

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201812057

引文格式: 刘洋, 王玉英, 李枝林, 等. 大花蕙兰‘红酒’×莲瓣兰‘边草素花’杂交种组培快繁技术 [J]. 广西植物, 2019, 39(10): 1327-1333.

LIU Y, WANG YY, LI ZL, et al. Tissue culture and rapid propagation techniques in *Cymbidium hybridum* ‘hongjiu’ × *C. tortisepalum* ‘biancaosuhua’ [J]. *Guihaia*, 2019, 39(10): 1327-1333.

大花蕙兰‘红酒’×莲瓣兰‘边草素花’ 杂交种组培快繁技术

刘洋, 王玉英, 李枝林*, 李茹

(云南农业大学 园林园艺学院, 昆明 650201)

摘要: 该研究以大花蕙兰‘红酒’(*Cymbidium hybridum* ‘hongjiu’)×莲瓣兰‘边草素花’(*C. tortisepalum* ‘biancaosuhua’) F1 代杂交种原球茎和根状茎为材料, 比较了不同激素配比增殖分化、生根的培养基, 建立了适用杂交兰组培快繁体系。结果表明: 1/2MS+6-BA 1.0 mg · L⁻¹+NAA 1.0 mg · L⁻¹+AC 0.05%+香蕉 80 g · L⁻¹对原球茎增殖效果最佳, 增殖率达到 307%; 1/2MS+6-BA 1.5 mg · L⁻¹+NAA 1.0 mg · L⁻¹+AC 0.05%+香蕉 80 g · L⁻¹有利于原球茎分化, 分化率为 82%; 1/2MS+TDZ 2.0 mg · L⁻¹+NAA 0.1 mg · L⁻¹+AC 0.05%+香蕉 80 g · L⁻¹对根状茎增殖分化效果最佳, 增殖率为 293%, 分化率为 79%; 1/2MS+IBA 0.5 mg · L⁻¹+NAA 0.3 mg · L⁻¹+AC 0.05%+香蕉 80 g · L⁻¹为最佳生根培养基, 生根率达到 84.7%, 且根粗苗壮, 叶色浓绿。此体系为杂交兰种苗的规模化生产提供了技术支持。

关键词: 兰花杂交种, 根状茎, 原球茎, 增殖与分化

中图分类号: Q945 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2019)10-1327-07

Tissue culture and rapid propagation techniques in *Cymbidium hybridum* ‘hongjiu’ × *C. tortisepalum* ‘biancaosuhua’

LIU Yang, WANG Yuying, LI Zhilin*, Li Ru

(Institute of Landscape Plants, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

Abstract: A rapid propagation technique system of hybrid orchid was established by comparing the effects of different hormone ratios on proliferation and rooting, with the protocorms and rhizomes of F1 hybrids of *Cymbidium hybridum* ‘hongjiu’ and *C. tortisepalum* ‘biancaosuhua’ were used as materials. The results were as follows: 1/2MS+6-BA 1.0 mg · L⁻¹+NAA 1.0 mg · L⁻¹+AC 0.05%+banana 80 g · L⁻¹ had the best conductive effects on proliferation of protocorm, and the proliferative rate reached to 307%; 1/2MS+6-BA 1.5 mg · L⁻¹+NAA 1.0 mg · L⁻¹+AC 0.05%+banana 80 g · L⁻¹ medium was beneficial to differential protocorm culture, and the differential rate was 82%; 1/2MS+TDZ 2.0 mg · L⁻¹+

收稿日期: 2019-05-25

基金项目: 云南省重点新产品开发计划项目(2012BB008); 云南农业大学自然科学基金青年科研基金(2016ZR10) [Supported by the Key New Product Development of Yunnan Province, China (2012BB008); Natural Science Youth Research Foundation of Yunnan Agricultural University (2016ZR10)].

作者简介: 刘洋(1994-), 女, 湖南邵阳人, 硕士研究生, 主要从事园林植物资源利用与创新研究, (E-mail) 893747155@qq.com。

*通信作者: 李枝林, 硕士, 教授, 主要从事植物资源的利用和创新研究, (E-mail) 13708870986@139.com。

NAA 0.1 mg · L⁻¹+AC 0.05%+banana 80 g · L⁻¹ medium was conducive to proliferation and differentiation of rhizome, and the proliferative rate reached 293%, the differential rate was 79%. Medium of 1/2MS+IBA 0.5 mg · L⁻¹+NAA 0.3 mg · L⁻¹+AC 0.05%+banana 80 g · L⁻¹ was the best for rooting, the rooting rate was 84.7%, and the roots were healthy with strong seedlings, and the leaves were dark green. This system provides technical support for large-scale production of hybrid orchid seedlings.

Key words: Orchid hybrid, rhizome, protocorm, proliferation and differentiation

兰花为中国传统名花,观赏价值极高。国兰(Chinese Cymbidium)是中国传统十大名花之一,通常是指兰科兰属(*Cymbidium*)植物中的部分地生兰,其花型较小,但气味芳香、叶态优美。大花蕙兰(*Cymbidium hybridum*)属兰科(Orchidaceae)兰属(*Cymbidium*)多年生草本植物,是兰属内一些附生兰杂交种的统称,其大部分品种叶片长且披散,花无香味(朱根发等,2004)。大花蕙兰‘红酒’为大花、早开花品种,常在圣诞节前后开花,可用于培育圣诞节开花的红花盆栽品种。莲瓣兰‘边草素花’是兰科兰属多年生草本植物,属地生兰,为细叶莲瓣兰类,叶槽较深,叶边金黄色,花为淡黄色全素,开花2~4朵,花幽香。

以‘红酒’×‘边草素花’为亲本进行种间杂交,意在获得花期长、花朵较大、鲜艳美丽且有香味的兰花新品种。对大花蕙兰(*Cymbidium hybridum*)若采用传统的分株繁殖,则繁殖速度慢、周期长(卢思聪,1994),且大多是引进的国外优良品种,难以满足市场需求,因此需通过组织培养来快速繁殖大花蕙兰。国内外已开展了对兰花杂交种的研究,目前已有数千个品种,但对地生兰和附生兰杂交种的研究较少。近年来,国内的研究大多集中在杂交育种和胚培养方面(郑立明,2010;朱根发等,2005;丁长春和夏念和,2011;陈瑶瑶等,2009),杂交兰原球茎的增殖分化研究报道较多(宋莲等,2017;谢利等,2014),根状茎报道较少,但对大花蕙兰‘红酒’×莲瓣兰‘边草素花’F1代杂交种的快繁技术目前尚未见有研究报道。因此,本研究以大花蕙兰‘红酒’×莲瓣兰‘边草素花’F1代杂交种的根状茎和原球茎为材料,在不同的培养基上进行增殖分化、生根,以筛选出最适培养基,从而为杂交兰的工厂化生产和新品种选育奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

大花蕙兰‘红酒’(♀)与莲瓣兰‘边草素花’(♂)杂交种原球茎和根状茎材料,由云南农业大学花卉研究所自主培育。杂交种萌发后产生原球茎和根状茎。杂交兰产生的胚状体长条状称为根状茎,形成的胚状体圆球形称为原球茎,从中分别挑选出性状长势一致的原球茎和根状茎为试验材料。本试验在云南农业大学园林园艺学院花卉所组培实验室进行。

1.2 方法

1.2.1 原球茎和根状茎的增殖分化 将原球茎大小为0.3 cm和根状茎约为1.5 cm,分别接种于1/2MS基本培养,添加不同浓度配比的NAA、TDZ和6-BA,附加香蕉80 g · L⁻¹和活性炭0.5 g · L⁻¹,暗培养45 d后再进行光照培养。培养条件为温度(23 ± 2) °C,光照度1 800~2 500 lx。pH5.8,琼脂7 g · L⁻¹和蔗糖30 g · L⁻¹。每处理42个原球茎,根状茎处理30个,重复3次。对30 d后的增殖率和60 d后的出芽率进行数据分析。

1.2.2 生根培养 将苗高2~3 cm的无根苗接种于1/2MS基本培养添加如下植物激素浓度:6-BA 0.3 mg · L⁻¹,NAA 0~2.0 mg · L⁻¹和IBA 0~1.0 mg · L⁻¹上进行光照培养,培养条件同上。培养60 d统计生根率、根长、根粗等情况。

1.3 数据统计分析

原球茎增殖分化阶段每瓶5个,每处理10瓶,重复3次;根状茎增殖分化阶段每瓶5个,每处理10瓶,重复3次;生根培养阶段每瓶5苗,每处理10瓶,重复3次。数据采用DPS9.50统计软件分析进行差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 不同激素配比对原球茎增殖分化的影响

在原球茎增殖分化培养基中,培养 10 d 后,开始增殖、出芽分化,随着天数的增加,增殖率、出芽率增大,30 d 后不同激素配比培养基增殖率、出芽率有所差异。由表 1 可知,随着 6-BA 浓度的增加,增殖率出现了先上升后下降的趋势,不同浓度 6-BA 对杂交兰原球茎增殖分化影响显著,2 号培养基 1/2MS+6-BA 1.0 mg · L⁻¹+NAA 1.0 mg · L⁻¹+AC 0.05%+香蕉 80 g · L⁻¹ 对原球茎增殖分化最好,增殖率为 307%;比 6-BA 2.0 mg · L⁻¹、2.5 mg ·

L⁻¹的培养基显著高 186%、344%,数据表明 6-BA 浓度高于 2.0 mg · L⁻¹,原球茎增殖率明显下降,原球茎出芽率增殖不明显,5 号培养基出现了部分褐化,由此可见激素浓度大于一定限度不利于原球茎增殖。3 号培养基出芽率显著高于其他培养基,出芽率为 82%,分别比添加 NAA 1.0、2.0、2.5 mg · L⁻¹培养基培养的出芽率显著高 105%、78%、310%,芽体翠绿,无褐化情况,可见 6-BA 1.5 mg · L⁻¹最适于原球茎出芽增殖,太低或太高浓度的 6-BA 均不能启动芽分化,还会导致出芽黄化。

以上结果表明,6-BA 1.0 mg · L⁻¹有利于原球茎增殖,6-BA 1.5 mg · L⁻¹促进分化培养效果最佳,高浓度 6-BA 抑制了增殖分化效果。

表 1 不同培养基对原球茎增殖分化的影响

Table 1 Effects of different media on proliferation and differentiation protocorms

培养基编号 Medium number	6-BA 浓度 6-BA concentration (mg · L ⁻¹)	NAA 浓度 NAA concentration (mg · L ⁻¹)	接种数 Inoculation number	增殖数 Proliferation number	增殖率 Proliferation rate (%)	出芽数 Budding number	出芽率 Budding rate (%)
1	0.5	1.0	42	57	143c	27	27c
2	1.0	1.0	42	123	307a	66	40b
3	1.5	1.0	42	90	221b	108	82a
4	2.0	1.0	42	44	107d	39	46b
5	2.5	1.0	42	27	69e	14	20c

注: 同列数据后不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。下同。

Note: Different lowercase letters in the same column show significant differences ($P < 0.05$). The same below.

2.2 不同激素配比对杂交兰根状茎增殖分化的影响

将原球茎诱导出来的根状茎接种于不同浓度的培养基中进行培养,随时间延长增殖分化出根状茎、不定芽,结果如表 2 所示。不同浓度 TDZ 对根状茎增殖分化效果明显,NAA 浓度为 0.3 mg · L⁻¹,处理 1 比含 TDZ 2.0 mg · L⁻¹、3.0 mg · L⁻¹的培养基显著高 288%、443%,随着 TDZ 浓度的增加,增殖率出现了明显下降的趋势,表明高浓度的 TDZ 不利于根状茎增殖,根状茎长度增长不明显,颜色较浅。TDZ 浓度为 2.0 mg · L⁻¹时,NAA 浓度

为 0.1 mg · L⁻¹分化效果最佳,分别比添加 NAA 0.3 mg · L⁻¹、0.5 mg · L⁻¹的培养基显著高 216%、203%,且颜色呈绿色,根状茎长度明显增长,在原有的根状茎上增殖出长短不一的根状茎,茎周围新长出茂密的绒毛。随着 NAA 浓度增加分化率越低,抑制芽的分化,芽体颜色较浅,为淡绿色。所以综合考虑 4 号培养基 1/2MS+TDZ 2.0 mg · L⁻¹+NAA 0.1 mg · L⁻¹+AC 0.05%+香蕉 80 g · L⁻¹对根状茎增殖分化效果最佳,增殖率为 293%,出芽率为 79%,出芽较多,芽体呈绿色。

以上结果表明,TDZ 2.0 mg · L⁻¹和 NAA 0.1

表 2 不同培养基对根状茎增殖分化的影响
Table 2 Effects of different media on proliferation and differentiation rhizome

培养基编号 Medium number	TDZ 浓度 TDZ concentration ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	NAA 浓度 NAA concentration ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	接种数 Inoculation number	增殖数 Proliferation number	增殖率 Proliferation rate (%)	出芽数 Budding number	出芽率 Budding rate (%)
1	1.0	0.3	30	49	163b	25	32c
2	2.0	0.3	90	38	42d	59	46b
3	3.0	0.3	90	27	30d	29	25c
4	2.0	0.1	30	88	293a	92	79a
5	2.0	0.5	30	23	77c	14	26c

$\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 组合使用有利于根状茎的增殖分化,高浓度的 TDZ、NAA 抑制根状茎的增殖分化效果。

2.3 不同 NAA、IBA 浓度生根的影响

将原球茎和根状茎分化的无根小苗接种于不同培养基中培养,随着时间延长,苗体数量不断增加,60 d 统计结果如表 3 可知,不同激素配比的培养基对植株生根有影响。2 号培养基和 3 号培养基的生根率均较高,NAA 浓度在 $0.5 \sim 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 为最佳浓度,生根率均达到 72%,根系诱导较好,根粗而多,叶色浓绿,长势好;当 NAA 浓度大于 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,苗的生根受到抑制,生根率出现了先上升后下降的趋势;受诱导形成的组培苗本身激素含量的影响,壮苗培养时低浓度的 NAA 可以更好地促进苗体生长,比添加 NAA $1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 显著高 46%、140%。但是,不添加 NAA 植株则表现为矮化,叶片部分黄化。随着 IBA 浓度增大,生根率也明显提高,生根率出现了先上升后下降的趋势。在左利娟等(2015)的研究中 IBA 浓度对杂交兰根状茎有促进作用,本研究 NAA $0.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 IBA $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 组合使用为最佳浓度,生根率为 84.7%,分别比添加 IBA $0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $0.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的培养基显著高 11%、32.9%、57.4%。综合考虑,1/2MS+IBA $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +NAA $0.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +AC 0.05%+香蕉 $80 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 为最佳生根培养基。

以上结果表明,高浓度 NAA 抑制了生根效果,IBA $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 NAA $0.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 组合使用促进

植株生根,且叶色浓绿,根数较多而粗,苗长势良好。

3 讨论与结论

兰科植物大多是由原球茎分化成完整植株 (Amaki & Haguchi, 1989),杂交兰诱导分化出原球茎进一步生长为根状茎(王国兴,1989),用于兰花组培的材料主要有茎尖、叶片、种子,目前大多采用种子萌发形成中间材料进行扩繁,本研究以杂交兰原球茎和根状茎为材料进行组培研究,以期实现杂交兰的规模化繁殖。

原球茎增殖分化选择培养基尤为重要,适宜浓度的激素配比对原球茎的增殖分化影响较大。吴彦秋等(2016)以杜鹃兰原球茎为材料,对比在 1/2MS、MS、VW、KC 培养基上的不同生长情况,1/2MS 培养基的增殖率及长势显著高于其他处理。孙芳等(2012)和孙玉芬等(2014)研究也显示兰属植物组培以 1/2MS 效果较适宜。聂菁等(2016)以蝴蝶兰品种‘红太阳’无菌播种形成的原球茎为材料,6-BA $5.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、NAA $0.7 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 为最佳的类原球茎诱导和增殖培养基浓度;本研究在激素和培养基选择具有相同性,以 1/2MS 培养基中添加 6-BA $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、NAA $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 增殖分化效果最佳,添加 NAA、6-BA 有利于原球茎分化,这与相关研究(宋莲等,2017;胡蕾和申婷,2017)一致,说明不同品种的杂交兰对激素的

表 3 不同激素浓度对杂交种苗生根情况

Table 3 Effects of different hormone concentrations on rooting of hybrid seedlings

编号 No.	IBA 浓度 IBA concentration	NAA 浓度 NAA concentration	6-BA 浓度 6-BA concentration	转接 根数 Root number	生根情况 Rooting condition				苗生长情况 Growth of seedlings
					生根率 Rooting percentage (%)	平均根数 Average number of roots	平均根长 Average length of roots (mm)	根粗 Root diameter	
1	0	0	0.3	0	46.06b	0.89bc	12.57a	+	叶黄化, 长势差 Yellowing, poor growth
2	0	0.5	0.3	0	72.14a	1.23abc	11.50a	+++	叶色浓绿, 长势良好 Leaves are dark green and grow well
3	0	1.0	0.3	0	72.82a	1.62a	9.83ab	++	叶色浓绿, 长势较好 Leaves are dark green and grow well
4	0	1.5	0.3	0	49.61b	1.31ab	8.09b	+	植株矮化, 少量叶片黄化 Plant dwarfing, a small amount of leaf yellowing
5	0	2.0	0.3	0	30.95b	0.84c	7.05b	++	茎粗壮, 长势一般 Stems strong, general growth
6	0	0.3	0	0	39.24b	0.94a	4.7b	+	有部分褐化, 长势差 Partial browning, poor growth
7	0.3	0.3	0	0	63.72ab	1.21a	9.01a	++	苗粗壮, 长势一般 Seedlings are strong and grow normally
8	0.5	0.3	0	0	84.71a	1.33a	8.02a	++	叶色浓绿, 长势良好 Leaves are dark green and grow well
9	1.0	0.3	0	0	53.83ab	1.18a	9.25a	+++	叶色浓绿, 长势一般 Leaves are dark green and grow normally

注: + 代表根粗一般; ++ 代表根粗良好; +++ 代表根粗健壮。

Note: + means roughness of roots is general; ++ means root thickness is good; +++ means root thickness and robustness.

敏感性有差异。杂交兰通过种子萌发获得原球茎, 进一步分化出根状茎, 根状茎增殖速度较慢, 故提高根状茎的繁殖系数尤为关键。陈云喜等(2010)研究表明 6-BA 和 NAA 组合使用促进根状茎增殖分化, 说明原球茎和根状茎增殖分化有其相似性。TDZ 能刺激植株再生(Hutchinson & Saxena, 1996), 但 TDZ 诱导芽变成完整植株存在问题, 如生根困难、不利于芽的生长等(Huetteman & Preece, 1993)。在红花草莓组培诱导过程中 TDZ 的诱导效果优于 6-BA, TDZ 与 NAA 配合使用效果优于与 IBA 的组合(金美芳等, 2017)。在蝴蝶兰的不定芽诱导中, 单独添加 TDZ 或 6-BA 芽诱导率显著高于 NAA 与 TDZ 或 6-BA 的组合(程强强等, 2011)。TDZ 在杂交兰根状茎的增殖分化方面的研究尚未报道, 因此本实验使用 TDZ 和 NAA 促进根状茎增殖, 结果表明 TDZ 浓度 $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $\text{NAA} 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 组合使用时根状茎增殖的最佳效

果, 这与程强强等(2011)的研究有所差异, 可能受植株本身激素的影响, 在增殖培养中所需 NAA 浓度较低, 激素浓度使用有所不同, 使用新型激素 TDZ 和 NAA 组合促进根状茎增殖。组培苗长势决定了其后期扩繁和移栽的难易程度, 许申平等(2018)以墨兰根状茎分化出苗, 培养基 $\text{MS} + 25 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 糖 + $7.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 琼脂 + $2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 活性炭, 墨兰的生根效果最好, 6-BA 和 NAA 浓度增加幼苗生根率下降, 本研究与之相较差异较大, 这可能由杂交兰的特异性决定, 不同杂交兰遗传特性的差异导致在生根阶段所需激素种类不一, 同种激素不同浓度的生根情况有较大区别, 激素选择上, IBA、NAA 组合比 6-BA、NAA 组合生根率要好, 生根培养基选择 $1/2\text{MS}$, IBA $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 NAA $0.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 组合可以促进植株生根, 叶色浓绿, 根数较多而粗, 生根效果最佳, 与左利娟等(2015)的研究一致。有研究表明活性炭促进增殖分化、苗体生根、防止褐

化,王玉英等(2015)在辐射诱变的线艺兰快繁技术体系研究中加入了 $80 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 香蕉泥;本研究在增殖分化、生根培养中均添加了香蕉泥和活性炭来促进苗体生长,减轻叶片褐化现象。

本研究结果表明,诱导筛选并建立了大花蕙兰‘红酒’ \times 莲瓣兰‘边草素花’杂交兰的快繁技术体系,研究表明:最适宜原球茎增殖的培养基为 $1/2\text{MS}+6\text{-BA } 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}+\text{NAA } 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}+\text{AC } 0.05\%+\text{香蕉 } 80 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$;原球茎分化最佳培养基为 $1/2\text{MS}+6\text{-BA } 1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}+\text{NAA } 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}+\text{AC } 0.05\%+\text{香蕉 } 80 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$; $1/2\text{MS}+\text{TDZ } 2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}+\text{NAA } 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}+\text{AC } 0.05\%+\text{香蕉 } 80 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 对根状茎增殖分化效果最佳; $1/2\text{MS}+\text{IBA } 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}+\text{NAA } 0.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}+\text{AC } 0.05\%+\text{香蕉 } 80 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 为最佳生根培养基,此体系的建立为种苗生产提供了技术支持。

参考文献:

AMAKI W, HAGUCHI H, 1989. Effects of dividing on the growth and organogenesis of protocorm-like bodies in *Dortae-noosis* [J]. *Sci Hort*, 39(1): 63-68.

CHEN YY, ZHANG Y, ZHANG C, et al., 2009. A study on aseptic seed germination of interspecific hybrid between *Cymbidium hybrida* \times *C. sinense* and *C. faberi* [J]. *Acta Hort* Sin, 36(3): 441-446. [陈瑶瑶, 张燕, 张琛, 等, 2009. 杂交兰‘韩国桃花’ \times 蕙兰种间杂交种子无菌萌发特征研究 [J]. *园艺学报*, 36(3): 441-446.]

CHEN YX, HE DD, LIAO HR, et al., 2010. Factors influencing on shoot differentiation of rhizome of *Cymbidium sinense* \times *Cymbidium lancifolium* [J]. *Chin Agric Sci Bull*, 26(9):65-69. [陈云喜, 何丹丹, 廖浩如, 等, 2010. 影响墨兰 \times 兔耳兰根状茎芽分化的因素 [J]. *中国农学通报*, 26(9):65-69.]

CHENG QQ, ZHUANG DH, XU DX, et al., 2011. The high-frequency induction of adventitious shoots and plant regeneration from leaf explants of *Phalaenopsis* with added thidiazuron [J]. *Sci Plant J*, 29(4):524-530. [程强强, 庄东红, 许大熊, 等, 2011. TDZ 高效诱导蝴蝶兰叶片不定芽及植株再生 [J]. *植物科学学报*, 29(4):524-530.]

DING CC, XIA NH, 2011. Embryo culture of interspecific hybrid between *Cymbidium tortisepalum* and *C. skymint* patty [J]. *SW Chin J Agric Sci*, 24(4):1609-1611. [丁长春, 夏念和, 2011. 莲瓣兰与大花蕙兰‘黄金薄荷’种间杂种胚培养研究 [J]. *西南农业学报*, 24(4):1609-1611.]

HU L, SHEN T, 2017. Tissue culture and rapid propagation of hybrid orchid [J]. *J Zhejiang Agric Sci*, 58(2):259-260+264. [胡蕾, 申婷, 2017. 杂交兰的组织培养与快繁技术 [J]. *浙江农业科学*, 58(2):259-260+264.]

HUTCHINSON MJ, SAXENA PK, 1996. Acetylsalicylic acid enhances and synchronizes TDZ-induced somatic embryogenesis in geranium (*Pelargonium* \times *hortorum* Bailey) tissue cultures [J]. *Plant Cell Rep*, 15:512-515.

HUETTEMAN CA, PREECE JE, 1993. TDZ: A potent cytokinin for woody plant tissue culture [J]. *Plant Cell Tissue Organ Cult*, 33:105-119.

JIN MF, CAO Z, CAI JJ, et al., 2017. Tissue culture and rapid propagation technique of red-flowered strawberry [J]. *Guihaia*, 37(11):1395-1405. [金美芳, 曹智, 蔡俊杰, 等, 2017. 红花草莓的组织培养与快繁技术研究 [J]. *广西植物*, 37(11):1395-1405.]

LU SC, 1994. Chinese *Cymbidium* and tactics of orchids [M]. Beijing: Golden Shield Press: 62-81. [卢思聪, 1994. 中国兰与洋兰 [M]. 北京:金盾出版社: 62-81.]

NIE Q, LIU LF, REN HH, et al., 2016. Preliminary study on multiplication and regeneration system of protocorm-like bodies in phalaenopsis [J]. *Shanxi Univ (Nat Sci Ed)*, 39(2):318-32. [聂菁, 刘丽凤, 任海虹, 等, 2016. 蝴蝶兰类原球茎诱导、增殖及植株再生条件初步研究 [J]. *山西大学学报(自然科学版)*, 39(2):318-32.]

SONG L, WANG YY, ZHANG YH, et al., 2017. Polyploid induction in *Cymbidium sinense* ‘Lv mosu’ \times *Cymbidium hybridum* ‘Shijieheping’ rapid propagation techniques [J]. *Jiangsu J Agric Sci*, 45(24): 41-43. [宋莲, 王玉英, 张宇欢, 等, 2017. 墨兰绿墨素与大花蕙兰世界和平杂交种组培快繁技术 [J]. *江苏农业科学*, 45(24):41-43.]

SUN F, LI CX, ZHANG L, et al., 2012. Study on rapid propagation and differentiation of filial generation of *Cymbidium goeringii* [J]. *Chin Agric Sci Bull*, 28(10):189-193. [孙芳, 李承秀, 张林, 等, 2012. 春兰名品杂交后代快繁与分化研究 [J]. *中国农学通报*, 28(10):189-193.]

SUN XF, NING HJ, ZHANG SY, et al., 2006. Proliferation and differentiation of rhizomes from a filial generation of *Cymbidium goeringii* \times *Cymbidium hybridum* [J]. *J Zhejiang A & F Univ*, 31(1):156-161. [孙玉芬, 宁惠娟, 张韶伊, 等, 2006. 春兰与大花蕙兰杂交后代根状茎增殖与分化条件 [J]. *浙江农林大学学报*, 31(1):156-161.]

SONG L, WANG YY, ZHANG YH, et al., 2017. Polyploid induction in *Cymbidium sinense* ‘Lv mosu’ \times *Cymbidium hybridum* ‘Shijieheping’ rapid propagation techniques [J]. *Jiangsu J Agric Sci*, 45(24): 41-43. [宋莲, 王玉英, 张宇欢, 等, 2017. 墨兰绿墨素与大花蕙兰世界和平杂交种组培快繁技术 [J]. *江苏农业科学*, 45(24):41-43.]

WANG GX, 1989. Preliminary study on stems of *Cymbidium*

- plants [J]. *Acta Hortic Sin*, (4):314-315. [王国兴, 1989. 兰属(*Cymbidium*)植物茎的初探 [J]. 园艺学报, (4):314-315.]
- WU YQ, LÜ X, LI XL, et al., 2016. Culture conditions of protocorms proliferation of *Cremastra appendiculata* [J]. *N Hortic*, (19):124-128. [吴彦秋, 吕享, 李小兰, 等, 2016. 杜鹃兰原球茎增殖培养条件 [J]. 北方园艺, (19):124-128.]
- WANG YY, SU C, LI HY, et al., 2015. Study on rapid propagation technique of *Cymbidium* with verge line pattern leaves induced by irradiation [J]. *N Hortic*, 39(23):101-103. [王玉英, 苏畅, 李海燕, 等, 2015. 辐射诱变的线艺兰快繁技术体系研究 [J]. 北方园艺, 39(23):101-103.]
- XIE L, MA XJ, GUO HR, et al., 2014. Control of bud differentiation of protocorm-like bodies during proliferation and micropropagation of hybrid *Cymbidium* [J]. *Plant Physiol J*, 50(2):209-213. [谢利, 马晓娟, 郭和蓉, 等, 2014. 杂交兰类原球茎增殖中芽分化的控制和快速繁殖 [J]. 植物生理学报, 50(2):209-213.]
- XU SP, YUAN XY, WANG MF, et al., 2018. Micropropagation *in vitro* of *Cymbidium sinensis* [J]. *Chin J Trop Crop*, 39(5):926-930. [许申平, 袁秀云, 王默霏, 等, 2018. 墨兰(*Cymbidium sinense*)组培快繁技术体系研究 [J]. 热带作物学报, 39(5):926-930.]
- ZUO LJ, LI ZQ, ZHENG ZY, et al., 2015. Study of *Cymbidium* hybrid rhizome proliferation and differentiation [J]. *Jiangsu J Agric Sci*, 43(6):54-56. [左利娟, 李志强, 郑志勇, 等, 2015. 杂交兰根状茎的增殖与分化成苗技术 [J]. 江苏农业科学, 43(6):54-56.]
- ZHENG LM, 2010. Crossbreeding experiments between *Cymbidium goeringii* and *Cymbidium hybridum* [J]. *J Zhejiang Educ Inst*, (3):61-65. [郑立明, 2010. 春兰与大花蕙兰种间杂交育种的试验 [J]. 浙江教育学院学报, (3):61-65.]
- ZHU GF, WANG BQ, CHEN ML, et al., 2005. Study on hybridization among *Cymbidium* species and *Cymbidium hybrid* [J]. *Chin Bull Bot*, 22(4):445-448. [朱根发, 王碧青, 陈明莉, 等, 2005. 大花蕙兰与兰属植物种间杂交研究 [J]. 植物学通报, 22(4):445-448.]
- ZHU GF, CHEN ML, LUO ZW, et al., 2004. Induction and propagation of hybrid protocorm like-body of crosses between *Cymbidium sinense* and *Cymbidium hybridum* [J]. *Acta Hortic Sin*, 31(5):688-690. [朱根发, 陈明莉, 罗智伟, 等, 2004. 墨兰与大花蕙兰种间杂种原球茎的诱导及增殖研究 [J]. 园艺学报, 31(5):688-690.]