

独花兰离体再生体系的建立

杨胜妃^{1,2}, 邓钰焯^{1,2}, 蔡诗云³, 刘雅菲¹, 彭银³, 丁远杰^{2*}

¹吉首大学土木工程与建筑学院, 张家界 427000; ²吉首大学林产化工工程湖南省重点实验室, 张家界 427000; ³澧县农业农村局, 常德 415000

摘要 独花兰(*Changnienia amoena*)被列为国家二级珍稀濒危植物, 作为兰科单种属植物, 既是珍贵的药用植物和潜在可开发优良野生花卉资源, 也是研究兰科植物系统发育的优良材料。但由于野生资源匮乏, 目前缺少对其再生体系的研究。该研究以独花兰假鳞茎为外植体, 探索消毒条件、外植体切块方式、不同采集时间及植物生长调节剂浓度对外植体灭菌效果、不定芽诱导和组培苗生根的影响, 初步建立了独花兰再生体系。结果表明, 用 75%乙醇处理 30 秒再经过 0.1%升汞溶液消毒 12 分钟为独花兰假鳞茎的最佳消毒方法; 用不同切块方式处理假鳞茎皆能诱导不定芽, 但完整假鳞茎的诱芽率远高于切块处理后的假鳞茎; 每年 5 月采集假鳞茎进行不定芽诱导效果最好。独花兰假鳞茎不定芽诱导最适培养基为 1/2 MS+1.0 mg·L⁻¹ 6-BA+0.5 mg·L⁻¹ NAA, 诱导率为 75.56%; 最适生根培养基为 1/2 MS+0.4 mg·L⁻¹ 6-BA+1.0 mg·L⁻¹ NAA, 生根率可达 93.33%; 经 50 mg·L⁻¹ 6-BA 溶液处理后将组培苗移栽在腐殖土中覆膜炼苗, 可显著提高成活率, 成活率达 94.44%。

关键词 独花兰, 假鳞茎, 离体再生, 不定芽, 生根培养

杨胜妃, 邓钰焯, 蔡诗云, 刘雅菲, 彭银, 丁远杰 (2026). 独花兰离体再生体系的建立. 植物学报 61, 1–11.

独花兰(*Changnienia amoena*)是兰科(Orchidaceae)独花兰属(*Changnienia*)多年生草本植物, 为中国特有单种属植物, 因全株只有一花一叶而得名, 1992 年被《中国植物红皮书——稀有濒危植物(第一册)》列为珍稀濒危种(傅立国, 1992)。独花兰外部形态特殊, 色彩美丽, 叶片呈宽卵状椭圆形至宽椭圆形, 长 6.5–11.5 cm, 宽 5.0–8.2 cm, 叶片正面呈绿色, 背面为紫红色; 花葶顶生, 长 10.0–17.0 cm, 花呈白色或紫色, 带淡紫色或肉红色晕, 唇瓣上有紫红色斑点, 形态美观, 是珍贵而优良的盆栽野生花卉种质资源(吴征镒, 1999)。独花兰以假鳞茎或全草入药, 有清热、凉血、解毒等功效, 主治咳嗽、痰中带血及热疔疮等, 药用价值显著(王国强, 2014)。

独花兰主要分布在江苏、浙江、安徽、江西、湖北、湖南和四川等地, 生长于海拔 400–1 800 m 疏林下腐殖质丰富的土壤或沿山谷荫蔽处。独花兰种子细小, 种胚发育不完全, 无储藏萌发所需营养成分的组织, 在自然条件下不能正常萌发, 多以假鳞茎进行分株繁殖(王年鹤和程增林, 1994)。近年来, 由于环境变化、野生资源被过度开采及自身繁殖困难等因素限制, 独花兰野生资源不断减少(张慧等, 2022), 对其进行抢救保育迫在眉睫。此外, 独花兰具有显著的医用疗效和极大的开发利用潜力(王国强, 2014; Chen et al., 2023; Liu et al., 2025), 用组织培养方法对独花兰进行离体再生, 探究系统高效且完整的独花兰组织培养体系, 对于实现独花兰规模化繁殖具有重要意义, 将促进其资源的可持续开发和利用。

有关兰科植物组织培养的报道较多, 多集中在蝴蝶兰(*Phalaenopsis aphrodite*) (苑朝等, 2023; Murvanidze et al., 2024)、文心兰(*Oncidium orchid*) (李雪青等, 2020; Rianawatiet et al., 2021)以及蕙兰(*Cymbidium faberi*) (罗富寻等, 2024; 张月盈等, 2024)等商用兰花品种上, 而独花兰组织培养的报道较少。高丽等(2010)以独花兰假鳞茎为外植体进行培养, 探讨了其培养条件, 但并未对其展开进一步研究, 关于诱导率和生根率尚未见报道。刘赛思等(2013)以独花兰花梗腋芽为外植体成功诱导出不定芽。刘国顺等(2013)以 9 月中下旬假鳞茎为外植体进行诱导培养, 探究不同浓度植物生长调节剂对不定芽诱导与生根的影响, 成功诱导出

收稿日期: 2025-04-28; 接受日期: 2025-07-29

基金项目: 国家自然科学基金(No.31760084)、吉首大学 2019 年引进人员科研资助经费(No.1119051)和吉首大学 2024 年度校级研究生科研项目(No.Jdy24018)

* 通讯作者。E-mail: dingyuanjie@jsu.edu.cn

不定芽并生根,但诱导率和生根率较低,分别为 57.1%和 33.9%。

与商品兰相比,由于野生资源稀缺、生境特异性强等因素,独花兰外植体获取困难且丛生芽诱导与增殖难度较大,目前对独花兰组织培养研究较少,仅有几篇报道探讨植物生长调节剂的使用,有关灭菌试剂选择与时间处理、外植体预处理方式、试管苗炼苗移栽等关键环节还有待进一步研究。目前尚未建立稳定高效的独花兰离体再生体系。

本实验以独花兰假鳞茎为外植体,探索不同灭菌与切块方式、植物生长调节剂组合对独花兰不定芽诱导和组培苗生根的影响,分析不同处理方式与基质对独花兰组培苗炼苗移栽的影响,以期完善独花兰离体再生体系,并为其资源保育、种苗快速繁殖及分子育种奠定基础。

1 植物材料

以 2024 年 3 月采集于湖南省八大公山自然保护区海拔 900–1300 m 的独花兰为材料,所有样本均经吉首大学董爱文教授鉴定并确认。将材料移栽至吉首大学张家界校区卧虎山竹林(110°27'32"E, 29°08'18"N),进行仿生境栽培,生境郁闭度接近 0.65,通过人工调控使环境湿度维持在 65%以上。

2 培养基成分与培养条件

2.1 培养基成分

以 1/2 MS (Murashige and Skoog, 1962)为基本培养基,添加 6.5 g·L⁻¹ 琼脂和 30.0 g·L⁻¹ 蔗糖,其中诱导培养基中还添加 100 mL·L⁻¹ 椰乳,调 pH 值至 5.8–6.0。121°C 灭菌 20 分钟,晾凉备用。

2.2 外植体处理与消毒

取 4 月生长良好、无病虫害的独花兰假鳞茎为外植体,去除表面残留鞘叶,用流水冲洗 30 分钟。置于超净工作台上,用 75%乙醇和 0.1%升汞溶液进行消毒处理,设 9 个消毒处理组合,消毒后用无菌水冲洗 5 遍,接种于 1/2 MS 基本培养基中。为了充分灭菌,整个操作过程中保持持续振荡。每个组合接种 5 瓶,每瓶 1 个外植体,实验重复 3 次。35 天后统计污染率、死亡率和成活率。培养条件:温度(25±2)°C,光周期为 12 小时光照/12 小时黑暗。

污染率=(接种外植体污染个数/接种外植体总数)×100%;

死亡率=(接种外植体死亡个数/接种外植体总数)×100%;

成活率=(未死亡外植体个数/接种外植体总数)×100%。

2.3 外植体不同切块方式

独花兰假鳞茎消毒处理后,在超净工作台上分别进行不同程度的切块(完整、对半切块、十字切块),切割面朝下接种到不定芽诱导培养基中,培养基中添加 1.0mg·L⁻¹6-BA 和 0.5 mg·L⁻¹NAA,共 3 个组合。每个组合接种 5 瓶,每瓶 1 个外植体,实验重复 3 次。培养条件同 2.2 节。35 天后统计外植体成活率和诱芽率。

诱芽率=(成功诱导不定芽的外植体个数/接种外植体总数)×100%。

2.4 外植体不同采集时间

分别选取 4 月、5 月、6 月和 7 月的独花兰假鳞茎作外植体进行研究。经过消毒灭菌后,将其接种到诱芽培养基上。培养基中添加 1.0mg·L⁻¹6-BA 和 0.5 mg·L⁻¹NAA,共 4 个组合。每个组合接种 5 瓶,每瓶 1 个外植体,实验重复 3 次。培养过程中褐化现象较为严重,每当培养基出现褐化时对外植体进行转瓶处理。培养条件同 2.2 节。35 天后记录污染率、成活率和诱芽率,观察并记录独花兰假鳞茎上不定芽萌动时间。

2.5 不定芽诱导与培养

取 5 月生长良好、无病虫害的假鳞茎为外植体,消毒处理后接种到含不同浓度 6-BA 和 NAA 的 1/2 MS 培养基中。6-BA 浓度分别为 0.5、1.0、2.0 和 3.0 mg·L⁻¹,NAA 浓度设为 0、0.5 和 1.0 mg·L⁻¹,共 12 个组合。每个组合接种 5 瓶,每瓶 1 个外植体,实验重复 3 次。培养条件同 2.2 节。35 天后统计假鳞茎的诱芽率 and 不定芽产生数量及长势。并按照得到的最佳实验方案对不定芽进行继代培养。

平均出芽数(个)=诱导出的不定芽总数/成功诱导不定芽的外植体数。

2.6 试管苗生根

待再生苗长至 2.5–4.0 cm 时,从芽原基底端切下,单株接种在 1/2 MS 培养基中,培养基中分别添加不同浓度的 NAA (0.5、1.0 和 1.5mg·L⁻¹)和 6-BA (0.2、0.4 和 0.6mg·L⁻¹),共 9 个

组合。每个组合接种 5 瓶，每瓶接种 1 株，实验重复 3 次。培养条件同 2.2 节。35 天后观察生根情况，对生根率、平均生根条数、植株及根系生长状况进行统计。

$$\text{生根率} = (\text{生根数} / \text{接种数}) \times 100\%;$$

$$\text{平均生根数(条)} = \text{总生根条数} / \text{接种外植体个数}。$$

2.7 炼苗与移栽

选取株高 ≥ 3.0 cm (植株皆未展叶)、根系健壮、培养时间与状况相似的植株为炼苗材料，将培养瓶移至室温内炼苗 3 天。打开瓶盖洗净幼苗根部的培养基，经不同处理后移栽至不同基质中进行炼苗，探究不同处理对植株移栽驯化的影响。每个处理移栽 5 株，重复 3 次。45 天后对移栽成活率及幼苗生长状况进行统计。

$$\text{移栽成活率} = (\text{成活植株数} / \text{移栽植株数}) \times 100\%。$$

2.8 数据处理与分析

实验数据采用 Microsoft Excel 2019 软件进行统计整理。用 SPSS 26.0 软件进行差异显著性分析。利用 Duncan 法进行多重比较。

3 结果与讨论

3.1 外植体不同采集时间

不同采集时间对独花兰不定芽诱导有一定影响(表 1)。与 4 月、6 月和 7 月相比，5 月采集的样品褐化率、污染率、成活率变化均不显著，但诱芽率显著高于 4 月采集的样品。而与 6 月和 7 月相比，4 月采集的样品褐化率、污染率、成活率均有显著变化。从 4 月到 7 月，褐化率呈先升高再降低趋势，6 月和 7 月的样品均显著高于 4 月，但与 5 月相比褐化率差异不显著；污染率随着时间变化逐渐升高，而成活率则先升高后降低，5 月采样成活率最高，为 64.00%，此时污染率较低，为 44.00%。5 月和 6 月的样品诱芽率显著高于 4 月，与 7 月相比差异不显著，且 5 月采样外植体诱芽率最高。综合考虑褐化率、污染率、成活率和诱芽率，以独花兰假鳞茎为外植体进行不定芽诱导时的最佳采集时间为 5 月。

表 1 不同时期外植体对独花兰不定芽诱导的影响

Table 1 Effect of collection of explants at different periods on the induction of adventitious shoots in *Changnienia amoena*

Acquisition time	Browning rate (%)	Pollution rate (%)	Survival rate (%)	Germination rate (%)
April	48.00 \pm 17.89b	24.00 \pm 16.73b	36.00 \pm 16.73a	36.00 \pm 8.94b
May	68.00 \pm 10.95ab	44.00 \pm 16.73ab	64.00 \pm 16.73a	64.00 \pm 16.73a
June	88.00 \pm 17.89a	52.00 \pm 22.80a	56.00 \pm 26.08a	60.00 \pm 14.14a
July	84.00 \pm 16.73a	64.00 \pm 16.73a	58.00 \pm 14.83a	56.00 \pm 16.73ab

数值为 3 次重复的平均值 \pm 标准差。同列不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。

Values are means \pm SD of 3 replications. Different lowercase letters in the same column indicate significant differences ($P < 0.05$).

3.2 外植体处理与消毒方式

与单独使用 0.1% 升汞溶液相比，结合 75% 乙醇对外植体进行复合消毒处理效果更好，外植体污染率显著降低(表 2)，且随消毒时间的增加，外植体污染率逐渐降低。当用 75% 乙醇消毒 15 秒时，外植体成活率随着 0.1% 升汞消毒时间的延长而升高，污染率则呈下降趋势；而用 75% 乙醇消毒 30 秒，外植体成活率随着 0.1% 升汞的消毒时间的延长呈先升高后降低；当使用 0.1% 升汞消毒时，外植体污染率随着 75% 乙醇消毒时间的延长而逐渐降低，且 0.1% 升汞消毒时间越长，消毒效果越好，但长时间使用 0.1% 升汞消毒会影响外植体的活力，降低假鳞茎的成活率。综合考虑污染率和成活率，对于独花兰假鳞茎的最佳消毒方案为 75% 乙醇消毒 30 秒后再用 0.1% 升汞溶液消毒 12 分钟，此时污染率和成活率分别为 44.4% 和 60.0%。

表 2 独花兰外植体不同消毒方式的比较

Table 2 Comparison of different methods of sterilization of *Changnienia amoenae* explant

Treatments	Sterilization methods		Browning rate (%)	Contamination rate (%)	Survival rate (%)
A1	75%	0.1% mercuric chloride 8 min	88.89 \pm 10.18a	88.89 \pm 10.18a	11.11 \pm 10.18f
A2	ethanol for 0 s	0.1% mercuric chloride 12 min	82.22 \pm 3.85ab	82.22 \pm 3.85ab	17.78 \pm 3.85ef

A3		0.1% mercuric chloride 16 min	75.56±3.85b	75.56±3.85bc	24.44±3.85de
B1	75%	0.1% mercuric chloride 8 min	73.33±6.66bc	71.11±3.85c	28.89±3.85d
B2	ethanol for 15 s	0.1% mercuric chloride 12 min	73.33±6.66bc	68.89±3.85cd	31.11±3.85cd
B3		0.1% mercuric chloride 16 min	62.22±3.85cd	62.22±3.85d	37.78±3.85c
C1	75%	0.1% mercuric chloride 8 min	55.56±10.18de	53.33±6.67e	46.67±6.67b
C2	ethanol for 30 s	0.1% mercuric chloride 12 min	44.44±7.70e	40.00±6.67f	60.00±6.67a
C3		0.1% mercuric chloride 16 min	46.67±6.67e	44.44±3.85f	55.56±3.85a

数值为 3 次重复的平均值±标准差。同列不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

Values are means±SD of 3 replications. Different lowercase letters in the same column indicate significant differences ($P<0.05$).

3.3 外植体不同切块方式

将外植体消毒后以不同方式进行切块处理并接种到诱芽培养基上。实验结果(表 3)表明,与完整假鳞茎相比,切块假鳞茎不定芽诱导效果较差,外植体成活率和诱芽率均显著降低。对半切块处理效果虽略好于十字切块处理,但两者的成活率与诱芽率无显著差异,成活率分别为 46.67%和 36.37%,诱芽率分别为 13.33%和 6.67%。因此,确定完整假鳞茎为独花兰假鳞茎再生诱导的最适处理。

表 3 不同外植体处理方式对独花兰丛生芽诱导的影响

Table 3 Effect of different explant treatments on the induction of clumped shoots in *Changnienia amoena*

Pseudobulb treatments	Survival rate (%)	Germination rate (%)
Incomplete	66.67±16.33a	46.67±10.33a
Dice (halves)	46.67±10.33b	13.33±10.33b
Dice (cross cut into quarters)	36.67±15.06b	6.67±10.33b

数值为 3 次重复的平均值±标准差。同列不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

Values are means±SD of 3 replications. Different lowercase letters in the same column indicate significant differences ($P<0.05$).

3.4 不定芽诱导与培养

将外植体接种到不同浓度 6-BA 和 NAA 组合的诱芽培养基上(表 4),使其充分与培养基接触,培养 48 天。洗净的假鳞茎呈白色(图 1A, B),在培养过程中未接触培养基的表面逐渐变绿。18 天后假鳞茎节间陆续开始出现白色芽点,长出小的不定芽(图 1C)。20 天后可以观察到明显的芽点(处理 C1, C2, C5–C7) (图 1C); 此时含不同浓度植物生长调节剂的培养基上都开始产生大量芽点。40 天不定芽长大,形成幼嫩的不定芽。结果表明,不同浓度 6-BA 和 NAA 组合对不定芽诱导有明显影响,添加 NAA 可使诱芽率显著提高,表明添加少量 NAA 有助于诱导独花兰不定芽产生。当培养基中 NAA 浓度为 0.5 和 1.0mg·L⁻¹ 时,诱芽率随着 6-BA 浓度的增加呈先升高后降低趋势,在 1.0mg·L⁻¹6-BA 时诱芽率最高,分别为 64.44%和 75.56%。随 6-BA 浓度的升高,诱导率先升高后降低,说明一定浓度 6-BA 有利于不定芽的产生,而高浓度 6-BA 则会抑制不定芽生长。当 6-BA 浓度为 1.0mg·L⁻¹、NAA 浓度为 0.5 mg·L⁻¹ 时,诱导率达到最高,为 75.56%。

表 4 不同浓度植物生长调节剂组合对独花兰不定芽诱导的影响

Table 4 Effect of different combinations of plant growth regulators at different concentrations on the induction of adventitious shoots in *Changnienia amoena*

Treatments	6-BA (mg·L ⁻¹)	NAA (mg·L ⁻¹)	Germination rate (%)	Mean number of induced shoots (per plant)	Growth condition
C1	0.5	0	40.00±6.67cde	1.05±0.08	++
C2	1.0	0	64.44±13.88ab	1.18±0.07	+++
C3	2.0	0	24.44±13.88ef	1.44±0.25	+
C4	3.0	0	31.11±10.18def	1.18±0.17	+
C5	0.5	0.5	71.11±3.85a	1.12±0.05	+++
C6	1.0	0.5	75.56±10.18a	1.06±0.06	++++
C7	2.0	0.5	35.56±10.18cde	1.07±0.12	++
C8	3.0	0.5	42.22±25.24cde	1.38±0.54	+
C9	0.5	1.0	44.44±10.18cd	1.09±0.08	++

C10	1.0	1.0	51.11±7.70bc	1.13±0.02	+++
C11	2.0	1.0	24.44±10.18ef	1.22±0.20	++
C12	3.0	1.0	15.56±3.85f	1.61±0.35	+

数值为3次重复的平均值±标准差。同列不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。加号(+)数量越多表示长势越好;反之长势越弱。

Values are means±SD of 3 replications. Different lowercase letters in the same column indicate significant differences ($P<0.05$). The more the number of plus (+), the better the growth, and vice versa, the weaker the growth.



图1 独花兰离体再生体系

(A)处理好的外植体,准备消毒;(B)刚接种的外植体;(C)不定芽萌动,箭头示不定芽产生位置;(D)不定芽原基部位出现凸起点,即将生根,箭头示芽原基生根凸起点;(E)不定芽生根;(F)组培苗;(G)组培苗炼苗移栽。Bars=1 cm

Figure 1 Regeneration system of *Changnienia amoena*

(A) Treated explants, ready to be sterilized; (B) Freshly inoculated explants; (C) Adventitious bud sprouting, arrow pointing to the location of adventitious bud production; (D) Adventitious bud primordia appears as a raised point, about to be rooted, the arrow pointing to the rooting raised point of bud primordia; (E) Adventitious buds rooting; (F) Histocultured plantlets; (G) Refining transplantation of histocultured plantlets. Bars=1 cm

3.5 试管苗生根

将长2.5–4.0 cm且长势一致的不定芽从假鳞茎上切下,接种于含不同浓度生长素的1/2 MS培养基中。培养14天,不定芽芽原基底部出现凸起点(图1D)。21天后根尖伸长,此过程中不定芽继续生长,形成组培苗(图1E, F)。实验结果(表5)表明,在不同种类培养基中均能诱导出不定根,但添加 $0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $0.4\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 6-BA时,其生根率高于 $0.6\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 6-BA处理,因此低浓度6-BA与NAA搭配有利于试管苗生根。试管苗生根率随NAA浓度的增加呈先升高后降低趋势, $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA处理组生根率显著高于0.5和 $2.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理组。综上,独花兰假鳞茎的最适生根培养基为 $1/2\text{ MS}+0.4\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 6-BA+ $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA,生根率可达93.3%。

表 5 不同植物生长调节剂组合对独花兰组培苗生根的影响

Table 5 Effect of different plant growth regulator combinations on rooting of *Changnienia amoena* plantlets in histoculture

Treatments	NAA (mg·L ⁻¹)	6-BA (mg·L ⁻¹)	Rooting rate (%)	Average number of roots (strips)	Root thickness (cm)
P1	0.5	0.2	66.67±11.55abcd	4.31±0.05b	0.3±0.2
P2	0.5	0.4	86.67±11.54ab	4.72±0.30b	0.3±0.2
P3	0.5	0.6	40.00±20.00d	4.11±0.19b	0.2±0.2
P4	1.0	0.2	93.33±11.55a	4.28±0.10ab	0.3±0.2
P5	1.0	0.4	93.33±11.55a	5.07±0.31a	0.3±0.2
P6	1.0	0.6	60.00±20.00bcd	4.19±0.17ab	0.3±0.2
P7	2.0	0.2	66.67±11.55abcd	4.17±0.60b	0.2±0.2
P8	2.0	0.4	80.00±20.00 abc	4.62±0.38b	0.2±0.2
P9	2.0	0.6	53.33±11.55cd	4.06±0.42b	0.2±0.2

数值为 3 次重复的平均值±标准差。同列不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。

Values are means±SD of 3 replications. Different lowercase letters in the same column indicate significant differences ($P<0.05$).

3.6 炼苗与移栽

炼苗处理结果(表 6)表明,在组培苗移栽至盆土之前将其根部迅速蘸取 50.0 mg·L⁻¹ 6-BA 溶液(约 10 秒),移栽成活率极高,且独花兰长势良好,展叶较快(图 1G)。对于移栽基质的选择,本实验 2 种基质移栽成活率差异不大,为使后续炼苗操作方便,可直接选用腐殖土进行移栽驯化。覆膜炼苗有利于保持土壤和空气的湿度,移栽成活率较露天炼苗显著提高,露天炼苗下即使及时保持土壤湿润,其成活率也低于覆膜炼苗,其原因可能是独花兰喜空气湿度大,但有待进一步研究。露天炼苗需注意经常关注花盆水分,本实验数据均为水分一直保持充分湿润统计。

表 6 不同处理下独花兰组培苗生长情况

Table 6 Growth of *Changnienia amoena* grouped plantlets under different treatments

Pre-planting	Treatments Plantlets refining treatment	Soil matrix	Rate of survival (%)	How well a crop is growing	Leaf spreading time (d)
Dip in 50 ppm 6-BA solution	Mulch plantlets refining for 7 days, then switch to open-air seedling refining.	Humus: Gravel =3:1 (v/v)	94.44	++++	31±3
Dip in 50 ppm 6-BA solution	Mulch plantlets refining for 7 days, then switch to open-air plantlets refining.	Humus	94.44	++++	31±3
Dip in 50 ppm 6-BA solution	open-air refining of plantlets	Humus: Gravel =3:1 (v/v)	83.33	++	43±3
Dip in 50 ppm 6-BA solution	open-air refining of plantlets	Humus	86.67	++	43±3
	Mulch seedling refining for 7 days, then switch to open-air plantlets refining.	Humus: Gravel =3:1 (v/v)	72.22	+++	37±3
	Mulch plantlets refining for 7 days, then switch to open-air plantlets refining.	Humus	72.22	+++	37±3
	open-air refining of plantlets	Humus: Gravel =3:1 (v/v)	53.33	+	47±3
	open-air refining of plantlets	Humus	50.00	+	47±3

加号(+)数量越多表示长势越好;反之长势越弱。

The more the number of plus (+), the better the growth, and vice versa, the weaker the growth.

3.7 讨论

在兰科植物离体培养中,假鳞茎因其较高的再生能力常被选作外植体(Castillo-Pérez et al., 2022)。本研究以独花兰假鳞茎为外植体对其再生体系进行研究。不同采样时间显著影响独花兰假鳞茎离体培养效果。结果显示,4 月和 7 月采样褐化率较低,而 5 月和 6 月样品褐化率较高。这是由于 3-4 月正处于花期,独花兰代谢活性降低,而 5-6 月进入营养生长期后酚类化合物合成增加所导致;同时,自然条件下独花兰 5-6 月开始分株繁殖,假鳞茎上已长出腋芽,需切除腋芽进行培养,创口面积扩大导致更多酚类物质释放,进一步加剧褐化(黄小艳, 2024)。样品污染率随采样月份递增,7 月样品最高,为 64.00%,与该时期假鳞茎在土壤中

暴露时间较长、腋芽带菌量增加有关,显著增加了灭菌难度。存活率与诱芽率呈先升后降趋势,与自然条件下独花兰假鳞茎发育周期密切相关。假鳞茎作为兰科植物水分、碳水化合物和矿物质的重要贮存器官,在兰花营养和生殖生长阶段都发挥关键作用(He et al., 2011); 5–6 月独花兰处于旺盛营养生长期,有利于打破顶端优势、解除休眠芽抑制并启动侧芽芽原基分化,此时同化物主要供给母球新萌生芽球的生长(He et al., 2011; 韩茹等, 2023),采集此时段的假鳞茎进行离体培养有助于快速诱导丛生芽产生。综上所述,5 月为假鳞茎离体再生的最佳采集期,但这与 Jiang 等(2011)的研究结果存在差异。

草本植物地下成株的假鳞茎消毒难度较大(潘梅等, 2017),消毒效果受预处理方式、消毒剂类型及处理时间等因素显著影响。研究发现,不同消毒剂对独花兰假鳞茎的处理效果存在明显差异,用 75%乙醇对独花兰进行不同时间的灭菌处理,外植体污染率差异显著;升汞的消毒效果较好,但毒性较强,消毒时间过长容易导致外植体活性降低而影响成活率,目前 0.1%升汞溶液是多数兰科植物进行外植体消毒的常用试剂(杨志坚等, 2019)。本研究比较 75%乙醇和 0.1%升汞溶液在不同处理时间下的消毒效果,确定最佳消毒方案为 75%乙醇消毒 30 秒后再用 0.1%升汞消毒 12 分钟。经灭菌后的独花兰假鳞茎转接至初代培养基(1/2 MS+1mg·L⁻¹ 6-BA+0.5mg·L⁻¹ NAA)上,诱导率达 75.56%,且植株长势健壮。

本研究结果表明,切块假鳞茎与完整假鳞茎均能诱导不定芽产生,但切块假鳞茎不定芽诱导效果较差,而完整假鳞茎诱导率较高,可达 66.7%。观察不同接种方式可以发现,切块假鳞茎培养过程中外植体周围褐化现象极为严重。兰科植物的褐化现象主要由酶促反应引起,在新鲜的假鳞茎受到机械损伤时其细胞膜结构被破坏,打破了原有的平衡,使得酚类物质之间发生化学反应,通过非酶促反应聚合,形成黑褐色物质,从而使得外植体发生褐化(Holderbaum et al., 2010; 肖小军等, 2017)。此外,切块操作会扩大外植体伤口面积,导致细胞破裂释放更多酚类化合物,在酶促氧化作用下加剧褐化,抑制细胞分裂和丛生芽的形成(印芳, 2006);而未切块的假鳞茎因表皮完整酚类物质释放量少,褐化较轻,同时保留了完整的顶端分生组织和芽原基,维持了相对稳定的植物激素平衡,具有更强的再生潜力,有利于丛生芽诱导。

植物生长调节剂在兰科植物组织培养过程中发挥重要作用,且各种植物激素协同调控,共同促进增殖与分化(罗富寻等, 2024)。研究表明,6-BA 和 NAA 组合使用可有效促进根状茎增殖与分化(Chen and Chang, 2001; 漆子钰等, 2019; 杨松敏等, 2023)。本研究以 1/2 MS 为基本培养基,探究了不同浓度的 6-BA 和 NAA 组合对独花兰丛生芽诱导的影响,其中添加 NAA 的处理组诱导率均高于未添加组,这证实适宜浓度的 NAA 有利于促进独花兰假鳞茎不定芽诱导,与 Jiang 等(2010)的研究结果一致。当 NAA 浓度一定时,独花兰假鳞茎不定芽诱导率随 6-BA 浓度的升高呈先升后降趋势;当 6-BA 浓度达 2–3 mg·L⁻¹ 时,丛生芽诱导率和诱导数均有所下降,表明过高浓度 6-BA 在一定程度上会抑制不定芽产生,这与曾浩等(2024)的研究结果相似。实验中后续进行的不定芽增殖培养,因植物生长调节剂浓度、种类等配比不当,表现整体存活率低且增殖效果不佳。

试管苗生根是决定再生体系成功的关键步骤。本研究以 1/2 MS 为基本培养基,探究了不同浓度 NAA 和 6-BA 组合对独花兰试管苗生根的影响。结果显示不同处理对独花兰试管苗诱导生根都起到了一定的作用,但添加 6-BA 的处理组生根率显著高于未添加组。在添加 1.0 mg·L⁻¹ NAA 的同时,配合 0.2 或 0.4 mg·L⁻¹ 6-BA 可显著提升生根效果,其中以 0.4 mg·L⁻¹ 6-BA 生根效果最佳。这表明低浓度细胞分裂素类植物生长调节剂有利于独花兰组培苗生根。综合考虑,独花兰试管苗的最适生根培养基为 1/2 MS+0.4 mg·L⁻¹ 6-BA+1.0 mg·L⁻¹ NAA,生根率可达 93.33%。

试管苗需经炼苗以适应培养瓶与室外环境的显著差异,从而提高移栽成活率(李玲等, 2018)。实验结果表明,开瓶炼苗极易导致污染,2–3 天内试管苗根茎基部即出现明显菌落污染,此现象与黄奥丹等(2016)的研究结果相似,若开瓶炼苗后再移栽至盆土,常因真菌污染导致炼苗失败,成活率极低。因此,本研究在进行室温炼苗 3 天后直接进行盆栽覆膜炼苗 7 天,可有效减少炼苗初期外界微生物的直接侵入与叶片对突然强光的敏感反应,缓解试管苗初期根系发育不足导致的缺水现象(Tang et al., 2023),显著提高了试管苗成活率。同时研究表明,在开瓶炼苗前蘸取 50 mg·L⁻¹ 6-BA 溶液对试管苗根部进行预处理,可显著提高移栽成活率,成活率最高可达 94.44%。虽然栽培基质可通过影响植株根系吸收及光合作用能力影响植株生长发育(白瑞琴等, 2023),但本实验所用 2 种基质对组培苗成活率均无显著影

响,可能与其理化性质均适于独花兰根系生长有关(Tang et al., 2023; 刘红等, 2024)。栽培基质对独花兰组培苗移栽成活率的影响仍待进一步研究。

综上,在独花兰假鳞茎再生体系中,以 75%乙醇消毒 30 秒后经 0.1%升汞消毒 12 分钟灭菌效果最佳;且选用 5 月采集的完整假鳞茎进行不定芽诱导时诱导率最高。在不定芽诱导与生根阶段,低浓度 NAA 和 6-BA 组合有助于假鳞茎诱导不定芽,最佳诱芽培养基为 1/2 MS+1.0 mg·L⁻¹6-BA+0.5 mg·L⁻¹ NAA;最佳生根培养基为 1/2 MS+0.4 mg·L⁻¹6-BA+1.0 mg·L⁻¹ NAA。炼苗前,用 50 mg·L⁻¹ 6-BA 对试管苗根部进行预处理,随后覆膜炼苗 7 天,可显著提高移栽成活率。本研究初步构建了独花兰假鳞茎再生体系,但不定芽增殖与分化效率仍有待通过优化植物生长调节剂配比来进一步提升。

作者贡献声明

杨胜妃:设计并完成实验,数据分析,论文初稿撰写;邓钰焯:数据整理及结果分析;蔡诗云,彭银:提出改进意见并参与论文修改;刘雅菲:参与实验设计及结果分析;丁远杰(项目负责人):构思并指导实验设计,数据分析,论文写作与修改。

参考文献

- Bai RQ, Guo YZ, Meng WH, Wang HB, Fan XD, Chen JR (2023). Screening of new substrate for *Phalaenopsis* 'Big Chili'. *North Hortic* (11), 68–74. (in Chinese)
- 白瑞琴, 郭燕忠, 孟文慧, 王红彬, 范旭东, 陈佳蕊(2023). 蝴蝶兰品种‘大辣椒’新优栽培基质的筛选. *北方园艺*(11), 68–74.
- Castillo-Pérez LJ, Alonso-Castro AJ, Fortanelli-Martínez J, Carranza-Álvarez C (2022). Micropropagation of *Catasetum integerrimum* Hook (Orchidaceae) through seed germination and direct shoot regeneration from pseudobulbs and roots. *In Vitro Cell Dev Biol Plant* **58**, 279–289.
- Chen JT, Chang WC (2001). Effects of auxins and cytokin in somatic embryo genesis on leaf explants of orchid *Cymbidium* 'Gower Ramsey'. *Plant Growth Regul* **34**, 229–232.
- Chen XH, Ding LN, Xiao YZ, Xu H, Wang WB, Ding R, Qu B (2023). The complete chloroplast genome sequences of four *Liparis* species (Orchidaceae) and phylogenetic implications. *Gene* **888**, 147760.
- Fu LG (1992). The Red Book of Chinese Plants—Rare and Endangered Plants, Vol.1. Beijing: Science Press. pp. 490–491. (in Chinese)
- 傅立国(1992). 中国植物红皮书——稀有濒危植物(第 1 卷). 北京: 科学出版社. pp. 490–491.
- Gao L, Yang B, Li HL (2010). Tissue culture and rapid propagation of *Changnienia amoena* (bulletin). *Subtrop Plant Sci* **39**(03), 79. (in Chinese)
- 高丽, 杨波, 李洪林(2010). 独花兰组织培养与快速繁殖(简报). *亚热带植物科学* **39**(03), 79.
- Han R, You L, Jiang MT, Wang DK, Chen N, Zhai JW, Wu SS (2023). Source-sink exchange during the growth and development of *Pleione formosana*. *Chin J Trop Crops* **44**, 2330–2342. (in Chinese)
- 韩茹, 游乐, 江鸣涛, 汪得凯, 陈妮, 翟俊文, 吴沙沙(2023). 台湾独蒜兰生长发育过程中源库关系转换研究. *热带作物学报* **44**, 2330–2342.
- He J, Tan BHG, Qin L (2011). Source-to-sink relationship between green leaves and green pseudobulbs of C3 orchid in regulation of photosynthesis. *Photosynthetica* **49**, 209–218.
- Holderbaum DF, Guera MP, Kon T, Guerra MP (2010). Enzymatic browning, polyphenol oxidase activity. And polyphenols in four apple cultivars: dynamics during fruit development. *Hortic Sci* **45**, 1150–1154.
- Huang AD, Lan ZQ, Wu T (2016). Research on Noni bottle seedling refining and transplanting technology. *J South China Fruit Tree* **45**(05), 76–79, 83. (in Chinese)
- 黄奥丹, 蓝增全, 吴田(2016). 诺丽瓶苗炼苗及移栽技术研究. *中国南方果树* **45**(05), 76–79, 83.
- Huang XY (2024). Optimization of a Fast Breeding System for *Cymbidium goeringii* in

- Group Culture. Master's thesis. Guiyang: Guizhou University. pp. 6. (in Chinese)
黄小艳(2024). 春兰(*Cymbidium goeringii*)组培快繁体系的优化. 硕士学位论文. 贵阳: 贵州大学. pp. 6.
- Jiang WM, Zhao MS, Fu CX** (2011). Studies on *in vitro* regeneration competence of pseudobulb cultures in *Changnienia amoena* Chien. *Sci Bull* **56**, 2580–2585.
- Li L, Qiu YF, Gui CM, Guan Y, Tian H, Tang M, Liang GP, Duan AA, Wu Y** (2018). Seedling induction from somatic embryos and effects of domestication and transplant on growth of rubber tree (*Hevea brasiliensis*). *Plant Physiol J* **54**, 1797–1802. (in Chinese)
李玲, 邱彦芬, 桂明春, 管艳, 田海, 唐敏, 梁国平, 段安安, 吴裕(2018). 橡胶树体细胞胚成苗诱导及炼苗移栽对生长的影响. 植物生理学报 **54**, 1797–1802.
- Li XQ, Sheng YH, Fu YG, Zhou Y, Zhao Y, Ling P, Song XQ, Wang J** (2020). Establishment of efficient regeneration system of *Oncidium*. *J South Agric* **51**, 1169–1175. (in Chinese)
李雪青, 盛玉辉, 付瑛格, 周扬, 赵莹, 凌鹏, 宋希强, 王健(2020). 文心兰高效再生体系的建立. 南方农业学报 **51**, 1169–1175.
- Liu GS, Yang L, Dong HH, Ha DL, Ju YX** (2013). Study on tissue culture of *Changnienia amoena*. *J Anhui Agric Sci* **41**, 9195–9196. (in Chinese)
刘国顺, 杨丽, 董卉卉, 哈登龙, 琚煜熙(2013). 独花兰组织培养研究. 安徽农业科学 **41**, 9195–9196.
- Liu H, Ma F, Wei XY, Sun Y** (2024). Comprehensive evaluation of effects of light substrate ratio on growth and physiology biochemistry characteristics of *Cymbidium goeringii*. *Jiangsu Agric Sci* **52**(07), 133–142. (in Chinese)
刘红, 马辉, 魏晓羽, 孙叶(2024). 轻基质配比对春兰生长和生理生化特性影响的综合评价. 江苏农业科学 **52**(07), 133–142.
- Liu SS, Zhang SB** (2013). Research on tissue culture of *Changnienia amoena* S.S Chien. *J Green Sci Technol* (11), 36, 39. (in Chinese)
刘赛思, 张树宝(2013). 独花兰组织培养研究. 绿色科技(11), 36, 39.
- Liu XJ, Sun QM, Li, Ling TT, Wang SA, Shen JH, Sun YQ, Li MM** (2025). Predicting current and future potential distribution of *Changnienia amoena* in China under global climate change. *Sci Rep* **15**, 17640.
- Luo FX, Liu J, Li ZL, Wang XM, Qu SP, Wang YY** (2024). Study on the culture of F₁ protocorms and rhizomes of *Cymbidium* and *Doumbalium*. *North Hortic* (08), 34–43. (in Chinese)
罗富寻, 刘俊, 李枝林, 王晓萌, 瞿素萍, 王玉英(2024). 大花蕙兰+豆瓣兰 F₁ 代原球茎和根状茎培养研究. 北方园艺 (08), 34–43.
- Murvanidze N, Doleal K, Plaková L, Werbrouck SPO** (2024). Metabolism of fluorinated topolin cytokinins in micropropagated *Phalaenopsis amabilis*. *Horticultrae* **10**(7), 727.
- Pan M, Fu RK, Huang S, Qi HS, Wang JF, Lu DR** (2017). Study on sterilization technology of explant of wild Zingiberaceae Plant *Stahlianthus involucratus*. *Chin Wild Plant Res* **36**(03), 23–26. (in Chinese)
潘梅, 符瑞侃, 黄赛, 戚华莎, 王景飞, 吕德任(2017). 野生姜科植物土田七的外植体灭菌技术研究. 中国野生植物资源 **36**(03), 23–26.
- Qi ZY, Zhou YZ, Ai Y, Peng DH** (2019). Tissue culture for rapid propagation of a *Cymbidium goeringii* Hybrid. *Fujian J Agric Sci* **34**, 1032–1039. (in Chinese)
漆子钰, 周育真, 艾叶, 彭东辉(2019). 春兰‘黄梅’×‘黄荷’杂交 F₁ 根状茎的组培快繁研究. 福建农业学报 **34**, 1032–1039.
- Rianawati S, Suryanah, Syafni, Musalamah, Dwiatmini K, Marwoto B** (2021). Hybridization and *In Vitro* seed germination of a commercial hybrid *Oncidium* orchid in Indonesia. *IOP Confer Ser Earth Environ Sci* **715**(1), 012034 (9pp).
- Tang YK, Shen YZ, Feng HQ, Wu H, Mao RX, Ai WD, Wu ZQ** (2023). Study on primary physicochemical characteristics and nutrient adsorption of four plant cultivation substrates. *Life Sci Space Res* **36**, 78–85.
- Wang GQ** (2014). National Compendium of Chinese Herbal Medicines, Vol.3 (3rd ed). Beijing: People's Health Publishing House. pp.144. (in Chinese)

- 王国强(2014). 全国中草药汇编,第3卷(第3版). 北京: 人民卫生出版社. pp. 144.
- Wang NH, Cheng ZL** (1994). Observations on the biology of *Changnienia amoena* S.S. Chien and a preliminary report on propagation studies. *ChinBot Bull* **11**(1X), 53–55. (in Chinese)
- 王年鹤, 程增林(1994). 独花兰的生物学特性观察和繁殖研究初报. 植物学通报 **11**(1X), 53–55.
- Wu ZY** (1999). Flora of China, Vol.18. Beijing: Science Press. pp.171. (in Chinese)
- 吴征镒(1999). 中国植物志,第18卷. 北京: 科学出版社. pp. 171.
- Xiao XJ, Luo T, Wang F** (2017). Research progress on browning phenomenon and control measures during tissue culture of woody plants. *Jiangsu Agric Sci* **45**(16), 20–24. (in Chinese)
- 肖小君, 罗潼, 王芳(2017). 木本植物组织培养过程中褐变现象及控制措施的研究进展. 江苏农业科学 **45**(16), 20–24.
- Yang SM, Tang RN, Cheng MY, Niu MQ, Chen HM, Peng DH** (2023). Study on the proliferation and differentiation of rhizomes in the hybrid progeny of hybrid orchid 'Hongmeiren' × *Cymbidium kanran* 'Yangguifei'. *North Hortic* (14), 63–70. (in Chinese)
- 杨松敏, 唐若楠, 程梦雅, 牛沐奇, 陈和明, 彭东辉(2023). 杂交兰 '红美人' × 寒兰 '杨贵妃' 杂交后代增殖与分化研究. 北方园艺(14), 63–70.
- Yang ZJ, Wen HK, Chen XY, He BZ, Liu JH, Xu M, Liao SF, Zheng JG** (2019). Study on tissue culture technology of *Agave americana* var. *marginata*. *Jiangsu Agric Sci* **47**(05), 37–39. (in Chinese)
- 杨志坚, 温杭凯, 陈选阳, 何碧珠, 刘江洪, 许明, 廖素风, 郑金贵(2019). 金边龙舌兰组织培养技术研究. 江苏农业科学 **47**(05), 37–39.
- Yin F** (2006). Studies on Mechanism of Browning of Tissue Culture in *Phalaenopsis*. spp. Master's thesis. Changsha: Hunan Agricultural University. pp. 22–23. (in Chinese)
- 印芳 (2006). 蝴蝶兰组织培养褐变机理的研究. 硕士学位论文. 长沙: 湖南农业大学. pp. 22–23.
- Yuan C, Zhang X, Wang JH, Zhao MX, Xu DW** (2023). Pinch point extraction method for *phalaenopsis* tissue-cultured seedlings based on salient feature. *Trans Chin Soc Agric Engin* **39**(13), 151–159. (in Chinese)
- 苑朝, 张鑫, 王家豪, 赵明雪, 徐大伟(2023). 基于显著性特征的蝴蝶兰组培苗夹取点检测方法. 农业工程学报 **39**(13), 151–159.
- Zhang H, Liu XY, Wang SB, Zhu ZK, Wu P** (2022). A advance of research in rare and endangered plant *Changnienia amoena*. *Shaanxi J Agric Sci* **68**(06), 97–101. (in Chinese)
- 张慧, 刘旭阳, 王仕宝, 朱志凯, 吴鹏(2022). 珍稀濒危植物独花兰研究进展. 陕西农业科学 **68**(06), 97–101.
- Zhang YY, Li ZL, He FM, Li YF, Wang YY, Qu SP** (2024). Optimization of the best formula for tissue culture of ornamental miniature orchid. *North Hortic* (13), 49–57. (in Chinese)
- 张月盈, 李枝林, 和凤美, 李叶芳, 王玉英, 瞿素萍(2024). 观赏用微型兰花组织培养最佳配方的优化. 北方园艺 (13), 49–57.
- Zeng H, Li PF, Guo ZH, Liu CL, Ruan Y** (2024). Establishment of a regeneration system for *Lunaria annua*. *Chin Bull Bot* **59**, 433–440. (in Chinese)
- 曾浩, 李佩芳, 郭至辉, 刘春林, 阮颖(2024). 银扇草再生体系的建立. 植物学报 **59**, 433–440.

Establishment of a Regeneration System for *Changnienia amoena*

Shengfei Yang^{1,2}, Yuye Deng^{1,2}, Shiyun Cai³, Yafei Liu¹, Yin Peng³, Yuanjie Ding^{2*}

¹School of Civil Engineering and Architecture, Jishou University, Zhangjiajie427000, China; ²Key Laboratory of Hunan Forest Products and Chemical Engineering, Jishou University, Zhangjiajie427000, China; ³Lixian County Agriculture and Rural Affairs Bureau, Changde 415000, China

INTRODUCTION: *Changnienia amoena* is listed as a national second-class protected plant. It is a rare orchid species unique to China, as well as a valuable medicinal plant and a potential wild potted flower germplasm resource with great development potential. Currently, wild resources of *C. amoena* are rapidly declining, making conservation efforts crucial.

RATIONALE: Research on *C. amoena* regeneration technology has mainly focused on different combinations of plant growth regulators, and a complete regeneration system has not yet been established. Tissue culture technology plays a crucial role in the conservation of wild *C. amoena* resources, and research on its regeneration system can promote the sustainable development and utilization of these resources.

RESULTS: The results showed that: (1) 75% ethanol had a significant effect on the sterilization of *C. amoena* pseudobulbs, and the best sterilization treatment for *C. amoena* pseudobulbs was to use 75% ethanol for 30 seconds, followed by 0.1% mercuric acid solution for 12 minutes; (2) The pseudobulbs were able to induce adventitious buds under the different blocking treatments, but the effect of the adventitious buds was that the complete pseudobulbs > the halved pseudobulbs > the cruciform block pseudobulbs and the rate of germination was much higher than that of the blocking treatment; (3) Considering the browning rate, contamination rate, survival rate and induced germination rate, the optimal collection time for *C. amoena* pseudobulbs to be used as explants for adventitious shoots induced in May; (4) The optimal medium for the adventitious shoots of *C. amoena* pseudobulbs was 1/2 MS+1.0mg·L⁻¹ 6-BA+ 0.5mg·L⁻¹ NAA, with an induction rate of 75.56%; the optimal rooting medium is 1/2 MS+0.4 mg·L⁻¹ 6-BA+1.0 mg·L⁻¹ NAA, with a rooting rate of up to 93.33%; (5) After treatment with a 50 mg·L⁻¹ 6-BA solution, the histocultured plantlets were transplanted into humus soil and covered with plastic film for hardening. The survival rate was as high as 94.44%.

CONCLUSION: In this study, the pseudobulbs of *C. amoena* were used as explants to explore the effects of sterilization conditions, the way of explant cutting, different collection times, and the concentration of plant growth regulators on the sterilization effect of explants, inducing adventitious shoots and rooting of histocultured plantlets, and to conduct a preliminary study on the regeneration system of *C. amoena*, which can help to protect the germplasm resources of *C. amoena*, and provide a theoretical basis and technical references for the future propagation of *C. amoena*.

Key words *Changnienia amoena*, pseudobulb, regeneration in isolation, indeterminate buds, rooting culture

Yang SF, Deng YY, Cai SY, Liu YF, Peng Y, Ding YJ (2026). Establishment of a regeneration system for *Changnienia amoena*. *Chin Bull Bot* **61**, 1–11.

* Author for correspondence. E-mail: dingyuanjie@jisu.edu.cn

(责任编辑: 白羽红)

通讯作者简介

丁远杰, 吉首大学林产化工工程湖南省重点实验室讲师, 中山大学生理学博士, 高级工程师, 湖南省科技特派员, 湖南省“三区”科技人才。长期从事重要经济作物和中药材种质资源开发与标准化栽培工作。发表 SCI 论文多篇。