

# 不同铵态氮/硝态氮比对 2 种开唇兰属植物组培苗生长的影响

罗剑飘<sup>1,2</sup>,谭嘉娜<sup>1,2</sup>,官锦燕<sup>1,2</sup>,黄海英<sup>1,2</sup>,陈月桂<sup>1,2</sup>,杨俊贤<sup>1,2</sup>,罗青文<sup>1,2</sup>  
(1.广东省生物工程研究所 广东省甘蔗改良与生物炼制重点实验室,广东 广州 510316;  
2.广东省生物工程研究所 湛江甘蔗研究中心,广东 湛江 524000)

**摘要:** 为了研究不同  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  比对金线兰 (*Anoectochilus roxburghii*) 和云南野生开唇兰属植物 (简称云南开唇兰) 组培苗生长的影响,设置  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  比例分别为 0/30、5/25、10/20、15/15、20/10、25/5、30/0、20/40、30/30 的 9 个处理组,接种二者的顶芽及茎段,分别培养 90、120 d 后测量其各项生长指标,以期为开唇兰属植物组培快繁培养基的优化及生产上合理施用氮肥提供理论依据。结果表明,不同  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  比对金线兰、云南开唇兰顶芽的茎高、节数、枯萎节数、展叶数、枯叶数、近茎尖第 1 片开展叶叶长及叶宽、基内根及气生根根数和根长均有显著或极显著影响,对二者茎段的萌芽数、芽高、节数、展叶数、倒二叶叶长和叶宽、茎粗、芽的根数均有显著或极显著影响。在氮素总含量为 30 mmol/L 的情况下,当  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  比例较低时,金线兰与云南开唇兰的顶芽均长势良好,茎叶正常,茎段萌芽率亦较高,芽体生长良好;随着  $\text{NH}_4^+$  浓度的增加,二者顶芽生长状态均呈逐渐下滑趋势,茎段萌芽率也逐渐降低,芽体长势变差,最后导致植株或茎段死亡。 $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  比例对 2 种开唇兰属植物植株形态有着重要影响。对金线兰顶芽生长及茎段萌芽较好的  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  比例分别为 0/30、5/25、10/20、20/40,对云南开唇兰较好的比例分别为 0/30、5/25。组培快繁时可在较佳  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  配比基础上添加其他有机或无机组分,以促进种苗生长;大田生产上,可以适当提高氮肥中的硝态氮比例。

**关键词:** 开唇兰; 金线兰; 铵态氮; 硝态氮; 组培  
**中图分类号:** S682.31      **文献标志码:** A      **文章编号:** 1004-3268(2019)11-0127-14

## Influence of Different Combination Ratios of Ammonium Nitrogen and Nitrate Nitrogen on Two Kinds of Tissue Culture Plantlets of *Anoectochilus*

LUO Jianpiao<sup>1,2</sup>, TAN Jiana<sup>1,2</sup>, GUAN Jinyan<sup>1,2</sup>, HUANG Haiying<sup>1,2</sup>,  
CHEN Yuegui<sup>1,2</sup>, YANG Junxian<sup>1,2</sup>, LUO Qingwen<sup>1,2</sup>  
(1. Guangdong Key Lab of Sugarcane Improvement and Bio-Refinery, Guangdong Bioengineering Institute, Guangzhou 510316, China; 2. Zhanjiang Sugarcane Research Center, Guangdong Bioengineering Institute, Zhanjiang 524000, China)

**Abstract:** In order to analyze the influence of different combination ratios of ammonium nitrogen and nitrate nitrogen on the tissue culture plantlets of *Anoectochilus roxburghii* and *Anoectochilus* plant from Yunnan, nine concentration gradients of  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  were set: 0/30, 5/25, 10/20, 15/15, 20/10, 25/5,

收稿日期:2019-06-20  
基金项目:广东省科学院建设国内一流研究机构行动专项资金项目(2019GDASYL-0105030);广东省科技计划项目(2016A020227013)  
作者简介:罗剑飘(1987-),女,广东阳春人,农艺师,硕士,主要从事药用植物组培研究。E-mail: moonlake123@126.com  
通信作者:罗青文(1988-),男,广东湛江人,助理研究员,主要从事药用植物组培研究。E-mail: 963153880@qq.com

30/0,20/40,30/30. Terminal buds and stem segments of the two plants' plantlets were inoculated in the medium and various growth indexes were measured after 90 and 120 days so as to provide references for the tissue culture, rapid propagation, and reasonable application of nitrogen fertilizer. The results showed that different combination ratios of  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  not only had significant or extremely significant impacts on the terminal buds reflecting in height, internode number, dead number of internodes, leave number, dead number of leaves, length and width of the first leaf near the stem apex, number and length of the roots in the medium and in the air, but also had significant or extremely significant impacts on the stem segments reflecting in budding number, height of buds, internode number, leave number, length and width of the second leaf above, stem diameter, root number of the buds. At the total nitrogen concentration of 30 mmol/L, when the combination ratios of  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  were relatively low, terminal buds of the two plants grew well, stem and leaves appeared normal, the budding rate of stem segments was high and the new buds grew well; while with the increasing combination ratio of  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ , terminal buds of the two plants grew worse and worse, the budding rate of stem segments became lower and lower and the new buds grew weaker and weaker. High combination ratios of  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  led to the death of the terminal buds and stem segments at last. The combination ratios of  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  had important effects on the plant morphology of *Anoectochilus*. The better combination ratios of  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  for the growing of *Anoectochilus roxburghii*'s terminal buds and for the shooting of its stem segments were 0/30, 5/25, 10/20, 20/40, while the better combination ratios of  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  for *Anoectochilus* plant from Yunnan were 0/30, 5/25. In the process of tissue culture, organic and inorganic nutrients can be added into the medium based on these better  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  ratios to promote the growth of seedlings; nitrate nitrogen ratios can be raised under field conditions.

**Key words:** *Anoectochilus*; *Anoectochilus roxburghii*; Ammonium nitrogen; Nitrate nitrogen; Tissue culture

开唇兰属 (*Anoectochilus*) 为多年生地生兰, 约有 40 余种, 分布于亚洲热带地区至大洋洲, 我国有 20 种, 2 个变种, 产于西南部至南部, 该属植物的部分种可全草药用<sup>[1]</sup>, 如金线兰 (*A. roxburghii*)、台湾银线兰 (*A. formosanus*)、恒春银线兰 (*A. koshunensis*) 等, 是我国传统珍稀药材<sup>[2]</sup>, 其提取物已被证明具有抑菌、抗病毒<sup>[3]</sup>、抗癌细胞<sup>[4]</sup>、抗氧化性<sup>[5]</sup>、降血压<sup>[6]</sup>等功效。除药用价值外, 开唇兰属植物许多种类的叶片上有着美丽的斑纹及天鹅绒般的光泽, 加之花型精巧奇特, 也是观赏价值较高的室内花卉珍品。由于该属植物的部分种具有较高的经济价值, 野生资源急剧减少, 其资源的保护和可持续利用研究显得尤为重要。目前, 对开唇兰属植物的研究主要集中于资源分布<sup>[7-8]</sup>、基因鉴定<sup>[9-10]</sup>、营养体结构<sup>[11-12]</sup>、组培快繁体系<sup>[13-14]</sup>、栽培基质和栽培模式<sup>[15-16]</sup>、肥料需求<sup>[17-18]</sup>、化学成分和药理学作用<sup>[6, 19-20]</sup>等方面。然而关于开唇兰属植物的肥料需求研究多注重肥料整体对植株生长的影响<sup>[17-18]</sup>, 对于其中矿质元素的形态研究甚少, 尤其是关于需求量较大的氮素形态对开唇兰属植物生长的影响报道较少。

氮素是植物体内许多重要有机化合物的组成成分,

对植物生命活动以及作物产量和品质均有极其重要的影响<sup>[21]</sup>。高等植物不能利用空气中的氮气, 仅能吸收化合态的氮。植物可以吸收氨基酸、天冬酰胺和尿素等有机氮化物, 但是植物的氮源主要是无机氮化物, 而无机氮化物中又以铵盐和硝酸盐为主<sup>[22]</sup>, 由于二者形态不同, 会对同一作物的生长产生不同的效应, 同时, 不同作物对同一形态氮素的吸收利用也存在差异。目前关于不同形态氮素对农作物生长的影响已有不少报道<sup>[21, 23-32]</sup>, 而对开唇兰属植物生长的影响报道较少, 仅朱美瑛<sup>[33]</sup>研究发现, 较高浓度的硝态氮有利于台湾银线兰株高的增长、根的生长、可溶性蛋白和干物质的积累, 但不利于叶片的生长。鉴于此, 以金线兰和云南野生开唇兰属植物 (简称云南开唇兰) 组培苗为材料, 研究不同硝态氮和铵态氮配比对其生长的影响, 为开唇兰属植物组培扩繁基本培养基的优化及生产上合理施用氮肥提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

供试材料分别为金线兰和云南开唇兰的组培

苗,由广东省生物工程研究所湛江甘蔗研究中心提供。其中,云南开唇兰组培苗由 2012 年于云南芒市野外发现的植株经组培扩繁得到,经过形态特征比对,初步确认为开唇兰属植物,其与金线兰组培苗的不同在于:株高较高(在 10 ~ 16 cm 不等,金线兰为 8 ~ 12 cm),叶片具网状脉,同样带有天鹅绒光泽,但较为稀疏,生长速度较金线兰快。

1.2 试验方法

1.2.1 试验处理及培养基配制方法 将 1/2MS 培养基作为基本培养基,其氮元素含量约为 30 mmol/L。利用硝酸钾、硝酸铵、氯化铵和氯化钾调节 1/2MS 培养基中的大量元素,使其成为  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  比例分别为 0/30、5/25、10/20、15/15、20/10、25/5、30/0 (钾离子浓度均调至 30 mmol/L)。为进一步探明  $\text{NH}_4^+$  在金线兰和云南开唇兰生长过程中所起的作用,增设  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  比例为 20/40 的处理(氮元素的

总含量调整为 60 mmol/L,钾离子浓度仍为 30 mmol/L),与上述氮元素总含量为 30 mmol/L 的各处理进行比较。此外,由于本试验采用了氯化铵和氯化钾调节各处理的  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  配比及维持钾离子恒定,个别处理引入了较高浓度的氯离子(最高浓度为 63 mmol/L)。为明确高浓度氯离子对植物生长的影响,增设氯离子浓度为 63 mmol/L、 $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  比例为 30/30 的对照(氮元素总含量及钾离子浓度均为 60 mmol/L),与前述  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  比例为 25/5、30/0(氮元素总含量为 30 mmol/L)的含较高浓度氯离子的试验处理进行比较。

各处理大量元素配制方法详见表 1。每个处理分别设顶芽培养基和茎段培养基,顶芽培养基中加入 NAA 0.2 mg/L,茎段培养基中加入 6-BA 0.5 mg/L、NAA 0.2 mg/L。此外,各处理均加入蔗糖 30 g/L、卡拉胶 6.8 g/L,控制 pH 值在 5.4。

表 1 大量元素配制方法  
Tab.1 Preparation method of major element solution

$\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ 配比 $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ ratio	硝酸钾 $\text{KNO}_3$	硝酸铵 $\text{NH}_4\text{NO}_3$	七水硫酸镁 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	磷酸二氢钾 $\text{KH}_2\text{PO}_4$	二水合氯化钙 $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	氯化铵 $\text{NH}_4\text{Cl}$	氯化钾 $\text{KCl}$
0/30	30		0.75	0.512	1.5		
5/25	20	5	0.75	0.512	1.5		10
10/20	10	10	0.75	0.512	1.5		20
15/15		15	0.75	0.512	1.5		30
20/10	10		0.75	0.512	1.5	20	20
25/5		5	0.75	0.512	1.5	20	30
30/0			0.75	0.512	1.5	30	30
20/40	20	20	0.75	0.512	1.5		10
30/30		30	0.75	0.512	1.5		60

注:1. 各化合物均先配制成 1.0 mol/L 溶液,再按照表中要求进行添加; 2. “空白”表示不需要添加。  
Note: 1. All the chemical compounds in the table are first dissolved in water to prepare a solution with 1.0 mol/L concentration, and then be added base on the table's requires. 2. The blanks in the table mean that this chemical compound is on need to be added.

1.2.2 接种方法及培养条件 选取处于壮苗阶段、生长良好、长势均一的组培苗为接种材料。顶芽取材:截取组培苗从顶端开始往下带有 1 个节的截段,金线兰顶芽截段约为 2.5 cm,云南开唇兰顶芽截段约为 3.5 cm。茎段取材:将组培苗的顶芽、叶片及根部去除,以茎上的节为单位,截成单个茎段,每个茎段长度约为 1.0 cm。

将顶芽垂直接入各处理顶芽培养基中,将茎段均匀平铺于各处理茎段培养基中。每瓶培养基接入 8 个外植体,每处理接种 5 瓶,重复 3 次。由于 2 种开唇兰属植物生长速度不同,接种 90 d 后记录云南开唇兰各处理植株的生长指标,接种 120 d 后记录金线兰各处理植株的生长指标。每处理随机选取

15 个(每重复选取 5 个)植株(或茎段)进行测量和记录。

培养条件:温度  $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$ ,光照强度 800 ~ 1 300 lx。

1.3 测量指标及方法

顶芽测量指标:植株死亡率(该处理死亡植株数/该处理总植株数  $\times 100\%$ )、茎高、节数、展叶数(指完全展开的叶片数,下同)、倒数第 2 节叶片(简称倒二叶)及近茎尖第 1 片开展叶叶长和叶宽(叶片基部离层至叶尖的距离为叶长,叶片最大宽幅为叶宽,用直尺测量,下同)、茎粗(选取植株中间部位的茎段用分度值为 0.02 mm 的游标卡尺测量,下同)、枯叶数、枯茎数(指一株植株中已经枯萎的茎

节数,下同)、基内生根率(该处理在培养基内生根的植株数/该处理总植株数 $\times 100\%$ )、基内根根数及基内根根长、气生根数及气生根根长。

茎段测量指标:萌芽率(该处理已经萌发新芽的茎段数/该处理总茎段数 $\times 100\%$ )、萌芽数(单个茎段上萌发的芽的个数)、芽高、芽节数(萌发的新芽具有的茎节数)、展叶数、倒二叶叶长和叶宽、茎粗、生根率(该处理中生根的植株数/该处理总植株数 $\times 100\%$ ,包含气生根及基内根)、根数及根长(包含气生根及基内根)。

#### 1.4 数据处理

试验数据用平均值 $\pm$ 标准误表示,采用 SPSS 20.0 进行方差分析,Duncan's 法进行多重比较,方差非齐性时采用非参数的 Kruskal-Wallis 秩和检验(多重比较选择“逐步降低”)。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同 $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ 配比对金线兰和云南开唇兰顶芽生长的影响

从表 2—3 可以看出,在氮元素总含量为 30 mmol/L 的情况下,不同  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  配比对金线兰、云南开唇兰顶芽的茎高、节数、枯萎节数、展叶数、枯叶数、近茎尖第 1 片开展叶叶长及叶宽、茎粗、基内根及气生根的根数和根长均有显著或极显著影响,对二者的倒二叶叶长和叶宽影响不显著。当  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  配比为 0/30 时,二者顶芽均长势良好,茎叶正常(图 1—2),表明二者在纯  $\text{NO}_3^-$  环境下亦可生长良好;随着  $\text{NH}_4^+$  浓度的增加, $\text{NO}_3^-$  浓度的减少,二者顶芽生长状态均呈逐渐下滑趋势,植株茎高呈现逐渐减小趋势,节数呈现先增加后减小趋势,枯萎节数呈现增加趋势,近茎尖第 1 片开展叶的叶长及叶宽逐渐减小,基内生根率逐步降低、基内根根数及基内根根长均呈现逐步减少趋势,气生根数及气生根根长呈现先增加后减少趋势,植株死亡率逐步增加或在后期突然增加,且金线兰叶片的抱茎状态愈趋明显(云南开唇兰的植株抱茎现象不明显),表明  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  比例对植株形态有着重要影响,一定范围内  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  比例的增加有助于节数的增长,但节间逐渐短缩,超出一定范围后节数减少,高  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  配比可导致二者的新生叶萎缩,同时不利于金线兰叶片舒展,逐渐增加的  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  比例对气生根生长有着先促进后抑制的效果,并逐步抑制植株基内生根,从而影响植株的生长,在  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  比例为

30/0 时,二者顶芽均几乎不能生长,茎节逐步枯萎,并导致植物死亡。

在  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  比例为 0/30、5/25、10/20 时金线兰植株基内生根率均为 100.00%,在比例为 15/15 时开始逐渐下降,在 25/5 时降至最低值 0, $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  比例为 0/30、5/25、10/20 时云南开唇兰基内生根率均低于金线兰,最高仅为 43.75%,在  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  比例为 10/20 时开始逐渐下降,在比例为 30/0 时降至最低值 0;在  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  比例为 20/10 时金线兰开始出现死亡植株,比例为 30/0 时植株死亡率达到最大值(83.33%),而云南开唇兰仅在比例为 30/0 时出现死亡植株,死亡率为 42.59%,远低于金线兰茎尖。表明相同的  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  比例对二者的作用并不完全一致, $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  比例较低时金线兰顶芽的基内生根能力强于云南开唇兰,但相对而言,云南开唇兰顶芽对高  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  比例的耐受能力强于金线兰。

当  $\text{NH}_4^+$  含量为 20 mmol/L 时,在  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  比例为 20/10 的情况下(氮元素总含量为 30 mmol/L),金线兰与云南开唇兰顶芽均生长不良,然而在  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  比例为 20/40 的情况下(氮元素总含量为 60 mmol/L),二者均生长良好(图 1—2),表明在  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  比例为 20/10 的情况下,并非是  $\text{NH}_4^+$  含量过大导致二者顶芽生长不良,而是  $\text{NO}_3^-$  含量过低影响了顶芽的正常生长。

在含有较高浓度的氯离子(63 mmol/L)处理中,当  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  比例为 30/0 时,金线兰及云南开唇兰的植株几乎完全枯萎死亡(图 1—2),而当  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  比例为 30/30 时,二者植株生长状况尚可,叶色茎色正常,并未出现死亡现象(图 3),除倒二叶长宽明显小于其他处理外,枯萎节数、枯叶数、近茎尖第 1 片开展叶叶长及叶宽、茎粗、基内生根率、基内根根数及基内根根长等生长指标均优于  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  比例为 20/10 的处理或与其相当。表明金线兰及云南开唇兰顶芽对较高浓度的氯离子有一定的耐受能力, $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  比例为 30/0 时,高浓度的氯离子并非是引起植株全部死亡的因素。

对将要移栽的组培苗而言,植株茎、叶及基部根的健壮程度将影响到后续移栽的成活率,综合植株各生长指标及生长形态,对金线兰顶芽生长较好的  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  比例为 0/30、5/25、10/20、20/40;对云南开唇兰顶芽生长较好的  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  比例为 0/30、5/25, $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  比例为 20/40 时植株较为健壮,但其生根率较低,因而不宜采用。

表 2 不同  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  配比对金线兰顶芽生长的影响

Tab. 2 Influences of different combination ratios of  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  on *A. roxburghii*'s terminal buds

指标 Index	$\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ 配比 $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ ratio									
	0/30	5/25	10/20	15/15	20/10	25/5	30/0	20/40	30/30	
茎高/cm Stem height	4.88 ± 0.21aA	4.67 ± 0.18abA	4.87 ± 0.13aA	4.40 ± 0.03bA	3.48 ± 0.09cB	2.57 ± 0.05dC	-	4.55 ± 0.17abA	3.52 ± 0.07cB	
节数/个 Internode number	4.80 ± 0.20bcABC	5.40 ± 0.42abAB	5.53 ± 0.18abAB	5.60 ± 0.20aA	4.07 ± 0.18dCD	3.53 ± 0.29dD	-	5.00 ± 0.00abcABC	4.53 ± 0.13cBC	
枯萎节数/个 Number of dead internodes	0dC	0dC	0dC	0.73 ± 0.07cABC	1.33 ± 0.07bAB	2.27 ± 0.07aA	-	0.07 ± 0.07dABC	0.07 ± 0.07dABC	
展叶数/片 Leave number	6.27 ± 0.07aA	6.33 ± 0.18aA	6.40 ± 0.12aA	6.73 ± 0.29aA	5.27 ± 0.24bC	5.00 ± 0.35bC	-	6.20 ± 0.20aAB	5.33 ± 0.07bBC	
枯叶数/片 Number of dead leaves	0.00 ± 0.00eC	0.47 ± 0.07bcABC	0.13 ± 0.07deBC	0.40 ± 0.00bcdABC	0.67 ± 0.07bAB	1.53 ± 0.07aA	-	0.07 ± 0.07eBC	0.27 ± 0.07cdeABC	
倒二叶叶长/cm Length of the second leave above	2.47 ± 0.07abAB	2.45 ± 0.07abAB	2.56 ± 0.07aAB	2.51 ± 0.09abAB	2.47 ± 0.06abAB	2.70 ± 0.13aA	-	2.24 ± 0.15bB	1.74 ± 0.04eC	
倒二叶叶宽/cm Width of the second leave above	1.83 ± 0.10abA	1.83 ± 0.09abA	1.85 ± 0.03aA	1.86 ± 0.07aA	1.87 ± 0.06aA	1.93 ± 0.05aA	-	1.56 ± 0.17bB	1.23 ± 0.02cB	
近茎尖第 1 片开展叶叶长/cm Length of the first leaf near the stem apex	1.89 ± 0.05aA	1.71 ± 0.02bcAB	1.69 ± 0.04cAB	1.39 ± 0.05dC	0.97 ± 0.03eD	0.96 ± 0.00eD	-	1.84 ± 0.06abA	1.52 ± 0.07dBC	
近茎尖第 1 片开展叶叶宽/cm Width of the first leaf near the stem apex	1.46 ± 0.00aA	1.30 ± 0.03bcB	1.27 ± 0.04cB	1.00 ± 0.05dC	0.76 ± 0.02eD	0.68 ± 0.03eD	-	1.39 ± 0.04abAB	1.03 ± 0.04dC	
茎粗/mm Stem diameter	2.69 ± 0.01bcdBCDE	2.60 ± 0.08cdCDE	2.76 ± 0.20bcBCD	2.90 ± 0.07abAB	2.86 ± 0.08bcAB	2.41 ± 0.09eE	-	2.52 ± 0.08deDE	3.08 ± 0.04aA	
基内生根率/% Rooting rate of the roots in the medium	100.00 ± 0.00aAB	100.00 ± 0.00aAB	100.00 ± 0.00aA	75.00 ± 1.15bABCD	12.50 ± 1.03cBCD	0dD	0dD	100.00 ± 0.00aA	87.78 ± 6.19aABC	
基内生根数/条 Number of the roots in the medium	1.67 ± 0.18aA	1.80 ± 0.00aA	1.53 ± 0.18aAB	1.00 ± 0.12bB	0.33 ± 0.13cC	0cC	-	1.93 ± 0.18aA	1.06 ± 0.13bB	
基内根根长/cm Length of the roots in the medium	1.89 ± 0.06aA	1.45 ± 0.16bA	1.64 ± 0.09abA	0.79 ± 0.08cB	0.61 ± 0.07cB	-	-	1.67 ± 0.12abA	0.59 ± 0.05cB	

续表 2 不同  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  配比对金线兰顶芽生长的影响  
Influences of different combination ratios of  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  on *A. roxburghii*'s terminal buds

指标 Index	$\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ 配比 $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ ratio							
	0/30	5/25	10/20	15/15	20/10	25/5	30/0	30/30
气生根数/条 Number of the roots in the air	1.67 ± 0.13dC	2.07 ± 0.07cBC	2.27 ± 0.07bcB	3.27 ± 0.07aA	2.47 ± 0.07bB	0.67 ± 0.07eD	-	3.00 ± 0.12aA
气生根根长/cm Length of the roots in the air	0.69 ± 0.02dDE	0.91 ± 0.09bcBC	0.70 ± 0.03dCDE	1.00 ± 0.02bB	0.77 ± 0.06cdCD	0.40 ± 0.05eF	-	0.53 ± 0.05eEF
植株死亡率/% Death rate of plants	0dD	0dD	0dD	0dD	3.57 ± 1.03cABC	25.00 ± 1.20bAB	83.33 ± 1.20aA	0dD
生长情况描述 Description of the growing conditions	植株生长良好, 叶片开展, 大小正常, 无萎缩现象, 茎叶颜色正常	植株生长良好, 叶片多呈抱茎状态, 不开展, 倒数第 1 片叶有发黄或枯萎现象	植株生长较好, 部分植株叶片呈抱茎状态, 不开展, 倒数第 1 片叶有枯萎现象	与培养基接触部位出现枯萎叶片和茎节, 叶多呈抱茎状态, 部分植株顶部叶片萎缩, 基内根短, 多弯曲成小钩状	生长较差, 顶叶萎缩, 黄叶较多, 顶端开展叶下往上逐节枯萎, 基内根大多极短, 且多为死根	整体长势差, 黄叶较多, 顶端开展叶萎缩严重且发白, 基部茎节有枯萎现象	未见明显死亡, 大部分死亡, 仅剩下植株大多仅剩茎尖 1~2 片萎缩叶	植株形态尚正常, 叶片开展, 茎叶颜色正常, 无萎缩现象, 茎节仅接触培养基的部位有枯萎

注: 1. 同行不同大、小写字母分别表示在  $\alpha = 0.01, 0.05$  水平下差异显著; 2. “-”表示由于植株生长不良, 该指标所对应器官没有长出, 无法测量。下同。  
Note: 1. In the same row, different capital letters and lowercase letters represent significant difference at 1% level and 5% level ( $\alpha = 0.01, 0.05$ ) respectively. 2. “-” in the table means that because of the plants' poor growth, the organ didn't grow and the index of the organ couldn't be measured. The letters and “-” below have the same meaning.

表 3 不同  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  配比对云南开唇兰顶芽生长的影响  
Influences of different combination ratios of  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  on the terminal buds which is from *Anoectochilus* plant from Yunnan

指标 Index	$\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ 配比 $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ ratio							
	0/30	5/25	10/20	15/15	20/10	25/5	30/0	30/30
茎高/cm Stem height	7.94 ± 0.14bAB	7.82 ± 0.16bcAB	7.44 ± 0.50cC	6.44 ± 0.31dD	5.99 ± 0.12dD	5.09 ± 0.14eE	-	4.37 ± 0.11fE
节数/个 Internode number	4.40 ± 0.12cBC	4.73 ± 0.13bcAB	4.80 ± 0.12abAB	4.60 ± 0.20bcB	4.00 ± 0.12dC	3.13 ± 0.07eD	-	3.20 ± 0.00eD
枯萎节数/个 Number of dead internodes	0.60 ± 0.00cAB	0.07 ± 0.07cB	0.27 ± 0.18cB	1.00 ± 0.00bAB	1.73 ± 0.07aA	1.87 ± 0.13aA	-	0.27 ± 0.07cB
展叶数/片 Leave number	5.47 ± 0.07bBC	5.93 ± 0.07aA	6.07 ± 0.18aA	5.27 ± 0.07bCD	5.00 ± 0.12cD	4.27 ± 0.07dE	-	4.20 ± 0.12dE
枯叶数/片 Number of dead leaves	0.07 ± 0.07cB	0.07 ± 0.07cB	0.47 ± 0.18bB	0.40 ± 0.12bcB	0.33 ± 0.07bcB	1.53 ± 0.18aA	-	0.33 ± 0.07bcB
倒二叶叶长/cm Length of the second leave above	2.17 ± 0.03aA	2.13 ± 0.13 aA	2.08 ± 0.07aA	2.10 ± 0.04aA	2.17 ± 0.01aA	2.15 ± 0.04aA	-	1.83 ± 0.03bB

续表 3 不同  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  配比对云南开唇兰属植物组培苗生长的影响

Influences of different combination ratios of  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  on the terminal buds which is from *Anoectochilus* plant from Yunnan

指标	$\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ 配比 $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ ratio							
	0/30	5/25	10/20	15/15	20/10	25/5	30/0	30/30
倒二叶叶宽/cm Width of the second leave above	1.53 ± 0.08aA	1.47 ± 0.08 aA	1.45 ± 0.04aA	1.43 ± 0.02aA	1.52 ± 0.00aA	1.53 ± 0.02aA	-	1.50 ± 0.05aA 1.19 ± 0.05bB
近茎尖第 1 片开 展叶叶长/cm Length of the first leaf near the stem apex	1.99 ± 0.01aA	1.79 ± 0.05bA	1.45 ± 0.08cB	1.32 ± 0.02cdBC	1.21 ± 0.02dC	1.28 ± 0.07dBC	-	1.79 ± 0.04bA 1.23 ± 0.06dC
近茎尖第 1 片开 展叶叶宽/cm Width of the first leaf near the stem apex	1.51 ± 0.03aA	1.31 ± 0.04bB	1.09 ± 0.06cC	0.96 ± 0.02dCD	0.90 ± 0.01dD	0.89 ± 0.05dD	-	1.29 ± 0.04bB 0.93 ± 0.05dCD
茎粗/mm Stem diameter	2.02 ± 0.05bAB	2.05 ± 0.08bAB	1.91 ± 0.06bBC	1.93 ± 0.06 bBC	2.02 ± 0.01bAB	2.22 ± 0.05aA	-	1.89 ± 0.04 bBC 1.72 ± 0.04cC
基内生根率/% Rooting rate of the roots in the medium	43.75 ± 0.00abAB	43.75 ± 1.20aA	29.17 ± 0.80abcABC	21.88 ± 0.90cdABCD	7.14 ± 1.03eCD	12.50 ± 1.03dBCD	0fD	25.00 ± 0.90bcdABC 31.11 ± 5.88bcdABC
基内根数/条 Number of the roots in the medium	0.80 ± 0.12aA	0.47 ± 0.07abAB	0.33 ± 0.13bcAB	0.20 ± 0.12bcB	0.07 ± 0.07cB	0.20 ± 0.20bcB	-	0.13 ± 0.07bcB 0.27 ± 0.07 bcB
基生根根长/cm Length of the roots in the medium	2.01 ± 0.09ab	2.12 ± 0.26a	1.00 ± 0.15ab	0.57 ± 0.07b	0.53 ± 0.09b	0.63 ± 0.19b	-	0.57 ± 0.07b 0.55 ± 0.08b
气生根数/条 Number of the roots in the air	2.53 ± 0.13cC	3.13 ± 0.07bAB	3.07 ± 0.07bB	2.93 ± 0.07bBC	2.47 ± 0.18cC	1.27 ± 0.18eD	-	3.60 ± 0.12aA 1.67 ± 0.07dD
气生根根长/cm Length of the roots in the air	1.85 ± 0.06bB	2.45 ± 0.11aA	2.43 ± 0.10aA	1.81 ± 0.03bB	1.19 ± 0.03cC	0.67 ± 0.16dD	-	2.41 ± 0.17aA 0.68 ± 0.06 dD
植株死亡率/% Death rate of plants	0bB	0bB	0bB	0bB	0bB	0bB	42.59 ± 0.92aA	0bB 0bB
生长情况描述 Description of the growing conditions	生长良好,无萎缩 现象,茎叶颜色正 常,叶脉有光泽, 倒数第 1 节部位 有黄化现象	生长良好,无萎缩 现象,茎叶颜色正 常	生长较好,茎叶颜 色正常	生长较好,部分叶 片卷曲,顶端叶片 有轻微萎缩现象, 基部有枯萎现象	长势一般,顶端叶 片萎缩明显,部分 植株颜色偏黄,基 部有枯萎现象	长势不良,下部明 显枯萎,叶尖萎 缩,叶片卷曲,部 分茎尖叶片出现 花斑、枯萎现象, 叶色发白	未见明显生长且 大部分死亡,未死 亡植株大多仅剩 茎尖 1~2 片萎缩 叶	形态正常,叶片 开展,茎叶颜色 正常,无萎缩 叶,无叶片抱茎 现象,仅接触培 养基的茎节部 位有枯萎

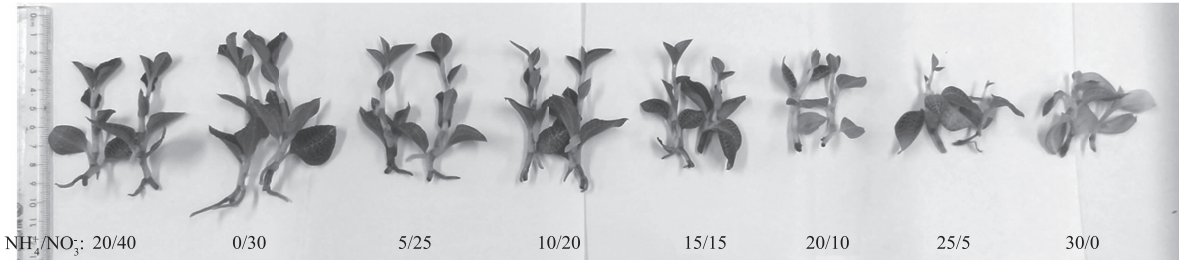


图 1 金线兰顶芽生长情况  
Fig. 1 Growing conditions of *Anoectochilus roxburghii*'s apical buds

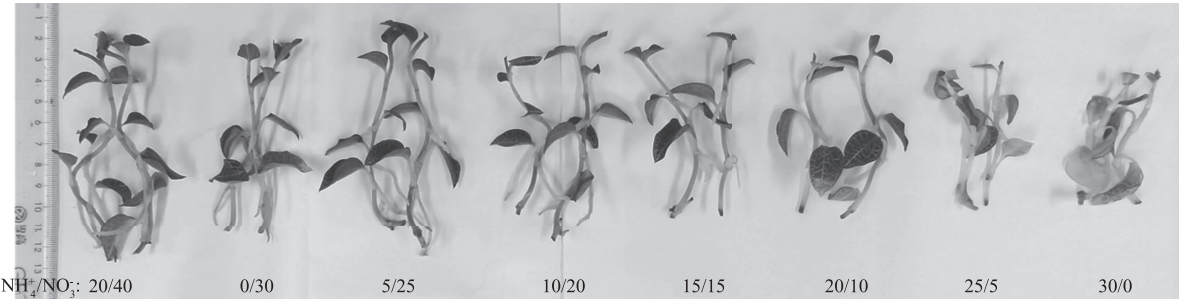


图 2 云南开唇兰顶芽生长情况  
Fig. 2 Growing conditions of the apical buds which is from *Anoectochilus* plant from Yunnan



从左到右分别为金线兰顶芽、金线兰茎段、云南开唇兰顶芽、云南开唇兰茎段  
The materials form left to right are *A. roxburghii*'s apical buds, and stem segments, apical buds and stem segments of *Anoectochilus* plant from Yunnan

图 3 高浓度氯离子对照 ( $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  30/30) 金线兰及云南开唇兰生长情况  
Fig. 3 Growing conditions of *A. roxburghii* and *Anoectochilus* plant from Yunnan under the control treatment of high content chlorine ion ( $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  30/30)

2.2 不同  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  配比对金线兰和云南开唇兰茎段萌芽的影响

从表 4—5 可以看出,当  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  配比为 0/30、5/25、10/20 时,金线兰和云南开唇兰的茎段均有较高的萌芽率,且云南开唇兰茎段的萌芽率比金线兰更高些。当  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  配比为 15/15 时,二者茎段的萌芽率均开始出现较大幅度下降,其中金线兰的降幅更大,超过 50%。当配比为 25/5 时,二者茎段的萌芽率均降为 0。当  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  配比为 20/40 时,云南开唇兰茎段仍然有较高的萌芽率,而金线兰茎段的萌芽率出现较明显下降,表明不同  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  配比对二者茎段的萌芽率有较大影响,较低的  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  配比适合二者茎段萌芽,同时云南开唇兰茎段对

$\text{NH}_4^+$  的耐受程度高于金线兰,且可以适应氮元素总量较高的培养基。

此外,在氮元素总含量为 30 mmol/L 的情况下,不同  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  配比对金线兰、云南开唇兰茎段的萌芽数、芽高、芽节数、展叶数、倒二叶叶长和叶宽、茎粗、芽的根数均有显著或极显著影响,对云南开唇兰芽的根长有显著影响,而对金线兰芽的根长没有显著影响。金线兰在  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  配比为 20/10 时,云南开唇兰在配比为 15/15 时,茎段萌芽数均下降到较低水平,表明较高的  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  配比不利于二者芽的增殖。随着  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  配比的增加,金线兰和云南开唇兰的芽体生长指标变化趋势并不完全一致:金线兰的芽高、芽节数、展叶数、倒二叶叶长和叶



表 4 不同  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  配比对金线兰茎段萌芽的影响

Tab. 4 Influences of different combination ratios of  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  on *A. roxburghii*'s stem segments

指标 Index	$\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ 配比 $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ ratio										
	0/30	5/25	10/20	15/15	20/10	25/5	30/0	20/40	30/30		
萌芽率/% Budding rate	93.75 ± 0.00aAB	94.79 ± 3.76aA	93.75 ± 1.80aA	36.46 ± 8.90bcABCD	3.13 ± 1.80cdBCD	0eD	0eD	67.71 ± 4.54abABC	25.00 ± 0.00bcABCD		
萌芽数/个 Budding number	1.33 ± 0.07bB	1.40 ± 0.00bB	1.00 ± 0.12cC	1.22 ± 0.02bcBC	0.13 ± 0.07dD	-	-	2.00 ± 0.12aA	0.07 ± 0.07dD		
芽高/cm Height of buds	1.89 ± 0.07abcAB	2.05 ± 0.04abAB	1.82 ± 0.03bcAB	1.44 ± 0.15cdAB	0.40 ± 0.20dB	-	-	2.08 ± 0.02aA	0.57 ± 0.03dB		
芽节数/个 Internode number	2.87 ± 0.13bcBC	3.15 ± 0.08abAB	2.93 ± 0.07bABC	2.55 ± 0.16cC	-	-	-	3.42 ± 0.10aA	-		
展叶数/片 Leave number	1.87 ± 0.07aA	1.80 ± 0.12aA	1.80 ± 0.00aA	1.08 ± 0.08bB	-	-	-	1.73 ± 0.13aA	-		
倒二叶叶长/cm Length of the second leave above	1.35 ± 0.04aA	1.29 ± 0.02aA	1.23 ± 0.09aA	0.81 ± 0.11bB	-	-	-	1.21 ± 0.05aA	-		
倒二叶叶宽/cm Width of the second leave above	1.05 ± 0.02aA	1.01 ± 0.02aA	0.95 ± 0.08aA	0.53 ± 0.10bB	-	-	-	0.97 ± 0.05aA	-		
茎粗/mm Stem diameter	2.36 ± 0.05bBC	2.80 ± 0.10aA	2.66 ± 0.06aAB	2.30 ± 0.01bC	-	-	-	2.37 ± 0.10bBC	-		
生根率/% Rooting rate	57.78 ± 6.19a	73.85 ± 6.38a	68.90 ± 0.65a	9.21 ± 4.61ab	0b	-	-	69.86 ± 8.56a	-		
根数/条 Root number	1.13 ± 0.13aA	1.33 ± 0.07aA	1.07 ± 0.07aA	0.50 ± 0.10bB	-	-	-	1.27 ± 0.13aA	-		
根长/cm Length of roots	0.35 ± 0.05bAB	0.35 ± 0.04bAB	0.30 ± 0.01bB	0.31 ± 0.04bB	-	-	-	0.50 ± 0.03aA	-		
芽体生长情况描述 Description of the buds	芽体健壮,无萎缩现象,茎叶颜色正常	芽体较健壮,无萎缩现象,茎叶颜色正常	芽体细长,茎尖叶片轻微萎缩,茎叶颜色正常	芽体瘦弱,茎尖叶片萎缩,茎叶颜色正常	大部分茎段死亡,个别茎段萌发白色小芽,无茎节,无开展叶	茎段全部死亡,无芽点萌发	茎段全部死亡,无芽点萌发	芽体健壮,丛生芽较多,且有类原球茎生成,茎尖叶片轻微萎缩,茎叶颜色正常	大部分茎段死亡,个别茎段萌发白色小芽,且在培养后期能正常生长		

表 5 不同  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  配比对云南开唇兰茎段萌芽的影响

Tab. 5 Influences of different combination ratios of $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ on the stem segments which is from <i>Anoectochilus</i> plant from Yunnan											
指标	$\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ 配比 $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$ ratio										
Index	0/30	5/25	10/20	15/15	20/10	25/5	30/0	20/40	30/30		
萌芽率/% Budding rate	100.00 ± 0.00aA	98.89 ± 1.11aAB	98.89 ± 1.11aAB	70.00 ± 0.00bABC	40.33 ± 1.93cABCD	0eD	0eD	100.00 ± 0.00aA	25.71 ± 0.06dBCD		
萌芽数/个 Budding number	0.87 ± 0.07abAB	0.80 ± 0.12abAB	1.00 ± 0.12aA	0.27 ± 0.07cCD	0.33 ± 0.07cCD	-	-	0.60 ± 0.12bBC	0.20 ± 0.00cD		
芽高/cm Height of buds	2.52 ± 0.06bB	3.33 ± 0.13aA	2.49 ± 0.08bB	1.33 ± 0.08dC	0.27 ± 0.01fD	-	-	2.23 ± 0.02cB	0.57 ± 0.06eD		
芽节数/个 Internode number	2.60 ± 0.00bAB	2.87 ± 0.07aA	2.60 ± 0.12bAB	2.00 ± 0.00cC	-	-	-	2.53 ± 0.07bB	-		
展叶数/片 Leave number	2.13 ± 0.07a	1.73 ± 0.18ab	1.27 ± 0.13b	1.40 ± 0.23b	-	-	-	1.73 ± 0.18ab	-		
倒二叶叶长/cm Length of the second leave above	1.75 ± 0.10bB	2.17 ± 0.05aA	1.75 ± 0.05bB	1.08 ± 0.09cC	-	-	-	1.71 ± 0.07bB	-		
倒二叶叶宽/cm Width of the second leave above	1.42 ± 0.07abAB	1.53 ± 0.03aA	1.18 ± 0.05cB	0.55 ± 0.02dC	-	-	-	1.29 ± 0.12bcAB	-		
茎粗/mm Stem diameter	1.98 ± 0.13ab	2.04 ± 0.04ab	1.77 ± 0.04b	2.13 ± 0.04a	-	-	-	1.83 ± 0.02ab	-		
生根率/% Rooting rate	66.67 ± 3.33a	67.78 ± 4.01a	62.22 ± 7.29a	3.33 ± 0.00b	0c	-	-	48.89 ± 2.22a	-		
根数/条 Root number	1.00 ± 0.00aA	1.20 ± 0.00aA	1.20 ± 0.12aA	0.33 ± 0.07bB	-	-	-	1.20 ± 0.12aA	-		
根长/cm Length of roots	0.69 ± 0.10bcAB	0.93 ± 0.06abA	0.91 ± 0.10abA	0.40 ± 0.13cB	-	-	-	1.07 ± 0.06aA	-		
芽体生长情况描述 Description of the buds	芽体形态正常,稍瘦弱,茎叶颜色正常,新生根短小,根毛丰富	芽体形态正常、健壮,茎叶颜色正常,根健壮	芽体较瘦弱,倒二叶大多未展开,叶片大多绿中带白色,根毛丰富	芽体瘦弱,顶部及倒二叶卷曲,少有开展叶,个别茎段仅萌发白色芽点	98% 以上的芽体仅为 1 个小白点,无茎节,无开展叶	99% 茎段死亡,绿死亡	99% 茎段死亡	芽体形态正常,较瘦弱,叶片颜色呈黄绿色,且在培养后期能正常生长	部分茎段萌生白色小芽,且在培养后期能正常生长		

宽均呈现缩减趋势,而茎粗则呈现先增大后减小的趋势;云南开唇兰的芽高、芽节数、倒二叶叶长呈现先增加后缩减的趋势,展叶数、倒二叶叶宽则呈现缩减趋势,茎粗变化规律不明显,可见不同  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  配比对金线兰和云南开唇兰芽体的形态建成有着较为重要的影响。当  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  配比为 15/15 时,金线兰茎段的芽节数、展叶数、倒二叶叶长及叶宽,云南开唇兰茎段的芽高、芽节数、倒二叶叶长及叶宽均显著缩减,二者的芽体生长状态均出现较明显的萎缩现象,而当  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  比例进一步加大时,二者芽体萎缩愈趋严重,大多芽体仅为一个小白点,表明较高的  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  比例不利于二者芽体的正常发育,甚至会抑制芽体的发育(图 4—5)。金线兰和云南开唇兰茎段的芽体生根率均随着  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  比例的增加呈现先增加后减小的趋势,比例为 5/25 时,二者的生根率最高,芽的根数和根长也较大,此后逐渐下降;在比例为 15/15 时,二者生根率及根数均出现明显下降趋势;在比例为 20/10 时生根率已降为 0,表明较低的  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  比例有利于芽体生根,而较高的  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  比例则对生根不利。

在  $\text{NH}_4^+$  含量为 20 mmol/L、 $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  比例为 20/10 的情况下(氮元素总含量为 30 mmol/L),金线兰与云南开唇兰的茎段均较难萌发新芽,然而在

$\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  比例为 20/40 的情况下(氮元素总含量约为 60 mmol/L),金线兰及云南开唇兰的茎段均萌芽顺利,且芽体能正常生长(图 4—5),表明在  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  比例为 20/10 的情况下,并非是  $\text{NH}_4^+$  的含量过大导致二者茎段萌芽困难,而是  $\text{NO}_3^-$  的含量过低影响了茎段的正常萌芽。

在含有较高浓度的氯离子(63 mmol/L)处理中,当  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  比例为 30/0 时,金线兰及云南开唇兰的茎段完全枯萎死亡,不能萌发新芽,而当  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  比例为 30/30 时,二者的茎段虽有死亡现象,但萌芽率均在 25.00% 左右,优于  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  比例为 25/5 的处理。表明金线兰及云南开唇兰茎段对较高浓度的氯离子有一定的耐受能力(图 3), $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  比例为 30/0 时,茎段完全不能萌发是由于高  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  比例所导致。

对用于增殖的茎段而言,其萌芽率、萌芽数、萌发芽体的健壮程度都将影响到后续增殖的效率,而根部的生长对增殖影响不大。综合芽体各指标及生长形态,对金线兰茎段萌芽较好的  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  比例为 0/30、5/25、10/20、20/40;对云南开唇兰茎段萌芽较好的  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  比例为 0/30、5/25,比例为 10/20、20/40 时芽体均较为瘦弱,不宜采用。

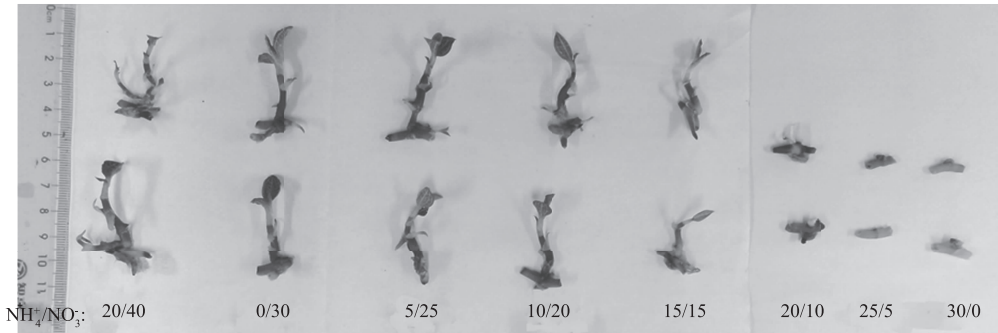


图 4 金线兰茎段萌芽及生长情况

Fig. 4 Budding and its growing conditions of *A. roxburghii*'s stem segments

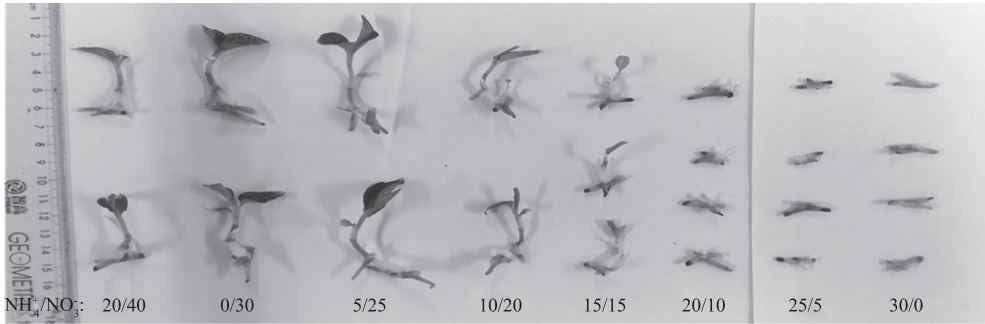


图 5 云南开唇兰茎段萌芽及生长情况

Fig. 5 Budding and its growing conditions of the stem segments which is from *Anoectochilus* plant from Yunnan

### 3 结论与讨论

在一定范围内,氯元素能促进植物的生长发育;但浓度过高时,则抑制植物的正常生长,产生氯毒,导致减产甚至绝收<sup>[34-36]</sup>。本试验个别处理( $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  比例为 25/5、30/0 时)引入了较高浓度的氯离子。高浓度氯离子对照处理(氯离子浓度为 63 mmol/L,  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  比例为 30/30)显示,虽然高浓度氯离子对金线兰与云南开唇兰的生长造成了一定影响,但二者顶芽仍可保持较长时间的生长,茎段也有一定的萌芽率;而 2 种植物在含有相同高浓度氯离子的全  $\text{NH}_4^+$  状态(氯离子浓度为 63 mmol/L,  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  比例为 30/0)下则完全不能生长,植物全部死亡,表明金线兰与云南开唇兰均对较高浓度氯离子有一定的耐受能力,而不能耐受全  $\text{NH}_4^+$  状态。本试验虽无法完全排除氯离子对植物生长的影响,但在一定程度上可排除高浓度氯离子的全致死风险。

相关研究表明,不同氮素形态对不同兰科植物生长的影响不同,且影响效果大小与氮素的浓度相关。潘瑞炽等<sup>[37]</sup>研究发现,低浓度硝态氮和铵态氮均促进墨兰叶芽和叶片的正常生长,中浓度时硝态氮表现较好,而高浓度时 2 种形态氮处理的墨兰生长均受抑制,而铵态氮的抑制作用尤为明显;RAGHAVAN 等<sup>[38]</sup>发现,铵态氮有利于卡特兰的幼苗发育,而硝态氮则抑制幼苗生长;WANG 等<sup>[39]</sup>、KUBOTA 等<sup>[40]</sup>的研究均指出,蝴蝶兰偏爱硝态氮,施用的氮总量相同时铵态氮和硝态氮的比例并不影响植物吸收的氮量,但是铵态氮比例的增加却会抑制磷、钾、钙、镁等离子的吸收,单一硝态氮源对蝴蝶兰生长最为有利。本研究发现,金线兰和云南开唇兰与蝴蝶兰<sup>[39-40]</sup>、台湾金线莲<sup>[33]</sup>类似,均在较高浓度的硝态氮中生长良好,且可以在纯硝态氮源中正常生长,同时叶片在纯硝态氮中亦表现良好,这点与台湾金线莲不同,可能与开唇兰的种类不同有关。本试验结果表明,对金线兰顶芽生长及茎段萌芽较好的  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  比例为 0/30、5/25、10/20、20/40,对云南开唇兰顶芽生长及茎段萌芽较好的  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  比例为 0/30、5/25,顶芽生长与茎段萌芽阶段需要的铵态氮及硝态氮配比一致,这些比例中的硝态氮比例均较高,同时也为其他开唇兰属植物对不同氮肥形态的需求提供了参考。1/2MS 培养基中总氮含量约为 30 mmol/L,  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  的比例约为 1/2,其硝态氮含量较高,对开唇兰属植物较为适宜,但根据本研究的结果,开唇兰属植物对铵态氮的需求量很低,因此在实际应用中可以适当提高硝态氮的比

例,尤其是在利用茎段诱导芽萌发的时候,低比例的铵态氮诱导效果更好。本研究结果对开唇兰属植物的各阶段快繁的培养基配制及大田生产施肥有一定的参考意义,组培快繁时可在本研究得出的较佳  $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$  配比基础上添加其他有机或无机组分,以促进种苗生长;大田生产上,在提高氮肥中的硝态氮比例的同时,要考虑到植物体内的硝酸盐积累问题,硝态氮比例不宜过高,且要在栽培时采取光强光质调控,增施有机肥,合理配施磷、钾、肥及镁、铜、锰、锌等中微量元素,使用硝化抑制剂等措施;收获前采用氮亏缺处理、营养液渗透离子处理、环保型水溶液处理等方法,综合降低植物体内的硝酸盐含量<sup>[41-42]</sup>。

植物对铵态氮和硝态氮在吸收和代谢上存在不同,硝态氮在进入植物体后一部分还原成铵态氮,并在细胞质中进行代谢,其余部分可积累在细胞的液泡中,有时达到较高的浓度也不会对植物产生不良影响,其在植物体内的积累可看作氮素的“贮备”。而铵态氮进入植物细胞后必须尽快与有机酸结合,形成氨基酸或酰胺,游离铵在植物体内的积累经常被认为对植物本身是有毒的,因为氨可能抑制呼吸过程中的电子传递系统,尤其是还原态的烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(NADH)<sup>[22]</sup>。本研究发现,在  $\text{NH}_4^+$  含量为 20 mmol/L、 $\text{NO}_3^-$  含量为 10 mmol/L 时金线兰与云南开唇兰的顶芽均生长不良,茎段均难以萌芽,此时容易认为是  $\text{NH}_4^+$  的毒害作用导致的;然而当  $\text{NO}_3^-$  含量增加到 40 mmol/L,而  $\text{NH}_4^+$  含量仍为 20 mmol/L 时,二者顶芽均生长良好,茎段正常萌芽。出现此种情况有 2 种可能:一是当  $\text{NO}_3^-$  浓度较高时,2 种植物可以对  $\text{NO}_3^-$  进行选择吸收而避免了体内氨的积累,降低了  $\text{NH}_4^+$  的毒害作用;二是 2 种植物对  $\text{NH}_4^+$  的利用率很低或者是无法利用,而对  $\text{NO}_3^-$  的利用率较高,当  $\text{NO}_3^-$  含量为 10 mmol/L 时,并非是 20 mmol/L  $\text{NH}_4^+$  的毒害作用对 2 种植物的生长造成不良影响,而是由于  $\text{NO}_3^-$  的浓度太低造成植物的营养不良,因而当  $\text{NO}_3^-$  含量增加到 40 mmol/L 时 2 种植物均可正常生长。因此,培养基中保持较高浓度的  $\text{NO}_3^-$  有利于此 2 种开唇兰属植物的生长。

本研究发现,硝态氮和铵态氮的比例对金线兰和云南开唇兰的植株形态和叶型有较大影响,随着铵态氮浓度的增加,植株的近茎尖第 1 片开展叶萎缩,株高、根数及根长均有递减趋势,这可能是由于铵态氮削弱了渗透压调节功能,伴随着也降低了叶

细胞膨胀率或者是根和芽的激素调节功能所导致,而小的叶面积和叶面积比可能导致铵态氮中的植物碳积累减少,因而植物长势变弱;其次,相较于硝态氮而言,处于铵态氮中的植物根和叶的呼吸作用消耗的碳源更多,用于铵态氮的吸收和同化,进而减少了植物的干物质积累,可能因此也抑制了植物的生长;第三,植物同化铵态氮所需能量比同化硝态氮所需的光合能量要少<sup>[43]</sup>,这可能也是导致铵态氮中植株株型变小的原因。此外,不同氮素形态对植物生长的影响还与光照强度、培养基的温度、氮素浓度、pH 值以及钾离子浓度相关<sup>[43]</sup>,本研究中除氮素浓度外,其余因素在各试验组均基本相同,如果在固定的氮素浓度下,其他因素发生改变,可能得到的结果不同。

#### 参考文献:

- [1] 中国科学院中国植物志编委. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社,2000:204.
- [2] 何春年,王春兰,郭顺星,等. 兰科开唇兰属植物的化学成分和药理活性研究进展[J]. 中国药杂志, 2004,39(2):8-11.
- [3] 何玉琴,林标声,邱龙新,等. 金线莲提取物体外抑菌及抑制鸡新城疫病毒在 CEF 上的增殖[J]. 福建农林大学学报(自然科学版),2012,41(4):520-523.
- [4] 陈焰,陈新峰,阙万才,等. 金线莲挥发油成分的提取及其体外抗肿瘤作用研究[J]. 中国药业,2012,21(6):21-22.
- [5] 唐楠楠,陶佳青,陈常理,等. 台湾金线莲与浙江金线莲多糖含量及抗氧化活性比较研究[J]. 西北植物学报,2016,36(3):521-526.
- [6] 李葆华,陈以旺. 金线莲提取物 ARL 对肾血管性高血压大鼠血压、血管紧张素 II、一氧化氮和内皮素的影响[J]. 中国分子心脏病学杂志,2006,6(3):132-135.
- [7] 施满容,陆志平,钟幼雄,等. 闽东野生金线莲资源调查研究[J]. 广东农业科学,2016,43(1):24-29.
- [8] 罗晓青,吴明开,查兰松,等. 贵州药用植物野生金线莲资源调查[J]. 西南农业学报,2011,24(2):826-828.
- [9] ZHANG G,ZHAO M M,SONG C,*et al.* Characterization of reference genes for quantitative real-time PCR analysis in various tissues of *Anoectochilus roxburghii*[J]. Molecular Biology Reports,2012,39(5):5905-5912.
- [10] LV T W,TENG R D,SHAO Q S,*et al.* DNA barcodes for the identification of *Anoectochilus roxburghii* and its adulterants[J]. Planta,2015,242(5):1167-1174.
- [11] 张振珏,陈裕,林坤瑞,等. 花叶开唇兰营养体的结构[J]. 云南植物研究,1992,14(1):45-48.
- [12] 朱美瑛,王康才,李雨晴. 金线莲叶片气孔与光合特性研究[J]. 江苏农业科学,2014,42(11):210-212.
- [13] 罗晓青,申刚,蒙秋伊,等. 兴仁金线莲组织培养与快繁试验[J]. 西南农业学报,2014,27(1):331-336.
- [14] 刘芳,韦鹏霄,岑秀芬,等. 外植体和基本培养基对台湾金线莲丛生芽诱导的影响[J]. 北方园艺,2009(4):103-104.
- [15] 甘金佳,蒋水元,毛玲莉,等. 栽培基质、覆盖稻草和避雨措施对金线莲成活率及生长的影响[J]. 贵州农业科学,2016(12):114-116.
- [16] 魏翠华,谢宇,秦建彬,等. 台湾金线莲组培苗定植规格及栽培基质筛选[J]. 南方农业学报,2016,47(1):92-95.
- [17] 江建铭,徐建中,沈宇峰. 不同追肥处理对金线莲产量与品质的影响[J]. 浙江农业科学,2009(2):303-304.
- [18] 魏翠华,谢宇,秦建彬,等. 不同肥料处理对金线莲产量和品质的影响[J]. 福建农业学报,2015,30(8):793-796.
- [19] 蔡金艳,朱恩,赵林,等. 开唇兰属 3 种植物总膏的降血糖活性研究[J]. 医药导报,2014,33(2):140-144.
- [20] 蔡金艳,朱恩,王义娜,等. 开唇兰属 3 种植物提取物对大鼠高脂模型血脂及肾功能的影响[J]. 中药新药与临床药理,2012,23(3):271-274.
- [21] 牛振明,张国斌,刘赵帆,等. 氮素形态及配比对甘蓝养分吸收、产量以及品质的影响[J]. 草业学报,2013,22(6):68-76.
- [22] 潘瑞炽,王小菁,李娘辉. 植物生理学[M]. 5 版. 北京:高等教育出版社,2004:45.
- [23] 董守坤,刘丽君,马春梅,等. 利用<sup>15</sup>N 标记研究铵态氮与硝态氮对大豆的营养作用[J]. 大豆科学,2012,31(6):911-914.
- [24] 康晓育,孙协平,常聪,等. 氮素形态对不同苹果砧木幼苗生长的影响[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版),2013,41(6):133-138.
- [25] 侯迷红,李玉明,姚锦秋,等. 不同氮素形态及其配比对叶类蔬菜生长和品质的影响[J]. 内蒙古民族大学学报(自然科学版),2016,31(2):137-140.
- [26] WANG J F,ZHOU Y,DONG C X,*et al.* Effects of  $\text{NH}_4^+$ - $\text{N}/\text{NO}_3^-$ -N ratios on growth, nitrate uptake and organic acid levels of spinach (*Spinacia oleracea* L.) [J]. African Journal of Biotechnology,2009,8(15):3597-3602.
- [27] SONG S,YI L,ZHU Y,*et al.* Effects of ammonium and nitrate ratios on plant growth, nitrate concentration and nutrient uptake in flowering Chinese cabbage[J]. Bangladesh Journal of Botany,2017,46(4):1259-1267.
- [28] 孟祥馨悦,刘丰,崔宇婷,等. 低氮条件下施用不同形

态氮素对谷子幼苗叶片叶绿素荧光特性的影响[J]. 华北农学报,2017,32(S1):272-278.

[29] 黄化刚,申燕,吴飞跃,等. 不同氮素来源对烤烟上部叶碳氮代谢及其基因表达的影响[J]. 南方农业学报,2018,49(3):462-468.

[30] 刘爱忠,洪德成,董合林,等. 不同供钾水平和氮素形态对棉花功能叶质体色素、碳氮代谢及钾含量的影响[J]. 河南农业科学,2018,47(4):31-37.

[31] 高志红,陈晓远,曾越. 局部根系水分胁迫下氮素形态对水稻幼苗生理特性和根系生长的影响[J]. 华北农学报,2019,34(2):154-161.

[32] 尹艳莉,杨彦,赵兴杰,等. 干旱条件下不同氮素形态对比对番茄产量和品质的影响[J]. 山西农业科学,2017,45(11):1791-1793.

[33] 朱美瑛. 金线莲种质资源评价及组培快繁体系研究[D]. 南京:南京农业大学,2014.

[34] 番绍玲. 土壤—植物系统中的氯营养特点与含氯肥料的合理施用[J]. 现代农业科技,2018(5):180-181.

[35] 张兆辉,汪李平,陈龙英. 氯在蔬菜作物上的研究进展[J]. 北方园艺,2010(8):225-229.

[36] 曹恭,梁鸣早. 氯:平衡栽培体系中植物必需的微量元素[J]. 土壤肥料,2004(4):53-54.

[37] 潘瑞炽,陈俊贤. 硝态氮和铵态氮对墨兰生长发育的影响[J]. 云南植物研究,1994,16(3):285-290.

[38] RAGHAVAN V,TORREY J G. Inorganic nitrogen nutrition of the seedlings of the orchid, *Cattleya* [J]. American Journal of Botany,1964,51(3):264-274.

[39] WANG Y T,CHANG Y C A. Effects of nitrogen and the various forms of nitrogen on *Phalaenopsis* orchid: A review[J]. Hort Technology,2017,27(2):144-149.

[40] KUBOTA S,YONEDA K,SUZUKI Y. Effects of ammonium to nitrate ratio in culture medium on growth and nutrient absorption of *Phalaenopsis* seedlings in vitro [J]. Environment Control in Biology,2000,38(4):281-284.

[41] 刘文科,杨其长. 设施无土栽培蔬菜硝酸盐含量的控制方法[J]. 北方园艺,2010(20):79-83.

[42] 徐加林,别之龙,张盛林. 蔬菜无土栽培中硝酸盐积累与营养液调控[J]. 华中农业大学学报,2004,23(6):154-158.

[43] GUO S,ZHOU Y,SHEN Q, *et al.* Effect of ammonium and nitrate nutrition on some physiological processes in higher plants-growth, photosynthesis, photorespiration, and water relations [J]. Plant Biology, 2007, 9(1): 21-29.

《天津农业科学》征订启事

《天津农业科学》是天津市农业科学院信息研究所主办的综合性学术期刊,创刊于 1974 年。国际刊号:ISSN 1006 - 6500,国内刊号:CN:12 - 1256/S。本刊为月刊,大 16 开,90 页,每期定价 5 元,全年 60 元。

本刊为美国化学文摘 CA 收录期刊、中国学术期刊综合评价数据统计源期刊、美国《乌利希期刊指南》收录期刊、国家科技学术期刊开放平台收录期刊、中国核心期刊(遴选)数据库收录期刊、中国期刊网、中国学术期刊(光盘版)全文收录期刊、中文科技期刊数据库全文收录期刊。

开设栏目有:植物生理与生物技术、作物栽培与设施园艺、植物保护、土壤肥料与节水灌溉、畜牧兽医与水产养殖、园林绿化、贮藏加工、农产品安全、农业经济与信息技术、三农问题研究、农业区划等。

适合各级农业科研人员、农技推广人员、农业行政管理干部、农业大中专院校师生参阅。

欢迎订阅,欢迎投稿!

地址:天津市南开区白堤路 268 号农科大厦 1905 室

邮编:300192

电话/传真:022 - 23678601

E - mail: tjnykx@163.com

在线投稿网址: <http://tjnykx.paperopen.com>