状茎的生长,同样低浓度的赖氨酸能够促进水稻分蘖芽的伸长<sup>[12]</sup>。

山梨醇作为一种营养型添加剂和碳源,能够有效诱导植物组织分化再生<sup>[13]</sup>,可改善培养基、植物细胞的渗透压或是改变植物组织多种代谢途径,从而提高组织分化再生的能力<sup>[14]</sup>。该试验中根状茎分化培养基中添加山梨醇能显著促进蕙兰根状茎的分化出芽,且培养基不容易褐化。脯氨酸可以维持细胞内外渗透压,保护蛋白质,具有清除活性氧的作用<sup>[15]</sup>。陈克贵等<sup>[16]</sup>发现植物愈伤组织可以吸收培养基中的脯氨酸,对高等植物分化再生有着重要作用。该研究结果表明,一定浓度的脯氨酸也可以促进蕙兰根状茎的分化。

苔藓作为绿色有机复合肥,具有特殊的吸水

构造,可以起到保水保肥的功效<sup>[17]</sup>。松栗王有利于根部透气,在相同的培养条件下,苔藓和松栗王搭配组合蕙兰苗的成活率最高。另外,在松栗王中参入珍珠岩和蛭石可以调节基质pH,弥补了松栗王保水性不好的缺点,小苗成活率也较高。纯椰砖基质的小苗存活率最低,根系细长且发黑,说明基质的肥分低,可能的原因是椰壳对氮元素有吸附力,使得氮元素吸收偏少<sup>[18-19]</sup>,根部不能供应叶片生长所需的营养。

#### 参考文献

- [1] 卢思聪. 中国兰与洋兰[M]. 北京:金盾出版社,1994.
- [2] 杨静秋. 野生蕙兰传粉观察[J]. 南方农业,2017,11(18):38-39.
- [3] 潘瑞焯,叶庆生. 国兰生理[M]. 北京:科学出版社,2006.
- [4] 李凤童,包建忠,孙叶,等. 蕙兰胚珠发育及主要发育事件分布[J]. 核农学报,2015,29(12):2300-2306.
- [5] 罗毅波. 国兰产业化发展中的几个问题[J]. 中国西部科技,2006(15):14-17.
- [6] FANG Z M, HUANG W T, ZENG S J, et al. *In vitro* propagation of *Cymbidium nanuum* Y. S. Wu et S. C. Chen[J]. Propag

Ornam Plants, 2011, 11(3): 149-155.

[7] 方中明, 黄玮婷, 吴坤林, 等. 柠檬酸抑制珍珠矮根状茎分化及其褐变机制研究[J]. 华南师范大学学报(自然科学版), 2012, 44(4): 105-108.

[8] 黄玮婷, 曾丽婷, 吴博文, 等. 不同有机添加物及柠檬酸钠组合对春兰根状茎增殖的影响[J]. 安徽农业大学学报, 2017, 44(6): 1112-1118.

[9] 孙崇波, 刘玫, 施季森, 等. 蕙兰种子无菌萌发及植株再生[J]. 浙江农业学报, 2008, 20(4): 231-235.

[10] 于永畅. 蕙兰“大一品”组织培养技术及部分国兰品种抗寒性研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2014.

[11] YIN L, TAO Y, ZHAO K, et al. Proteomic and transcriptomic analysis of rice mature seed derived callus differentiation[J]. Proteomics, 2007, 7(5): 755-768.

[12] LU K, WU BW, WANG J, et al. Blocking Amino acid transporter OsAAP3 improves grain yield by promoting outgrowth buds and increasing tiller number in rice[J]. Plant Biotechnology Journal, 2018, 16(10): 1710-1722.

Journal, 2018, 16(10): 1710-1722.

[13] 黄慧君, 黄道强, 陈文丰. 碳源山梨醇和甘露醇对水稻体细胞培养的影响[J]. 广东农业科学, 1999(3): 2-4.

[14] 冯小磊, 苏旭, 赵治海, 等. 山梨醇在植物中的研究进展[J]. 河北农业科学, 2014(3): 67-70.

[15] 吴娟, 施国新, 夏海威, 等. 外源钙对汞胁迫下菹草叶片抗氧化系统及脯氨酸代谢的调节效应[J]. 生态学杂志, 2014, 33(2): 380-387.

[16] 陈克贵, 朱庆麟. 脯氨酸在小麦愈伤组织培养中的作用初探[J]. 植物科学学报, 1993, 11(1): 67-72.

[17] 苏玉芹. 无土盆栽理想基质苔藓植物[J]. 绿化与生活, 1995, (5): 21-22.

[18] 西北农业大学植物生理生化教研组. 植物生理学实验指导[M]. 西安: 陕西科学技术出版社, 1987.

[19] 王拉花, 杨秋生. 新型园艺栽培基质研究进展[J]. 河南农业科学, 2015, 44(3): 9-13.

## Study on Tissue Culture and Rapid Propagation System of *Cymbidium faberi* Rolfe

FU Xiuqin, ZHOU Hailin, FANG Zhongming, HUANG Weiting

(Center of Applied Biotechnology, Wuhan University of Bioengineering, Wuhan, Hubei 430415)

**Abstract:** In order to optimize tissue culture and rapid propagation system of *Cymbidium faberi* Rolfe, the seeds, rhizomes and aseptically seedlings of *Cymbidium faberi* Rolfe were used as materials to study the appropriate medium in the seed germination, the proliferation of rhizomes and the differentiation stage, and the matrix of seedling transplanting using tissue culture method. The results showed that the optimum medium for the seed germination of *Cymbidium faberi* Rolfe was  $1/2MS + 6-BA 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + NAA 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{activated carbon } 1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ , the germination rate reached 80% after 90 days, and the suitable medium for the proliferation of *Cymbidium faberi* Rolfe was  $MS + 6-BA 3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + NAA 1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + KT 1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{activated carbon } 0.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} + \text{lysine } 0.3 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ , and the multiplication rate reached to 2.057 after 40 days; the best medium of bud differentiation from rhizome was  $MS + 6-BA 8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + NAA 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{sodium citrate } 1.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} + \text{sorbitol } 4 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ , and the bud rate was 5.125 after 40 days; the best matrix combination of aseptically seedlings was king chestnut : moss = 2 : 3, and the survival rate was 87.50% after 60 days.

**Keywords:** *Cymbidium faberi* Rolfe; seed germination; rhizome; additives; proliferation; differentiation