

## 澳洲鸽子石斛组织培养快速繁殖研究

莫远琪<sup>1,2</sup>, 郑枫<sup>1</sup>, 房林<sup>1</sup>, 李琳, 江南<sup>3,\*</sup>, 吴坤林<sup>1,\*</sup>, 曾宋君<sup>1,4,\*</sup>

<sup>1</sup>中国科学院华南植物园华南农业植物分子分析与遗传改良重点实验室, 广州510650

<sup>2</sup>中国科学院大学, 北京100049

<sup>3</sup>东莞农业科学研究中心, 广东东莞523000

<sup>4</sup>中国科学院华南植物园广东省应用植物学重点实验室, 广州510650

**摘要:** 以澳洲鸽子石斛(*Dendrobium kingianum* Bidwill)幼嫩假鳞茎为外植体进行组织培养和快速繁殖研究。结果表明: 采用合适的消毒方式, 外植体消毒成功率可达92.5%。MS培养基添加5.0 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA适合用于不定芽的诱导和前期增殖, MS培养基+0.5 mg·L<sup>-1</sup> NAA+2.0 mg·L<sup>-1</sup> KT的增殖倍数最高, 为6.96。丛生芽诱导愈伤组织的最佳培养基为MS+0.25 mg·L<sup>-1</sup> 2,4-D, 诱导率为80%; 愈伤组织分化的最佳培养为MS+1.0 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA, 愈伤组织分化芽数为381.99个·g<sup>-1</sup>。MS+2.0 mg·L<sup>-1</sup> IBA+10%香蕉泥+1 g·L<sup>-1</sup>活性炭最适合于生根壮苗培养; 试管苗在兰石:泥碳土(1:1)的混合基质中移栽3个月后, 成活率达100%, 且生长速度快, 基质成本较低, 适合澳洲鸽子石斛试管苗的商业化栽培。

**关键词:** 澳洲鸽子石斛; 假鳞茎; 愈伤组织; 增殖; 壮苗; 移栽

澳洲鸽子石斛(*Dendrobium kingianum* Bidwill)是兰科(Orchidaceae)石斛属(*Dendrobium*)澳洲石斛组(Section *Dendrocryne*) 12个原种中最具观赏价值的种类之一, 原产于澳大利亚东部、豪勋爵岛和新加坡多尼亚岛等地(Adams和Lawson 1995; Wood 2006; 王雁等2015), 其生长势强、开花性好、色彩绚丽, 是世界上较为流行的石斛属花卉, 我国大陆近年来从台湾引进后非常畅销, 在国内目前仅李振坚和张毓(2010)科普性地介绍了澳洲(鸽子)石斛的基本形态特征及习性。石斛传统繁殖可通过分株和扦插等方式进行, 但繁殖速度慢, 且繁殖的种苗的大小不一, 难以满足市场的需求, 而利用组织培养技术能有效地解决这个问题。在国外, 虽已有澳洲鸽子石斛组织培养的报道, 但主要集中在金属元素和光照等对类原球茎增殖和生长的影响(Pražak 2001, 2014; Pražak和Molas 2015)以及不同化学物质、植物生长调节剂及不同光源对澳洲鸽子石斛类原球茎生长的影响(Habiba等2014a, 2014b)。但这些研究对其快速繁殖体系的研究不够系统, 也未进行丛生芽增殖、愈伤诱导和试管苗移栽等的研究。本文以澳洲鸽子石斛的幼嫩假鳞茎为外植体, 通过培养基的筛选并利用不同再生途径进行了快速繁殖技术研究和移栽实验, 能为其规模商品化生产提供技术参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

澳洲鸽子石斛(*Dendrobium kingianum* Bidwill)成苗由华大锦兰花卉有限公司从台湾引进, 栽培于中国科学院华南植物园科研温室内(图1-A)。取长势健壮的植株的幼嫩假鳞茎为外植体进行实验。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 培养基和培养条件

根据实验目的不同使用不同的培养基, 添加不同浓度的植物生长调节剂浓度。实验中以MS为基本培养基(Murashige和Skoog 1962), 1/2MS培养基为MS基本培养基中大量元素减半, 其它成分不变。无特殊说明时, 培养基中蔗糖、琼脂添加量分别为30和6 g·L<sup>-1</sup>, pH 5.8; 配制的培养基皆在121°C高温下灭菌20 min, 光周期12 h·d<sup>-1</sup>, 光照强度40~45 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>, 温度为(25±2)°C, 培养周期45 d。

收稿 2018-01-05 修定 2018-04-08

资助 国家重点研发计划项目(2016YFC0503104)、东莞市社会发展项目(2016108101001)、中国科学院战略生物资源服务网络计划植物种质资源创新项目(ZSZC-008)和广东省现代农业产业技术体系花卉创新团队项目(2016LM1142)。

\* 共同通讯作者: 江南(dgjn2@126.com)、吴坤林(wk18@scib.ac.cn)、曾宋君(zengsongjun@scib.ac.cn)。

### 1.2.2 外植体消毒

在超净工作台上,将切下的幼嫩假鳞茎用干燥棉花擦拭1次后,再用75%乙醇浸泡的棉花擦拭1次,去除多余叶片并将其切成小段,每段包含一个茎节后放入75%乙醇充分浸泡30 s,无菌水清洗3次,然后再用0.1% HgCl<sub>2</sub>充分浸泡6 min,无菌水冲洗3次,在吹干多余水分后剥去苞叶,再浸入0.1% HgCl<sub>2</sub>充分浸泡2 min后,无菌水冲洗3次后,吹干多余水分后接种。

### 1.2.3 不定芽的诱导及继代培养

将消毒好的外植体接种到培养基MS+5 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA上进行不定芽诱导和前3代继代增殖。待得到大量丛生芽后再进行不定芽增殖等相关研究,不定芽的增值倍数=培养后的新增芽数/接种芽数(或外植体数)。

### 1.2.4 2,4-D和TDZ对不定芽增殖、类原球茎和愈伤组织诱导的影响

将继代培养获得的丛生芽切成双芽后接种到培养基MS+15%椰汁+TDZ (0.1、0.25、0.5和1.0 mg·L<sup>-1</sup>)或MS+15%椰汁+2,4-D (0.25、0.5、0.75、1.0 mg·L<sup>-1</sup>)进行愈伤组织和类原球茎的诱导,以不添加植物生长调节剂为对照,每个处理10瓶,每瓶接种5丛(双芽·丛<sup>-1</sup>),重复3次。类原球茎的诱导量=诱导的类原球茎个数/接种的芽数,愈伤组织诱导率=诱导出愈伤的植株数/接种的芽数×100%,不定芽增殖倍数=新增芽数/接种的芽数,死亡率=死亡的植株数/接种植株数×100%。

### 1.2.5 6-BA和TDZ对愈伤组织增殖和分化的影响

将上一代培养阶段每个处理所得的愈伤组织切成黄豆大小,每团约0.05 g,称重后分别接种到MS培养基添加不同浓度6-BA (0.5、1.0、2.0和3.0 mg·L<sup>-1</sup>)或TDZ (0.1、0.25、0.5和1.0 mg·L<sup>-1</sup>)的培养基中进行愈伤组织的增殖和分化,以不添加植物生长调节剂为对照,每个处理10瓶(每瓶含5块愈伤组织),重复3次实验。愈伤组织增殖率=培养后愈伤组织鲜重/接种的愈伤组织鲜重×100%,分化的芽数=新增的芽数/接种的愈伤组织鲜重。

### 1.2.6 6-BA和KT对丛生芽增殖的影响

将继代培养获得的丛生芽切成双芽后接种在MS+0.5 mg·L<sup>-1</sup> NAA附加6-BA (1.0、2.0、4.0和8.0 mg·L<sup>-1</sup>)或KT (1.0、2.0、4.0和8.0 mg·L<sup>-1</sup>)的培养基中培养,以不添加植物生长调节剂为对照,每个处

理10瓶,每瓶接种5丛(双芽·丛<sup>-1</sup>),重复3次试验。不定芽增殖倍数=新增的芽数/接种芽数。

### 1.2.7 生根壮苗

#### 1.2.7.1 IBA和NAA对生根的影响

选取生长健壮、长势基本一致的无菌小苗切成单芽后接种在培养基1/2MS添加10%香蕉泥和不同浓度的生长素IBA (0.5、1.5、2.0和4.0 mg·L<sup>-1</sup>)或NAA (0.25、0.5、1.5和2.0 mg·L<sup>-1</sup>)中进行生根培养,每个处理5瓶,每瓶接种20株无根苗,以不添加生长素为对照,重复3次试验。实验结束后统计植株的株高、根数、根长、生物量等指标。

#### 1.2.7.2 活性炭浓度对生根壮苗的影响

选取生长健壮、长势基本一致的无菌小苗切成单芽后接种在1/2MS+0.5 g·L<sup>-1</sup> NAA培养基中附加不同浓度的活性炭(0.25、0.5、1.0和2.0 g·L<sup>-1</sup>)进行生根壮苗实验,以不添加活性炭为对照。

#### 1.2.7.3 不同有机添加物对生根壮苗的影响

选取生长健壮、长势基本一致的无菌小苗切成单芽后接种在培养基1/2 MS+0.5 mg·L<sup>-1</sup> NAA+1.0 g·L<sup>-1</sup>活性炭培养基中附加椰汁(5%、10%、15%和20%)、香蕉泥(5%、10%、15%和20%)、土豆泥(5%、10%、15%和20%)或苹果泥(2.5%、5%、7.5%和10%)进行生根壮苗实验,以不添加有机添加物为对照。有机添加物均为质量比。

将生长健壮的株高5~6 cm、叶片数为4~6片的试管苗移栽到30种不同比例(皆为体积比)的混合基质或者单一基质中,每个处理30盆(花盆内径10 cm,高9 cm,每盆盛装85%基质),每盆3株,移栽3个月以后统计移栽成活率,并观察生长状况。

## 2 实验结果

### 2.1 澳洲鸽子石斛的外植体消毒

在消毒后接种的40个外植体中有3个污染,污染率为7.5%,未污染的外植体均成活并诱导出不定芽,成功率92.5%,这表明本消毒方案适宜澳洲鸽子石斛茎段的消毒。

### 2.2 澳洲鸽子石斛的腋芽诱导及继代培养

预备实验时发现MS培养基附加5.0 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA适合于澳洲鸽子石斛不定芽的诱导和前期增殖。初代(第1代)培养时,每个消毒成功的假鳞茎茎体诱导出1个芽,每个芽经第2代继代培养后增殖倍数为1.67,第3代和第4代平均增殖倍数分别为

2.83和4.60, 增殖系数逐步升高并具有显著性差异。在培养过程中, 少数茎段插入培养基的一端其切口处会形成少量愈伤组织(图1-B)。

### 2.3 2,4-D和TDZ对澳洲鸽子石斛不定芽增殖、类原球茎和愈伤组织诱导的影响

实验表明不同浓度的TDZ与2,4-D对澳洲鸽子石斛幼芽丛生芽增殖、类原球茎和愈伤组织诱导作用效果差异显著(表2)。使用TDZ时, 能直接诱导出类原球茎并进行丛生芽的增殖, 但不能诱导出愈伤组织, 不同浓度的TDZ对不定芽的增殖倍数没有显著影响, 但影响类原球茎的诱导效率。添加0.25

和 $0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  TDZ的诱导效率之间没有显著性差异, 均显著高于其它浓度和对照, 添加 $0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  TDZ的玻璃化程度较重, 因此 $0.25 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  TDZ的效果最好。

培养基中加入2,4-D能诱导愈伤组织的形成, 但对幼芽的伤害较大, 浓度越高, 植株的死亡率越高, 添加 $1.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  2,4-D的外植体死亡度达77.0%。低浓度( $0.25 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )的2,4-D有利于愈伤组织的诱导, 诱导率为80%, 并有少量的类原球茎产生(图1-C), 而其它浓度均不能产生类原球。添加2,4-D处理不能进行丛生芽的增殖(表1)。

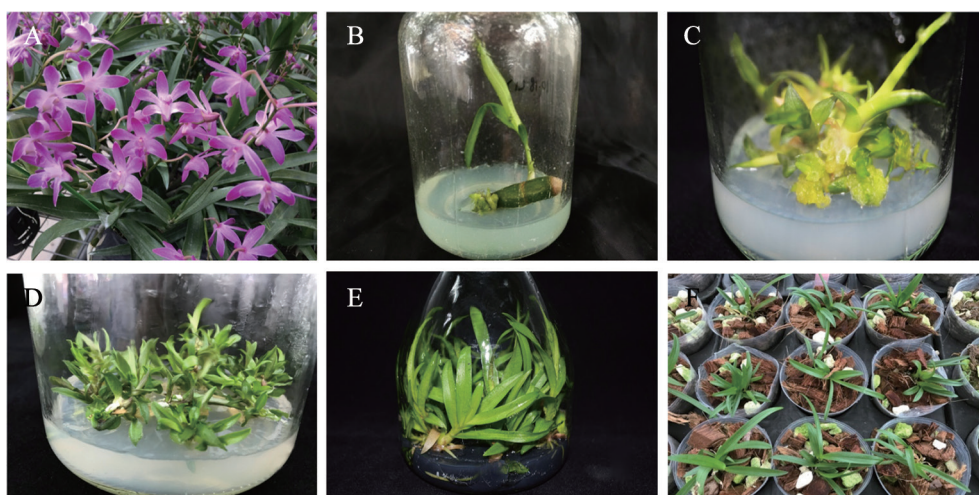


图1 澳洲鸽子石斛的离体快速繁殖

Fig.1 Rapid propagation *in vitro* of *D. kingianum*

A: 澳洲鸽子石斛植株; B: 不定芽的诱导; C: 愈伤组织诱导; D: 丛生芽的增殖; E: 生根壮苗; F: 移栽后的生长。

表1 TDZ和2,4-D对澳洲鸽子石斛丛生芽增殖、类原球茎和愈伤组织诱导的影响

Table 1 Effects of TDZ and 2,4-D on the multiplication of cluster shoots and the induction of protocorm-like bodies and callus of *D. kingianum*

TDZ浓度/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	2,4-D浓度/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	母株存活率/%	母株死亡率/%	愈伤组织 诱导率/%	不定芽增殖 倍数	类原球茎诱 导量/个	生长状况
0	0	100.00±0 <sup>a</sup>	0±0 <sup>d</sup>	0±0 <sup>e</sup>	4.53±0.45 <sup>a</sup>	4.45±0.56 <sup>d</sup>	长势正常
0.10	0	100.00±0 <sup>a</sup>	0±0 <sup>d</sup>	0±0 <sup>e</sup>	3.89±0.45 <sup>a</sup>	9.98±0.68 <sup>b</sup>	长势正常
0.25	0	100.00±0 <sup>a</sup>	0±0 <sup>d</sup>	0±0 <sup>e</sup>	4.30±0.39 <sup>a</sup>	11.70±0.90 <sup>a</sup>	基本正常, 轻度玻璃化
0.50	0	100.00±0 <sup>a</sup>	0±0 <sup>d</sup>	0±0 <sup>e</sup>	4.55±0.49 <sup>a</sup>	11.97±0.27 <sup>a</sup>	中度玻璃化
1.00	0	100.00±0 <sup>a</sup>	0±0 <sup>d</sup>	0±0 <sup>e</sup>	4.47±0.31 <sup>a</sup>	8.25±0.38 <sup>c</sup>	重度玻璃化, 长势畸形
0	0.25	18.00±1.15 <sup>e</sup>	2.00±1.1 <sup>d</sup>	80.00±2.89 <sup>a</sup>	0±0 <sup>b</sup>	0.44±0.05 <sup>e</sup>	少数基部膨大, 愈伤组织黄绿色
0	0.50	20.67±0.67 <sup>b</sup>	18.38±0.85 <sup>e</sup>	60.95±0.95 <sup>b</sup>	0±0 <sup>b</sup>	0±0 <sup>e</sup>	少数基部膨大, 愈伤组织绿色
0	0.75	10.67±0.67 <sup>d</sup>	37.66±4.33 <sup>b</sup>	51.67±4.41 <sup>c</sup>	0±0 <sup>b</sup>	0±0 <sup>e</sup>	少数基部膨大, 愈伤组织绿色
0	1.00	1.33±0.33 <sup>e</sup>	77.00±1.53 <sup>a</sup>	21.67±1.67 <sup>d</sup>	0±0 <sup>b</sup>	0±0 <sup>e</sup>	较多基部膨大, 愈伤组织浅绿色

同列数据后不同小写字母表示差异显著( $P<0.05$ ), 下同。



## 2.4 6-BA和TDZ对澳洲鸽子石斛愈伤组织增殖和分化的影响

在MS培养基中添加不同浓度的6-BA或TDZ均能进行澳洲鸽子石斛愈伤组织的增殖和分化,并形成愈伤组织、类原球茎及芽的联合体,愈伤组织鲜绿,表面有白色根毛。不同浓度的6-BA及TDZ的增殖和分化效果不同。在不加6-BA和TDZ的培养基中,愈伤组织分化的芽数较小,但愈伤组织鲜重增量较大,主要原因是形成的芽生长快所致。添加6-BA的愈伤组织增殖量及分化的芽数随浓度升高呈正态分布,以 $1.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的6-BA效果最好,高于 $1.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的6-BA的起抑制作用。添加0.1和 $0.25 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  TDZ的愈伤组织增殖量和分化的芽数均显著高于0.5和 $1.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,它们之间无显著性差异(表2)。

## 2.5 植物生长调节剂对澳洲鸽子石斛丛生芽增殖的影响

不同植物生长调节剂对澳洲鸽子石斛丛生芽

的增殖效果差异显著。由于前几代采用高浓度的6-BA进行继代增殖,因此在不添加任何植物生长调节剂仍具有3.0倍的增殖倍数。但只添加NAA时,丛生芽生长快,增殖倍数比对照更低,但无显著性差异。培养基中添加合适深度的6-BA和KT时均能显著性提高不定芽的增殖,  $2.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度的效果均最佳,丛生芽的增殖倍数分别为6.65倍和6.96倍,显著性高于其它浓度。从生长状况来看,添加6-BA的植株矮小,有些无明显的茎,叶片厚大,呈黄绿色,有玻璃化趋势。而添加KT的芽长势好,有明显的茎,叶片分明,呈深绿色,叶背泛紫,生长状态较为健壮(图1-D)。因此,澳洲鸽子石斛丛生芽的增殖较佳的植物生长调节剂组合为 $0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  NAA+ $2.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  KT(表3)。

## 2.6 澳洲鸽子石斛的生根壮苗

### 2.6.1 NAA及IBA对澳洲鸽子石斛生根壮苗的影响

澳洲鸽子石斛容易生根,所有培养基中生根率均为100%,且根的数量无显著性差异。但NAA及

表2 不同浓度6-BA和TDZ对澳洲鸽子石斛愈伤组织增殖和分化的影响

Table 2 Effects of different concentrations of 6-BA and TDZ on multiplication and differentiate of *D. kingianum* callus

6-BA浓度/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	TDZ浓度/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	愈伤组织鲜重增殖量/ $\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	愈伤组织分化的芽数/个 $\cdot\text{g}^{-1}$
0	0	$17.51\pm 3.20^a$	$252.44\pm 25.70^b$
0.50	0	$13.63\pm 0.98^{ab}$	$269.61\pm 4.01^{ab}$
1.00	0	$17.23\pm 5.49^a$	$381.99\pm 106.80^a$
2.00	0	$12.18\pm 0.46^{ab}$	$223.52\pm 11.86^b$
3.00	0	$11.59\pm 0.83^{ab}$	$185.68\pm 18.54^b$
0	0.10	$14.31\pm 0.10^{ab}$	$302.06\pm 11.45^{ab}$
0	0.25	$12.44\pm 0.37^{ab}$	$302.01\pm 19.85^{ab}$
0	0.50	$9.64\pm 0.43^b$	$191.11\pm 10.54^b$
0	1.00	$9.19\pm 0.80^b$	$181.14\pm 20.83^b$

表3 不同植物生长调节剂对澳洲鸽子石斛丛生芽增殖的影响

Table 3 Effects of different plant growth regulators on the multiplication of clustered shoots of *D. kingianum*

NAA浓度/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	6-BA浓度/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	KT浓度/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	芽的增殖倍数
0	0	0	$3.00\pm 0.30^{de}$
0.50	0	0	$1.81\pm 0.20^e$
0.50	1.00	0	$4.79\pm 0.50^{bc}$
0.50	2.00	0	$6.65\pm 1.01^a$
0.50	4.00	0	$5.79\pm 0.32^{ab}$
0.50	8.00	0	$4.41\pm 0.28^{bcd}$
0.50	0	1.00	$3.84\pm 0.39^{cd}$
0.50	0	2.00	$6.96\pm 0.25^a$
0.50	0	4.00	$4.92\pm 0.37^{bc}$
0.50	0	8.00	$3.91\pm 0.31^{cd}$

IBA对澳洲鸽子石斛的壮苗效果不同, 当NAA浓度大于 $1.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 植株的伸长、叶片生长均受到抑制, 根数及平均根长差异不显著, 鲜重增量增加, 表现的生长趋势为茎粗增加, 植株矮壮。随IBA浓度的上升, 叶片数和根数没有明显变化, 鲜重增殖量增加, 植株变矮, 根长较为均衡, 茎粗增大。从整体上观察, 培养基中附加 $2.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  IBA的生长状况最佳, 适合用于澳洲鸽子石斛的生根培养(表4)。

### 2.6.2 活性炭对澳洲鸽子石斛生根壮苗的影响

在培养基中加入活性炭, 平均根长和鲜重增殖量与对照相比无显著性差异, 随着活性炭浓度的增加, 试管苗根数减少, 株高增加, 叶片数呈正态分布。培养基中加入 $1.0 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 活性炭的叶片最多; 大于该浓度时, 叶片减少, 茎粗增大。在生根壮苗阶段, 活性炭的浓度在 $1.0\sim 2.0 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 对澳洲鸽子石斛的生长具有促进作用(表5)。

### 2.6.3 有机添加物对澳洲鸽子石斛生根壮苗的影响

4种有机添加物在一定程度上对澳洲鸽子石斛的生长具有促进作用, 且不同种类、不同浓度的促进效果不同。添加10%~15%的椰汁使根数、

株高及鲜重增加。添加香蕉泥, 株高、根数和鲜重增量都有所增加, 添加10%香蕉泥的植株最高、根数最多。添加土豆时, 株高及鲜重增量高于对照组, 其他指标差异不大, 随浓度的增加, 植株变矮变壮, 5%的添加量效果较好。添加苹果泥时, 株高及鲜重增量明显高于对照, 高浓度抑制其长高, 植株矮壮, 以2.5%的添加量较好。综合各生长指标来看, 10%的香蕉泥对澳洲鸽子石斛的生根壮苗促进效果最佳(图1-E、表6)。

### 2.7 澳洲鸽子石斛试管苗移栽

试管苗在30种基质中移栽3个月后, 植株的生长状况存在明显差异, 其中17种基质移栽成活率在90%以上, 7种达100%。在6种单一基质中, 水苔和泥炭土中成活率最高(皆为100%), 松树皮和椰壳次之, 植金石和兰石最低。与混合基质相比, 单一基质中生长状况相对不理想。在移栽成活率最高的5组复合基质中, 从移栽成活率及植株的生长速度来看, 兰石:泥炭土(1:1)、兰石:泥炭土(1:2)、植金石:椰壳(1:3) (图1-F)、植金石:泥炭土(1:3)的生长速度较快, 都适合作为澳洲鸽子石斛的移栽(表7)。

表4 不同浓度NAA和IBA对澳洲鸽子石斛生根的影响

Table 4 Effects of different concentrations of NAA and IBA on the rooting of *D. kingianum*

NAA浓度/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	IBA浓度/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	株高/cm	叶片数/片	根数/条	最大根长/cm	平均根长/cm	鲜重增殖量/g
0	0	$5.03\pm 0.19^{\text{ab}}$	$4.23\pm 0.03^{\text{abc}}$	$8.78\pm 1.00^{\text{a}}$	$1.93\pm 0.20^{\text{ab}}$	$1.51\pm 0.22^{\text{a}}$	$4.26\pm 0.21^{\text{d}}$
0.25	0	$4.81\pm 0.19^{\text{ab}}$	$3.90\pm 0.20^{\text{abc}}$	$9.00\pm 0.61^{\text{a}}$	$1.76\pm 0.05^{\text{abc}}$	$1.34\pm 0.03^{\text{a}}$	$4.20\pm 0.11^{\text{d}}$
0.50	0	$4.47\pm 0.41^{\text{ab}}$	$4.10\pm 0.21^{\text{abc}}$	$11.23\pm 1.39^{\text{a}}$	$1.72\pm 0.12^{\text{bc}}$	$1.34\pm 0.17^{\text{a}}$	$4.16\pm 0.13^{\text{d}}$
1.00	0	$4.31\pm 0.54^{\text{ab}}$	$3.77\pm 0.18^{\text{bc}}$	$9.90\pm 1.94^{\text{a}}$	$1.69\pm 0.30^{\text{bc}}$	$1.32\pm 0.31^{\text{a}}$	$5.23\pm 0.11^{\text{c}}$
2.00	0	$4.24\pm 0.14^{\text{b}}$	$3.60\pm 0.06^{\text{c}}$	$9.76\pm 1.87^{\text{a}}$	$1.28\pm 0.12^{\text{c}}$	$1.28\pm 0.12^{\text{a}}$	$6.57\pm 0.09^{\text{a}}$
0	0.50	$5.27\pm 0.11^{\text{a}}$	$4.33\pm 0.20^{\text{abc}}$	$10.05\pm 0.89^{\text{a}}$	$2.01\pm 0.19^{\text{ab}}$	$1.85\pm 0.12^{\text{a}}$	$5.13\pm 0.06^{\text{c}}$
0	1.00	$5.16\pm 0.39^{\text{ab}}$	$4.43\pm 0.19^{\text{ab}}$	$10.73\pm 1.50^{\text{a}}$	$2.25\pm 0.18^{\text{ab}}$	$1.90\pm 0.20^{\text{a}}$	$5.38\pm 0.10^{\text{c}}$
0	2.00	$4.54\pm 0.24^{\text{ab}}$	$4.60\pm 0.26^{\text{a}}$	$13.00\pm 1.45^{\text{a}}$	$2.36\pm 0.23^{\text{a}}$	$1.83\pm 0.17^{\text{a}}$	$6.25\pm 0.15^{\text{ab}}$
0	4.00	$4.59\pm 0.15^{\text{ab}}$	$4.20\pm 0.49^{\text{abc}}$	$10.27\pm 0.69^{\text{a}}$	$2.27\pm 0.14^{\text{ab}}$	$1.74\pm 0.18^{\text{a}}$	$6.02\pm 0.08^{\text{b}}$

表5 活性炭对澳洲鸽子石斛生根壮苗的影响

Table 5 Effects of activated carbon on the rooting and transplantation of *D. kingianum*

活性炭/ $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$	株高/cm	叶片数/片	根数/条	平均根长/cm	鲜重增殖量/g
0	$3.85\pm 0.26^{\text{b}}$	$4.17\pm 0.08^{\text{b}}$	$10.33\pm 1.10^{\text{a}}$	$1.38\pm 0.03^{\text{a}}$	$8.77\pm 0.72^{\text{a}}$
0.25	$4.02\pm 0.08^{\text{b}}$	$4.50\pm 0.14^{\text{b}}$	$8.00\pm 0.50^{\text{b}}$	$1.64\pm 0.18^{\text{a}}$	$8.85\pm 0.73^{\text{a}}$
0.50	$4.13\pm 0.09^{\text{b}}$	$4.58\pm 0.08^{\text{b}}$	$7.17\pm 0.60^{\text{b}}$	$1.63\pm 0.17^{\text{a}}$	$8.85\pm 0.38^{\text{a}}$
1.00	$5.32\pm 0.20^{\text{a}}$	$4.92\pm 0.22^{\text{a}}$	$6.67\pm 0.36^{\text{b}}$	$1.62\pm 0.04^{\text{a}}$	$8.98\pm 1.10^{\text{a}}$
2.00	$5.15\pm 0.20^{\text{a}}$	$4.58\pm 0.22^{\text{b}}$	$6.42\pm 0.68^{\text{b}}$	$1.62\pm 0.15^{\text{a}}$	$11.04\pm 1.21^{\text{a}}$

表6 有机添加物对澳洲鸽子石斛生根壮苗的影响

Table 6 Effects of organic amendments on the rooting and seedling growth of *D. kingianum*

添加物	株高/cm	叶片数/片	根数/条	平均根长/cm	鲜重增量/g	生长状况
-	4.13±0.09 <sup>e</sup>	4.58±0.08 <sup>ab</sup>	7.17±0.60 <sup>bc</sup>	1.63±0.17 <sup>bcd</sup>	8.85±0.38 <sup>b</sup>	+++
5%椰子汁	4.14±0.58 <sup>e</sup>	5.17±0.30 <sup>a</sup>	7.25±0.50 <sup>bc</sup>	1.52±0.10 <sup>cd</sup>	8.92±1.03 <sup>b</sup>	+++
10%椰子汁	5.00±0.29 <sup>cdef</sup>	4.83±0.22 <sup>a</sup>	7.67±0.44 <sup>abc</sup>	1.71±0.16 <sup>bcd</sup>	10.84±1.52 <sup>ab</sup>	++++
15%椰子汁	5.43±0.15 <sup>c</sup>	4.58±0.08 <sup>ab</sup>	7.67±1.04 <sup>abc</sup>	1.75±0.04 <sup>bcd</sup>	11.36±1.30 <sup>ab</sup>	++++
20%椰子汁	6.19±0.18 <sup>a</sup>	4.50±0.14 <sup>ab</sup>	7.25±0.52 <sup>bc</sup>	1.75±0.10 <sup>bcd</sup>	13.06±2.14 <sup>ab</sup>	+++++
2.5%苹果泥	4.94±0.14 <sup>cdef</sup>	5.00±0.14 <sup>a</sup>	9.50±0.38 <sup>a</sup>	1.50±0.13 <sup>cd</sup>	9.38±1.37 <sup>ab</sup>	++++
5%苹果泥	4.65±0.09 <sup>defg</sup>	4.92±0.08 <sup>a</sup>	8.58±0.71 <sup>abc</sup>	1.61±0.11 <sup>bcd</sup>	10.44±0.30 <sup>ab</sup>	++++
10%苹果泥	4.60±0.29 <sup>efg</sup>	4.92±0.22 <sup>a</sup>	8.08±0.46 <sup>abc</sup>	1.64±0.05 <sup>bcd</sup>	10.20±0.32 <sup>ab</sup>	+++
15%苹果泥	4.46±0.08 <sup>fg</sup>	4.75±0.14 <sup>a</sup>	8.08±0.46 <sup>abc</sup>	1.89±0.08 <sup>bc</sup>	9.97±0.53 <sup>ab</sup>	+++
5%香蕉泥	5.21±0.21 <sup>cde</sup>	4.83±0.08 <sup>a</sup>	7.92±1.06 <sup>abc</sup>	1.42±0.09 <sup>d</sup>	9.60±1.35 <sup>ab</sup>	++++
10%香蕉泥	7.22±0.25 <sup>a</sup>	5.17±0.51 <sup>a</sup>	8.58±0.22 <sup>abc</sup>	2.53±0.11 <sup>a</sup>	12.61±1.31 <sup>ab</sup>	+++++
15%香蕉泥	6.52±0.17 <sup>a</sup>	4.83±0.22 <sup>a</sup>	9.08±0.68 <sup>ab</sup>	2.03±0.18 <sup>b</sup>	11.38±1.23 <sup>ab</sup>	+++++
20%香蕉泥	5.48±0.16 <sup>c</sup>	3.92±0.22 <sup>b</sup>	9.08±0.55 <sup>ab</sup>	1.49±0.11 <sup>cd</sup>	10.96±0.84 <sup>ab</sup>	++++
5%香蕉泥	6.21±0.18 <sup>a</sup>	5.25±0.38 <sup>a</sup>	6.58±0.68 <sup>c</sup>	1.91±0.27 <sup>bc</sup>	10.41±1.27 <sup>ab</sup>	+++++
10%香蕉泥	5.49±0.21 <sup>c</sup>	5.25±0.25 <sup>a</sup>	6.58±0.68 <sup>c</sup>	1.73±0.11 <sup>bcd</sup>	10.39±0.50 <sup>ab</sup>	++++
15%香蕉泥	5.39±0.15 <sup>c</sup>	4.75±0.14 <sup>a</sup>	6.75±0.14 <sup>c</sup>	1.65±0.01 <sup>bcd</sup>	12.29±1.36 <sup>ab</sup>	++++
20%香蕉泥	5.34±0.09 <sup>cd</sup>	4.58±0.22 <sup>ab</sup>	8.00±0.25 <sup>abc</sup>	1.49±0.10 <sup>cd</sup>	13.46±2.76 <sup>a</sup>	++++

+表示生长健壮程度,个数越多表示生长状况越好,下表同此。

表7 澳洲鸽子石斛在各基质中的成活率和生长状况

Table 7 The survival rate and growth status of *D. kingianum* in different substrates

基质组合	生长状况	成活率/%	基质组合	生长状况	成活率/%
植金石:松树皮(1:1)	++++	84.45±2.22 <sup>bcd</sup>	兰石:松树皮(1:1)	+++	97.77±2.22 <sup>ab</sup>
植金石:松树皮(1:2)	++++	80.00±0 <sup>efgh</sup>	兰石:松树皮(1:2)	+++	95.55±2.22 <sup>abc</sup>
植金石:松树皮(1:3)	++++	73.33±0 <sup>fg</sup>	兰石:松树皮(1:3)	+++	66.67±0 <sup>g</sup>
植金石:椰壳(1:1)	+++	93.33±3.85 <sup>abcd</sup>	兰石:椰壳(1:1)	+++	95.55±2.22 <sup>abc</sup>
植金石:椰壳(1:2)	+++	95.55±2.22 <sup>abc</sup>	兰石:椰壳(1:2)	+++	93.31±3.87 <sup>abcd</sup>
植金石:椰壳(1:3)	+++++	100.00±0 <sup>a</sup>	兰石:椰壳(1:3)	+++	86.67±0 <sup>bcd</sup>
植金石:泥炭土(1:1)	++++	86.67±0 <sup>bcd</sup>	兰石:泥炭土(1:1)	+++++	100.00±0 <sup>a</sup>
植金石:泥炭土(1:2)	+++++	95.55±2.23 <sup>abc</sup>	兰石:泥炭土(1:2)	+++++	100.00±0 <sup>a</sup>
植金石:泥炭土(1:3)	+++++	100.00±0 <sup>a</sup>	兰石:泥炭土(1:3)	++++	82.22±2.22 <sup>ef</sup>
泥炭土:松树皮(1:1)	+++	86.67±0 <sup>bcd</sup>	植金石	+++	83.33±9.62 <sup>c</sup>
泥炭土:松树皮(1:2)	+++	93.33±3.85 <sup>abcd</sup>	松树皮	+++	94.44±5.56 <sup>abc</sup>
泥炭土:松树皮(1:3)	+++	100.00±0 <sup>a</sup>	椰壳	+++	94.44±5.56 <sup>abc</sup>
泥炭土:椰壳(1:1)	+++	80.00±0 <sup>ef</sup>	水苔	+++	100.00±0 <sup>a</sup>
泥炭土:椰壳(1:2)	+++	66.67±0 <sup>g</sup>	泥炭土	+++	100.00±0 <sup>a</sup>
泥炭土:椰壳(1:3)	+++	66.67±0 <sup>g</sup>	兰石	++++	88.89±5.56 <sup>bcd</sup>

### 3 讨论

#### 3.1 不同植物生长调节剂对澳洲鸽子石斛繁殖方式的影响

石斛的组织培养通常有愈伤组织发生、类原球茎诱导和丛生芽增殖三种再生途径,多采用茎尖、茎节、幼嫩叶片等为外植体(Teixeira da Silva

等2015)。通过愈伤组织或类原球茎再生途径尽管比丛生芽增殖途径具有更快的繁殖速度,但在商业生产中较少应用,因为它在繁殖过程中会产生较高的变异,然而,它们是遗传转化的有效体系(Teixeira da Silva等2011)。在石斛的组织培养中,用得最多的植物生长调节剂是6-BA和NAA,其它生长调节剂还有KT、2,4-D、TDZ和IBA等。

6-BA、KT通过单独或和NAA结合主要用于石斛不定芽的诱导和增殖, NAA和IBA主要用于试管苗的生根培养, 2,4-D主要用于愈伤组织的诱导, 而TDZ主要用于类原球茎的诱导, 但不同种类需要的最适2,4-D和TDZ浓度不同(Chung等2005; Roy等2007; Sujjaritthurakarn和Kanchanapoom 2011; 贾梦雪等2013)。本研究实验结果也证明低浓度的2,4-D能有效的诱导出愈伤组织, 愈伤组织诱导率可达80%, 但高浓度下植株大量死亡。TDZ能有效地诱导出类原球茎, 同时能进行丛生芽增殖。在继续进行愈伤组织的继代培养时, 有部份愈伤组织直接出芽, 有部分会形成类原球茎, 出现芽-愈伤-类原球茎的片状联合体, 这种现象在兜兰和火焰兰的组织培养中也具有相似的结果(Wu等2012; Zeng等2013)。叶秀焱(1995)以石斛兰杂交种为材料诱导愈伤, 发现愈伤组织上形成类原球茎、芽分别来自愈伤组织的表层细胞和深层细胞, 两者都能进一步发育形成完整的幼苗。陈永勤(1994)也证明不定芽和类原球茎的联合体可以多次切割继代培养进行大量的无性繁殖。

### 3.2 有机添加物对澳洲鸽子石斛生根壮苗的影响

由于澳洲鸽子石斛的增殖速度较快, 生长的丛生芽较弱, 在生根时需要结合壮苗培养。在石斛属的组织培养研究中, 常用的有机添加物包括椰子汁、香蕉泥、土豆泥、苹果泥等, 它们能促进生根壮苗(贾梦雪等2013; Teixeira da Silva等2015; Hu等2016)。本文采用最常用的营养物椰子汁、苹果泥、香蕉泥、土豆泥进行实验, 在生根壮苗阶段这四种合适浓度的天然有机添加物对澳洲鸽子石斛无根幼苗得生根及其生长均具有促进作用, 这该结论与庾韦花等(2014)、蒋慧萍等(2009)、陈继敏等(2009)、曾宋君等(1998)的研究结果相似。但这几种有机添加物对生根壮苗效果不相同, 在实验中添加一定浓度香蕉、椰汁、土豆有助于苗的长高, 而添加苹果和土豆, 能使茎粗增大, 在后续研究工作中, 可尝试使用多种添加物组合同时促进试管苗既长高又长粗。

### 3.3 澳洲鸽子石斛移栽过程中基质的选择

石斛试管苗的移栽是其组织培养过程中的关键环节, 它需要从培养室中异养或半自养的环境转变为全自养的环境, 除环境湿度和温度会对移

栽成活率产生重要影响外, 使用的基质也会影响其成活率(Teixeira da Silva等2017)。已报道石斛试管苗的移栽基质包括水苔、松树皮、椰壳、泥炭土、兰石、锯木屑等, 不同的石斛种类最适的移栽基质不同。因此本研究采用了5种常用的基质水苔、松树皮、椰壳、泥炭土、兰石和适应兜兰移栽的基质植金石以及松树皮、椰壳、泥炭土、兰石和植金石之间的组合。在4组最佳的组合基质[兰石:泥炭土(1:1)、兰石:泥炭土(1:2)、植金石:椰壳(1:3)、植金石:泥炭土(1:3)]中澳洲鸽子石斛生长状况最佳。综合基质成本上考虑, 由于市场上德国进口泥炭土单价1.5元·升<sup>-1</sup>, 椰壳单价0.5元·升<sup>-1</sup>, 植金石单价10元·升<sup>-1</sup>, 兰石单价2元·升<sup>-1</sup>, 相比之下兰石:泥炭土(1:1)价格较为便宜, 适合于澳洲鸽子石斛的商业化生产。

### 参考文献(References)

- Adams PB, Lawson S (1995). *Dendrobium kingianum*: a unique Australian orchid. Rockhampton, Qld: Central Queensland University Press xii, 197
- Chen JM, Lan WQ, Chen XM, et al (2009). Effects of different organic amendments on rooting and transplantation of *Dendrobium*. North Horti, (3): 78–81 (in Chinese with English abstract) [陈继敏, 蓝伟泉, 陈旭敏等(2009). 不同添加物对石斛兰壮苗生根的影响. 北方园艺, (3): 78–81]
- Chen YQ (1994). Study on rapid propagation of *Dendrobium*. Guizhou Agri Sci, (2): 1–4 (in Chinese) [陈永勤(1994). 石斛兰快速无性繁殖的研究. 贵州农业科学, (2): 1–4]
- Chung HH, Chen JT, Chang WC (2005). Cytokinins induce direct somatic embryogenesis of *Dendrobium* 'Chiangmai Pink' and subsequent plant regeneration. *In Vitro Cell Dev Biol-Plant*, 41: 765–769
- Geng WH, Meng P, Zhang XJ, et al (2014). Establishment of a technique system of *in vitro* culture of *Dendrobium candidum* with buds and buds. J South Agri, 45 (10): 1831–1836 (in Chinese with English abstract) [庾韦花, 蒙平, 张向军等(2014). 铁皮石斛以芽繁芽离体培养技术体系的建立. 南方农业学报, 45 (10): 1831–1836]
- Habiba SU, Shimasaki K, Ahasan MM (2014a). 5-Amino-levulinic acid regulates growth and development of protocorm-like bodies (PLBs) in *Dendrobium kingianum* cultured *in vitro* Middle. East J Sci Res, 22: 279–283
- Habiba SU, Shimasaki K, Ahasan MM, et al (2014b). Effects of different light quality on growth and development of protocorm-like bodies (PLBs) in *Dendrobium kingianum* cultured *in vitro*. Bangl Res Pub J, 10 (2): 223–227
- Hu QM, Li YY, Huang YF, et al (2016). Aseptic seeding and



- rapid propagation of *Paphiopedilum helenae*. *Plant Physiol J*, 52 (9): 1443–1448 (in Chinese with English abstract) [胡琦敏, 李勇毅, 黄云峰等(2016). 海伦兜兰的无菌播种与快速繁殖. *植物生理学报*, 52 (9): 1443–1448]
- Jia MX, Xu J, Ye XJ, et al (2013). Establishment of rapid propagation system for elite variety of *Dendrobium nobile* Lindl. ‘Senhe 2006’ by tissue culture. *Plant Physiol J*, 49 (12): 1363–1367 (in Chinese with English abstract) [贾梦雪, 徐瑾, 叶香娟等(2013). 春石斛优良品种‘森禾2006’组培快繁体系的建立. *植物生理学报*, 49 (12): 1363–1367]
- Jiang HP, Geng WH, Zhang XJ, et al (2009). Industrialization of seed embryo culture of *Dendrobium candidum*. *Jiangsu Agri Sci*, (2): 72–75 (in Chinese with English abstract) [蒋慧萍, 庾韦花, 张向军等(2009). 铁皮石斛种子胚培养的产业化研究. *江苏农业科学*, (2): 72–75]
- Li ZJ, Zhang Y (2010). Introduction of popular ornamental *Dendrobium* in the world. *China Flowers Hortic*, (20): 33–35 (in Chinese) [李振坚, 张毓(2010). 世界流行石斛属观赏种介绍. *中国花卉园艺*, (20): 33–35]
- Murashige T, Skoog F (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant*, 15: 473–497
- Pražak R (2001). Influence of aluminium from  $AlCl_3$  on differentiation and growth of *Dendrobium kingianum* Bidwill in *in vitro* conditions. *Plant Soil Sci Plant Nutr*, 92: 178–179
- Pražak R (2014). Influence of cobalt concentration on the growth and development of *Dendrobium kingianum* Bidwill orchid in an *in vitro* culture. *J Elem*, 19 (2): 495–506
- Pražak R, Molas J (2015). Effect of copper concentration on micropropagation and accumulation of some metals in the *Dendrobium kingianum* Bidwill orchid. *J Elem*, 20 (3): 693–703
- Roy J, Naha S, Majumdar M, et al (2007). Direct and callus-mediated protocorm-like body induction from shoot-tips of *Dendrobium chrysotoxum* Lindl. (Orchidaceae). *Plant Cell Tiss Org Cult*, 90: 31–39
- Sujjarittharakarn P, Kanchanapoom K (2011). Efficient direct protocorm-like bodies induction of dwarf *Dendrobium* using thidiazuron. *Not Sci Biol*, 3: 88–92
- Teixeira da Silva JA, Cardoso JC, Dobránszki J, et al (2015). *Dendrobium* micropropagation: a review. *Plant Cell Rep*, 34: 671–704
- Teixeira da Silva JA, Chin DP, Van PT, et al (2011). Transgenic orchids. *Sci Hortic* 130: 673–680
- Teixeira da Silva JA, Hossain MM, Sharma M, et al (2017). Acclimatization of *in vitro*-derived *Dendrobium*. *Hortic Plant J*, 3 (3): 110–124
- Wang Y, Zhou JC, Zheng BQ, et al (2015). *Dendrobium*. Beijing. China Forestry Publishing House, 95–99 (in Chinese with English abstract) [王雁, 周进昌, 郑宝强等(2015). 石斛兰. 北京. 中国林业出版社, 95–99].
- Wood HP (2006). *The Dendrobiums*. A.R.G. Gantner Verlag, Ruggell, Leichenstein.
- Wu KL, Zeng SJ, Teixeira da Silva JA, et al (2012). Efficient regeneration of *Renanthera Tom Thumb* ‘Qilin’ from leaf explants. *Sci Hortic*, 135: 194–201
- Ye XL (1995). Tissue culture and cytological observation of *Dendrobium*. *Horti J*, 1 (1): 83–87 (in Chinese with English abstract) [叶秀麟(1995). 石斛兰组织培养和细胞学观察. *园艺学报*, 1 (1): 83–87]
- Zeng SJ, Chen SJ, Zhang JL, et al (1998). Embryo culture and rapid propagation of five *Dendrobium* species. *Hort J*, 1 (1): 75–80 (in Chinese with English abstract) [曾宋君, 程式君, 张京丽等(1998). 五种石斛兰的胚培养及其快速繁殖研究. *园艺学报*, 1 (1): 75–80]
- Zeng SJ, Wang J, Wu KL, et al (2013). *In vitro* propagation of *Paphiopedilum hangianum* Perner & Gruss, a rare and endangered lithophytic orchid. *Sci Hortic*, 151: 147–156



## Tissue culture and rapid propagation of *Dendrobium kingianum* Bidwill

MO Yuan-Qi<sup>1,2</sup>, ZHENG Feng<sup>1</sup>, FANG Lin<sup>1</sup>, LI Lin<sup>1</sup>, JIANG Nan<sup>3,\*</sup>, WU Kun-Lin<sup>1,\*</sup>,  
ZENG Song-Jun<sup>1,4,\*</sup>

<sup>1</sup>Key Laboratory of South China Agricultural Plant Molecular Analysis and Gene Improvement, South China Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650, China

<sup>2</sup>University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

<sup>3</sup>Dongguan Agricultural Science Research Center, Dongguan, Guangdong 523000, China

<sup>4</sup>Guangdong Provincial Key Laboratory of Applied Botany, South China Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650, China

**Abstract:** The tissue culture and rapid propagation system of *Dendrobium kingianum* Bidwill was established by using the pseudobulbs as explants. The results showed that the success rate of explants disinfection reached 92.5% with proper disinfection methods. MS supplemented with 5 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA was suitable for adventitious bud induction and proliferation for previous generations. The most suitable medium for the multiplication was 0.5 mg·L<sup>-1</sup> NAA and 2.0 mg·L<sup>-1</sup> KT and the multiplication rate was 6.96. MS medium supplemented with 0.25 mg·L<sup>-1</sup> 2,4-D was the most appropriate for callus induction and the callus induction rate was 80%. MS with 1.0 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA was most suitable for callus differentiation and 381.88 buds adventitious buds were induced for 1.0 g callus. MS supplemented with 2.0 mg·L<sup>-1</sup> IBA, 1 g·L<sup>-1</sup> activated carbon and 10% banana homogenate was suitable for the rooting and growth of cluster buds. On the mixture substrate of orchid stone: peat soil=1:1 (V:V), the cultured plantlets grew fast and the survival rate was 100%, which suggested that the substrate was suitable for transplanting in the commercial production.

**Key words:** *Dendrobium kingianum*; pseudobulbs; callus; protocorm-like-body; proliferation; growth culture; transplantation

Received 2018-01-05 Accepted 2018-04-08

This work was supported by the National Key Research & Development Program (2016YFC0503104), the Dongguan Social Development Program (2016108101001), the Innovation Project of Plant Germplasm Resources in Biological Resources Service Network Plan of the Chinese Academy of Sciences (ZSZC-008), and the Guangdong Modern Agricultural Industry Technology System Program (2016LM1142).

\*Co-corresponding authors: Jiang N (dgjn2@126.com), Wu KL (wkl8@scib.ac.cn), Zeng SJ (zengsongjun@scib.ac.cn).