

蝴蝶兰快速繁殖研究进展

魏琪 李凤兰 胡国富 胡宝忠*

(东北农业大学生命科学学院, 黑龙江哈尔滨 150030)

摘要: 本文综述了我国有关蝴蝶兰组织培养及快繁技术的研究进展, 着重阐述了不同外植体、培养基等因素对类原球茎诱导、增殖和分化的影响; 扼要介绍了种子的无菌播种快繁; 并对我国未来蝴蝶兰的研究与开发进行了初步的探讨。

关键词: 蝴蝶兰; 组织培养; 快速繁殖; 类原球茎; 综述

中图分类号: S 682.31 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2006) 04-0915-06

Review of Research on the Plant Tissue Culture of *Phalaenopsis hybrid*

Wei Qi, Li Fenglan, Hu Guofu, and Hu Baozhong*

(College of Life Science, Northeast Agricultural University, Harbin, Heilongjiang 150030, China)

Abstract: The tissue culture of *Phalaenopsis hybrid* in China is reviewed in this text. The text expatiated primarily that effects on the inducement, multiplication and differentiation of protocorm-like body (PLB) with different explants and culture mediums. The paper introduced the asymbiotic germination of *Phalaenopsis hybrid* seed and discussed primarily the study and exploitation of *Phalaenopsis hybrid* in our country in the future.

Key words: *Phalaenopsis hybrid*; Tissue culture; Rapid propagation; Protocorm-like body (PLB); Review

蝴蝶兰 (*Phalaenopsis hybrid*) 属兰科 (Orchidaceae) 蝴蝶兰属 (*Phalaenopsis*) 植物。该属约有 40 余个原种, 分布于亚洲与大洋州热带和亚热带地区。我国云南南部、西藏南部、广东南部、海南及台湾为该属植物的最北分界线。其多生于阴湿多雾的热带森林中离地 3~5 m 的树干上, 也有长于溪涧旁的湿石上, 具有极高的观赏价值和经济价值。

蝴蝶兰为典型的单茎性热带附生兰, 植株很少发生侧枝, 分株繁殖系数极低; 其种子内不含胚乳, 自然条件下很难萌发, 发芽率极低, 故自身的营养繁殖和种子繁殖均难以满足大量繁殖的需要。种子无菌播种萌发产生实生苗变异性大, 不能良好的保持母本植株的品种特性, 也会出现品种退化的现象, 导致种苗质量差。应用植物组织培养技术进行蝴蝶兰快速繁殖可以缩短繁育周期, 获得大量成株, 并且可以保持优良性状, 维护种质资源, 从大量的繁殖后代中得到一定数量的突变体^[1], 随之对其特殊性状进行较为深入的分子水平上的研究, 获得更为有价值的成果。目前, 蝴蝶兰快繁途径主要有: 利用各种外植体诱导类原球茎, 进而诱导分生苗实现快繁^[2,3], 不经愈伤组织直接诱导丛生芽^[2,4], 近年来, 也出现通过诱导愈伤组织途径进行植株再生的研究^[5-9]以及花萼培养^[10]、试管分株^[11]等方法。

1 外植体的选择

自从 1949 年 Rotor 利用无菌培养技术成功地在试管中将蝴蝶兰花梗上的休眠芽培养出完整植株后, 国内外学者纷纷对蝴蝶兰的组织培养技术进行相应研究。Intuwong 等利用蝴蝶兰的茎尖进行研

收稿日期: 2005-09-14; 修回日期: 2006-02-27

基金项目: 东北农业大学自选项目

* 通讯作者 Author for correspondence

究,成功地得到完整植株^[12]。随着科学技术的进一步发展,国内外以蝴蝶兰茎尖为外植体的研究逐渐增多。尽管茎尖及其周围组织较为幼嫩,容易脱分化并再分化成完整植株,但蝴蝶兰为单茎性植物,摘取其茎尖就有可能损失母株,造成浪费。因此,在实际应用中,蝴蝶兰的茎尖培养可以用其它器官培养代替。

利用花梗及花梗芽作为外植体进行培养就是代替蝴蝶兰茎尖培养的一种研究方法^[13-16]。许多研究表明,在诱导花梗苗的过程中,蝴蝶兰不同发育阶段的花梗芽及侧芽均可以进行试管内的营养繁殖,但还是有少量的花梗芽仍保持休眠状态。同时,培养温度及植物生长调节剂浓度都是影响休眠芽萌发的关键因素,并且外植体褐化严重。因此,花梗芽的诱导受到一定的限制,而以花梗为外植体的研究中同样出现了极为严重的褐化现象,并且难以诱导形成类原球茎。然而,以花梗芽为外植体时,无论从不定芽分化繁殖还是诱导形成类原球茎繁殖,都具有繁殖周期短,不伤害母株并保持母体优良性状,形成的新植株健壮易于移栽等优点,因此,是较为理想的外植体。

在蝴蝶兰的快繁研究中,还有利用根尖、根段^[17]和叶片^[18,19]分别作为外植体进行培养的。以上3种器官为外植体,对母株基本上不会有太大的影响,而且可以保持母株的优良性状,同时也不会受取材时间的限制,可随时进行研究,是比较好的外植体。目前,已经建立起来的无性系繁殖体系,增殖系数还不是很理想,并且繁殖周期一般比较长。因此,仍然需要进一步的研究。

目前,利用胚培养(即无菌播种)^[20,21]对蝴蝶兰进行组织培养研究也比较普遍,并取得了一定的成果。但是,由于商业上所使用的观赏性蝴蝶兰多为杂交种,胚培养会产生性状分离,难以获得整齐均一的试管苗,有些后代甚至会失去观赏价值。因此,在繁殖优良品种时,应以根、花梗等器官作为外植体;而胚培养技术多应用于杂交育种中,来克服杂交的不亲和性,缩短育种时间。

2 类原球茎的诱导、增殖与分化

类原球茎(Protocorm-like body, PLB)是兰科植物组织培养中所产生的特有现象,也是兰花快繁技术中的一个重要形式^[22]。Ishii 等对蝴蝶兰组织培养中产生的类原球茎进行组织学研究时观察发现,该类原球茎的解剖结构与体细胞胚的结构相似,即类原球茎为体细胞胚^[6]。

2.1 类原球茎的诱导

在蝴蝶兰组织培养研究中,类原球茎的诱导是在基础培养基内添加一定种类及浓度的植物生长调节剂,由幼叶、根、茎尖等外植体脱分化而产生胚性愈伤组织,进而形成原球茎体。研究中常用的基础培养基有 MS、改良 VW、G₃、B₅、Knudson C 等,植物生长调节剂有 6-BA、NAA、KT、2, 4-D 等。同时,不同外植体部位对类原球茎的诱导也有一定的影响,见表 1。

表 1 不同外植体诱导类原球茎

Table 1 The inducement of PLB from different explants

外植体 Explants	培养基 Medium	6-BA, KT (mg · L ⁻¹)	NAA, IAA (mg · L ⁻¹)	添加物 Accretion	诱导率 Rate of inducement (%)	参考文献 References
茎尖 Stem tip	N ₆	KT 1.0	IAA 1.0	土豆或香蕉 Potato or banana	10%	23
茎段(去茎尖) Stem (without tip)	MS	6-BA 5.0	NAA 0.1	柠檬酸 Citric acid 30 mg · L ⁻¹ , 椰乳 Coconut juice 30%		24
茎尖(不定芽) Adventitious bud	MS	6-BA 3.0	0	椰乳 Coconut juice 10%, 马铃薯汁 Potato juice 5%	65	25
根尖 Root tip	MS	6-BA 0.5	0	-	75	3
叶片 Leaf	MS	6-BA 5.0	0	椰子汁 Coconut juice 15%	61	14
幼叶(未切割) Young leaf	MS	6-BA 3.0	0	-	90	26
花梗(无腋芽) Pedicel	改良 MS	6-BA 5.0	NAA 0.5	椰子汁 Coconut juice 15%	88.5	27
花梗(具腋芽) Pedicel axillary bud	MS	6-BA 3.0	NAA 0.1	-	80	28
幼嫩花梗 Young pedicel	MS	6-BA 1.0-2.0	0	-	77	29
胚 Embryo	G ₃	6-BA 0.2	NAA 0.5	椰子汁 Coconut juice 10%, 活性炭 Activated charcoal 0.2%	80	31

除上述几种影响因素外, 研究还发现培养基的 pH 值以及外植体的摆放也是蝴蝶兰类原球茎诱导的重要影响因素。在蝴蝶兰的组织培养中, 需根据不同的培养材料和培养基探索合适的 pH 值, 其范围一般在 5.1~5.4 之间。同时, 外植体在培养中出现了极性现象, 因此, 在接种时应注意摆放的方向以适应外植体自身的极性特点, 利于诱导产生类原球茎, 如正放在培养基内的叶片类原球茎的诱导明显高于反放和斜放在培养基上的叶片, 反放和斜放的叶片在培养中几乎不能诱导出类原球茎^[25,29]。

2.2 类原球茎的增殖与分化

在蝴蝶兰的快速繁殖研究中, 影响类原球茎增殖和分化的因素较为复杂, 导致其增殖系数一直未得到较大的提高。主要因素有增殖培养基的选择、类原球茎切割体积、培养的环境条件、外植体的选择以及试验中所使用的蝴蝶兰品种等^[31]。

研究结果表明, 类原球茎增殖的最适培养基会因蝴蝶兰品种的不同而异。对于蝴蝶兰类原球茎增殖培养基中植物生长调节剂的配比及添加量, 一些研究者认为, PLB 增殖需要低浓度的植物生长调节剂组合, 以免在长期培养时出现变异苗。还有研究者在进行 PLB 增殖培养时发现 PLB 可以在原诱导培养基上继续增殖, 但适当降低外源细胞分裂素的浓度会使 PLB 增殖效果更佳, 其增殖系数在 2 个月内能达到 4 倍以上, 并且当 PLB 增殖后转接在新鲜培养基上, 就会陆续发芽, 从而诱导出完整植株^[32,33]。在培养基内添加一定浓度的无机和有机物质, 如活性炭和椰子汁等, 会在一定程度上促进类原球茎的增殖与分化^[32]。这些物质可以有效防止组织褐化^[33~35], 从而促进类原球茎的增殖。在 PLB 增殖培养中, 还应该注意 PLB 切块的大小, 以及其表现出的一定的群体效应^[31]。

蝴蝶兰类原球茎的分化相对容易, 在诱导培养基或增殖培养基甚至是无植物生长调节剂的基础培养基上均可以分化, 将产生的芽转入生根壮苗培养基内, 即可形成完整的植株^[33]。生根壮苗培养基中使用效果较好的基础培养基是 Kyoto 和 G₃, 植物生长调节剂的配比是 6-BA 0.1 mg·L⁻¹ + NAA 0.5 mg·L⁻¹。在此条件下, Kyoto 培养基有利于生根, G₃ 有利于壮苗。在培养基内加入一定浓度的活性炭有助于根系的形成^[30]; 加入果蔬汁能明显的促进试管苗的生长和根系的形成^[30]。

3 丛生芽的诱导

不经过愈伤组织直接诱导丛生芽或通过诱导花梗芽使之产生丛生芽^[37]的方法是蝴蝶兰的又一种快速经济有效的快繁方法。丛生芽诱导是关键环节^[22], 花梗芽以及植物生长调节剂浓度都是影响丛生芽产生的主要因素。花梗芽离体培养时, 腋芽受到温度、节位和 6-BA 浓度的影响^[15]。在离体培养条件下, 低温有利于成花基因的启动, 易于获得花枝; 而保持 20~28℃ 的较高温度, 易于获得营养枝, 腋芽节位以下第 3、4 节相对容易诱导, 而向上越接近顶芽的腋芽诱导萌发越困难, 且容易褐化死亡。一定浓度的 6-BA 有助于打破腋芽的休眠, 随其浓度的升高, 丛生芽的增长率也随之上升, 但褐化率也显著增加, 因此, 筛选适宜的 6-BA 浓度对蝴蝶兰丛生芽的诱导有很大的影响。

诱导丛生芽进行蝴蝶兰的快速繁殖具有技术难度低、遗传稳定等优点。笔者通过一年半的比较发现, 以蝴蝶兰的叶片、根和花梗节间切片作为外植体快速繁殖蝴蝶兰, 诱导时间长, 外植体容易褐化死亡, 效果不好。而利用花梗芽诱导丛生芽快繁蝴蝶兰, 繁殖周期短, 效果最好, 但产生的丛生芽都是无根小苗, 需要进一步生根壮苗才能移栽^[38]。

4 蝴蝶兰种子的无菌播种

兰花种子萌发有共生萌发和非共生萌发(无菌播种)两种。共生萌发是把真菌和兰花种子共同接种在培养基上, 由真菌侵染种子, 种子在真菌作用下萌发成苗的方法, 该方法对于地生兰是非常有效的。无菌播种(即胚培养)是将兰花种子接种到适宜培养基上, 结合一定的培养条件诱导萌发的方法, 该方法适于大多数热带附生兰的种子萌发。蝴蝶兰具有种子小、数量多、容易获得等优点, 比较适合无菌播种, 可得到大量的实生苗, 但所获得的植株可能与母株基因型不同, 一般不宜进行再繁

殖^[21]。

蝴蝶兰进行种子无菌播种时,最重要的影响因素是培养基。种子的采摘在授粉后 110 d 到种子成熟期间,一般在授粉后 120 d 时较为适宜^[21,40]。这一时期,蝴蝶兰种子已经基本达到了生理上的成熟,且有外部果皮包被,因此可以直接进行果实消毒。蝴蝶兰种子在 MS、1/4MS、Vacin & Went 和 Knudson C 几种基础培养基中,均发芽良好。且在基础培养基中添加活性炭、香蕉泥和 Tryptone 有利于发育和生长。许多研究还发现,低氮浓度较有利于种子发芽和类原球茎发育^[38]。

5 存在问题和前景

蝴蝶兰组织培养是 20 世纪 60 年代末才发展起来的技术,在 40 多年的时间里得到了长足的发展,世界各国纷纷进行研究与生产,目前已经形成一定的规模,建立了较为完善的技术体系。同时,对于蝴蝶兰繁殖系数的提高也取得了很大的进步,但对于某些外植体的增殖系数仍然不是特别理想,需要进一步研究和完善。

众多研究结果表明,蝴蝶兰的组织培养中仍然存在一些问题,如蝴蝶兰类原球茎诱导培养中所加入的添加物及其浓度对类原球茎的影响,虽然蝴蝶兰的繁殖系数有很大的提高,但组织培养中类原球茎增殖的稳定性不强,试验结果重复性不十分理想等。因此,对蝴蝶兰快速繁殖技术中一些影响因素应该进行更加细致的研究,建立更加完善和科学的体系,用以更好地、快速地、大量地繁殖蝴蝶兰的稀有优良品种,进而保护和维持蝴蝶兰的原生种及丰富的品种资源。与此同时,在快速繁殖蝴蝶兰的过程中,还应注意蝴蝶兰母本植株的病毒鉴定,防止病毒通过分生苗的大量繁殖迅速传播扩散。

目前,蝴蝶兰的数量急剧上升,但规模化、系统化的生产技术还未完善,国内许多商家或企业盲目追求产量规模,但品质与进口的质量相差较大。而且,随着蝴蝶兰近年来生产量的逐年增大,已经不再是名贵品种,市场上的销量也趋于平缓,甚至可能具有下降的趋势。所以,国内蝴蝶兰快速繁殖的研究更应该加紧完善现有的技术体系,提高质量,开发稀有品种或精品,来获得市场的青睐。

在我国,蝴蝶兰的研究方向应以快繁为基础,拓宽对其的研究,如基因工程、抗性育种等,提高学术价值和经济价值。

参考文献:

- 1 Chen Y H, Tsai Y J, Huang J Z, Chen F C. Transcription analysis of pelonic mutants of *Phalaenopsis* orchids derived from tissue culture. *Cell Research*, 2005, 15 (8): 639 ~ 657
- 2 王怀宇. 蝴蝶兰快速繁殖研究. *园艺学报*, 1989, 16 (1): 73 ~ 77
Wang H Y. Rapid clonal propagation of *Phalaenopsis* by tissue culture. *Acta Horticulturae Sinica*, 1989, 16 (1): 73 ~ 77 (in Chinese)
- 3 张秀清, 王志武, 刘玉敬, 王春英. 蝴蝶兰实生苗不同器官的离体培养. *植物学通报*, 1996, 13 (1): 50 ~ 53
Zhang X Q, Wang Z W, Liu Y J, Wang C Y. A study on tissue culture of different organs of *Phalaenopsis* hybrids seeding. *Chinese Bulletin of Botany*, 1996, 13 (1): 50 ~ 53 (in Chinese)
- 4 刘荣维, 梅庆超, 崔元方. 丛生芽——蝴蝶兰无性快速繁殖的新途径. *热带作物学报*, 1993, 14 (12): 105 ~ 107
Liu R W, Mei Q C, Cui Y F. The cluster buds — the new approach to the agamic and rapid propagation of *Phalaenopsis*. *Journal of Tropic Crop*, 1993, 14 (12): 105 ~ 107 (in Chinese)
- 5 Tse A T, Smith R J, Hachett W P. Adventitious shoot formation on *Phalaenopsis* nodes. *Am. Orchid Soc. Bull.*, 1971, 40: 807 ~ 810
- 6 Ishii Y, Takamura T, Goi M, Tanaka M. Callus induction and somatic embryogenesis of *Phalaenopsis*. *Plant Cell Reports*, 1998, 17: 446 ~ 450
- 7 李向英, 尹同萍, 牛蕴华, 崔进国, 李新良. 蝴蝶兰的快速繁殖及栽培管理研究. *山东农业科学*, 2000, 4: 13 ~ 14
Li X Y, Yin T P, Niu Y H, Cui J G, Li X L. The rapid propagation and growth of *Phalaenopsis*. *Shandong Agricultural Sciences*, 2000, 4: 13 ~ 14 (in Chinese)
- 8 Tokuhara K, Mii M. Induction of embryogenic callus and cell suspension culture from shoot tips excised from flower stalk buds of *Phalaenopsis* (Orchidaceae). *In vitro Cellular & Development Biology-Plant*, 2001, 37 (4): 457 ~ 461
- 9 伍成厚, 叶秀萍, 梁承郅. 蝴蝶兰愈伤组织诱导研究. *亚热带植物科学*, 2004, 33 (4): 29 ~ 31

- Wu C H, Ye X L, Liang C Y. Callus Induction of *Phalaenopsis*. *Subtropical Plant Science*, 2004, 33 (4): 29 ~ 31 (in Chinese)
- 10 陈之林, 叶秀舜, 梁承邨. 蝴蝶兰花萼的离体培养. *园艺学报*, 2003, 30 (2): 242 ~ 244
Chen Z L, Ye X L, Liang C Y. In vitro culture of the inflorescence of *Phalaenopsis*. *Acta Horticulturae Sinica*, 2003, 30 (2): 242 ~ 244 (in Chinese)
- 11 代容春, 朱锦懋, 陈由强, 林荣华. 蝴蝶兰试管分株快速繁殖研究. *亚热带植物科学*, 2003, 32 (1): 23 ~ 25
Dai R C, Zhu J M, Chen Y Q, Lin R H. Rapid propagation in vitro by division of *Phalaenopsis*. *Subtropical Plant Science*, 2003, 32 (1): 23 ~ 25 (in Chinese)
- 12 Intuwong O, Sagacus Y. Clone propagation of *Phalaenopsis* by shoot-tip culture. *Amer. Orchid Soc. Bull.*, 1975, 93: 893 ~ 895
- 13 伍成厚, 卞阿娜, 梁承邨, 叶秀舜. 蝴蝶兰花梗培养的研究. *漳州师范学院学报 (自然科学版)*, 2004, 17 (3): 70 ~ 73
Wu C H, Bian A N, Liang C Y, Ye X L. In vitro culture of *Phalaenopsis* flower-stalks. *Journal of Zhangzhou Teachers College (Nat. Sci.)* 2004, 17 (3): 70 ~ 73 (in Chinese)
- 14 刘翠兰, 王小芳, 李双云, 王开芳, 杜华兵. 蝴蝶兰花梗芽的组织培养. *山东林业科技*, 2004, 4: 37
Liu C L, Wang X F, Li S Y, Wang K F, Du H B. Tissue culture of *Phalaenopsis* flower-stalk buds. *Shandong Forestry Science and Technology*, 2004, 4: 37 (in Chinese)
- 15 刘 林, 李淑兰. 温度、节位和 BA 对蝴蝶兰花茎腋芽生长的影响. *北方园艺*, 2003 (5): 50 ~ 51
Liu L, Li S L. The effects on the growth of *Phalaenopsis*' flower-stalk buds from temperature, node and BA. *The North Horticulture*, 2003 5: 50 ~ 51 (in Chinese)
- 16 李 军, 柴向华, 曾宝瑄, 张秀珊, 王细燕, 詹海洋, 朱饱卿. 蝴蝶兰组培工厂化生产技术. *园艺学报*, 2004, 31 (3): 413 ~ 414
Li J, Chai X H, Zeng B D, Zhang X S, Wang X Y, Zhan H Y, Zhu B Q. Mericlone production technical of *Phalaenopsis*. *Acta Horticulturae Sinica*, 2004, 31 (3): 413 ~ 414 (in Chinese)
- 17 李进进, 廖俊杰, 柯丽婉, 蔡佩玲. 蝴蝶兰根段的组织培养. *植物生理学通讯*, 2000, 36 (1): 37
Li J J, Liao J J, Ke L W, Cai P L. Tissue culture of *Phalaenopsis*' root segments. *Plant Physiology Communications*, 2000, 36 (1): 37 (in Chinese)
- 18 杨美纯, 周岐伟, 许鸿源, 卢美英. 外部因子对蝴蝶兰叶片原球茎体发生的影响. *广西植物*, 2000, 20 (1): 42 ~ 46
Yang M C, Zhou Q W, Xu H Y, Lu M Y. Effect of external factors on protocorm-like-body inducement in *Phalaenopsis* leaves. *Guihaia*, 2000, 20 (1): 42 ~ 46 (in Chinese)
- 19 李成慧, 蔡 斌, 单明明, 顾铭洪. 应用正交设计法探讨蝴蝶兰叶片类原球茎的诱导. *扬州大学学报 (农业与生命科学版)*, 2004, 25 (2): 76 ~ 78
Li C H, Cai B, Shan M M, Gu M H. Application of orthogonal design in protocorm induction from leaves of *Phalaenopsis*. *Journal of Yangzhou University (Agricultural and Life Science Edition)*, 2004, 25 (2): 76 ~ 78 (in Chinese)
- 20 王慧瑜, 张晓申, 杨录军, 李 平. 蝴蝶兰的胚培养技术及其快速繁殖研究. *北方园艺*, 2003 (5): 57
Wang H Y, Zhang X S, Yang L J, Li P. the culture technology of *Phalaenopsis*' embryo and its rapid propagation. *The North Horticulture*, 2003 (5): 57 (in Chinese)
- 21 李 晖. 蝴蝶兰——繁殖、生育特征、产期调节及产后品质. 台湾: 财团法人台湾区花卉发展协会出版, 2002.
Li N. *Phalaenopsis*—propagation, procreating character, blooming control and quality of flower wilting. Taiwan: Taiwan Floriculture Development Association, 2002. (in Chinese)
- 22 秦贺兰, 孙红梅. 蝴蝶兰研究进展. *河南职业技术师范学院学报*, 2002, 32 (2): 31 ~ 35
Qin H L, Sun H M. The research advance on *Phalaenopsis*. *Journal of Henan Vocation-Technical Technical College*, 2002, 32 (2): 31 ~ 35 (in Chinese)
- 23 张 伟, 曾伏虎, 张苏锋. 蝴蝶兰的组织培养与快速繁殖. *信阳师范学院学报 (自然科学版)*, 2004, 17 (3): 335 ~ 337
Zhang W, Zeng F H, Zhang S F. Tissue culture and rapid propagation of *Phalaenopsis aphrodite*. *Journal of Xinyang Normal University (Nature Science Edition)*, 2004, 17 (3): 335 ~ 337 (in Chinese)
- 24 张启香, 方炎明, 张晓平. 蝴蝶兰的组织培养和快速繁殖. *植物资源与环境学报*, 2004, 13 (3): 38 ~ 40
Zhang Q X, Fang Y M, Zhang X P. Tissue culture and rapid micropropagation of *Phalaenopsis amabilis*. *Journal of Plant Resources and Environment*, 2004, 13 (3): 38 ~ 40 (in Chinese)
- 25 胡海英, 王建宇. 蝴蝶兰的离体培养与快繁技术研究. *宁夏大学学报 (自然科学版)*, 2002, 23 (4): 367 ~ 369
Hu H Y, Wang J Y. Study on tissue culture and rapid propagation of *Phalaenopsis marmouset brother stripe*. *Journal of Ningxia University (Natural Science Edition)*, 2002, 23 (4): 367 ~ 369 (in Chinese)
- 26 张秀清, 王志武, 王春英, 刘玉敏. 蝴蝶兰实生苗原球茎诱导研究. *莱阳农学院学报*, 1995, 12 (1): 44 ~ 46
Zhang X Q, Wang Z W, Wang C Y, Liu Y J. The study on *Phalaenopsis* protocorm-like body (PLB) induction from seedlings. *Journal of*

- Laiyang Agricultural College, 1995, 12 (1): 44~46 (in Chinese)
- 27 鲁雪华, 郭文杰, 徐立晖, 林新华. 蝴蝶兰花梗节间段培养繁殖的初步研究. 园艺学报, 2002, 29 (5): 491~492
Lu X H, Guo W J, Xu L H, Lin X H. The preliminary research on the rapid propagation of *Phalaenopsis* by using the joint-points of flower-stems as explants. Acta Horticulturae Sinica, 2002, 29 (5): 491~492 (in Chinese)
- 28 Wang J W, Ming F, Ye M M, Dong Y G, Liang B, Chen C Y, Shen D L. A reliable protocol for plant regeneration from pedicel axillary bud of *Phalaenopsis* in vitro. Journal of Fudan University (Natural Science), 2004, 43 (2): 230~234
- 29 刘福林, 李淑萍. 蝴蝶兰花梗的组织培养和植株再生. 商丘师范学院学报, 2001, 17 (6): 98~99
Liu F L, Li S P. Tissue culture of '*Phalaenopsis*' flower-stalks and plant regeneration. Journal of Shangqiu Teachers College, 2001, 17 (6): 98~99 (in Chinese)
- 30 曾宋君, 彭晓明, 张京丽, 赵逢畔. 蝴蝶兰的组织培养及快速繁殖. 武汉植物学研究, 2000, 18 (4): 344~346
Zeng S J, Peng X M, Zhang J L, Zhao F P. A study on tissue culture and rapid propagation of *Phalaenopsis* hybrids. Journal of Wuhan Botanical Research, 2000, 18 (4): 344~346 (in Chinese)
- 31 姚丽娟, 徐晓薇, 林绍生, 游聚斌, 陈中林. 蝴蝶兰原球茎增殖分化影响因子探讨. 亚热带植物科学, 2004, 33 (3): 42~44
Yao L J, Xu X W, Lin S S, You J B, Chen Z L. Influential factors on multiplication and differentiation of *Phalaenopsis* protocorm-like body (PLB). Subtropical Plant Science, 2004, 33 (3): 42~44 (in Chinese)
- 32 秦 凡, 周吉源. 不同植物生长调节剂对蝴蝶兰快速繁殖的影响. 武汉植物学研究, 2003, 21 (5): 452~456
Qin F, Zhou J Y. Effect of different hormone on rapid propagation of *Phalaenopsis*. Journal of Wuhan Botanical Research, 2003, 21 (5): 452~456 (in Chinese)
- 33 秦 凡, 周吉源. 蝴蝶兰的组织培养研究. 生物学杂志, 2003, 20 (3): 19~21
Qin F, Zhou J Y. A study on tissue culture of *Phalaenopsis*. Journal of Biology, 2003, 20 (3): 19~21 (in Chinese)
- 34 何松林, 王 献, 鲁 琳, 刘保国, 任凝辉, 杨秋生. 培养基和添加物对蝴蝶兰原球茎分化幼苗的影响. 中南林学院学报, 2003, 23 (5): 11~13
He S L, Wang X, Lu L, Liu B G, Ren N H, Yang Q S. The effect of culture media and organic compounds on the differentiation of *Phalaenopsis* PLB. Journal of Central South Forestry University, 2003, 23 (5): 11~13 (in Chinese)
- 35 刘真华, 葛 红, 郭绍霞, 刘洪涛, 曹灿景, 周玉杰, 李秋香. 蝴蝶兰组织培养中的褐化控制研究. 园艺学报, 2005, 32 (4): 732~734
Liu Z H, Ge H, Guo S X, Liu H T, Cao C J, Zhou Y J, Li Q X. Studies of antibrowning in the tissue culture of *Phalaenopsis*. Acta Horticulturae Sinica, 2005, 32 (4): 732~734 (in Chinese)
- 36 马 杰, 何蔚荭, 崔 波. 蝴蝶兰原球茎状体的诱导及增殖. 河南科学, 2005, 23 (1): 51~53
Ma J, He W H, Cui B. Induction and propagation of protocorm of *Phalaenopsis*. Henan Science, 2005, 23 (1): 51~53 (in Chinese)
- 37 潘学峰, 王安石, 李海珠. 利用丛芽途径快速繁殖蝴蝶兰的研究. 海南大学学报 (自然科学版), 2005, 23 (1): 47~60
Pan X F, Wang A S, Li H Z. Study on in vitro rapid propagation through the clustered shoots of *Phalaenopsis amabilis* Bl. Natural Science Journal of Hainan University, 2005, 23 (1): 47~60 (in Chinese)
- 38 徐云和. 蝴蝶兰试管苗继代及生根培养的研究. 中国林副特产, 2004, 6: 16~18
Xu Y H. Study on subculture and taking root culture of *Phalaenopsis*. Forest By-Product and Speciality in China, 2004, 6: 16~18 (in Chinese)
- 39 廖福琴, 黄萍萍, 张永柏, 刘添锋. 蝴蝶兰无菌播种快繁技术. 闽西职业大学学报, 2004 (1): 89~90
Liao F Q, Huang P P, Zhang Y B, Liu T F. The technology of *Phalaenopsis*' asepsis sowing and rapid propagation. Journal of Minxi Vocational College, 2004 (1): 89~90 (in Chinese)
- 40 章玉平, 刘成运, 胡鸿钧, 李建强. 蝴蝶兰无菌萌发技术的研究. 武汉植物学研究, 2004, 22 (1): 82~86
Zhang Y P, Liu C Y, Hu H J, Li J Q. A Study on asymbiotic germination of *Phalaenopsis*. Journal of Wuhan Botanical Research, 2004, 22 (1): 82~86 (in Chinese)