

文章编号: 1674-7054(2010)02-0158-07

树兰未成熟种子离体快繁技术

潘学峰¹, 凌梅¹, 王安石²

(1. 海南大学农学院, 海口 570228; 2. 海南文昌动植物检疫隔离农场有限公司, 海南文昌 571300)

摘 要: 以树兰未成熟种子为外植体, 研究了原球茎的诱导、增殖、萌芽及生根培养等几个关键步骤的配方。结果表明: 树兰种子播种在 $MS + BA0.5 \text{ mg} \cdot L^{-1} + NAA0.25 \text{ mg} \cdot L^{-1} + \text{蔗糖 } 25 \text{ g} \cdot L^{-1}$ 培养基上, 7~10 d 后开始有绿点产生, 25 d 左右就可看见原球茎团; $1/2MS + 6-BA1.5 \text{ mg} \cdot L^{-1} + NAA0.25 \text{ mg} \cdot L^{-1} + \text{蔗糖 } 20 \text{ g} \cdot L^{-1} + CH_2O 2.0 \text{ g} \cdot L^{-1}$ 的培养基对原球茎增殖的效果最佳, 增殖倍数超过 9 倍; 将原球茎转入 $1/2MS + NAA0.1 \text{ mg} \cdot L^{-1} + 6-BA0.2 \text{ mg} \cdot L^{-1} + \text{蔗糖 } 25 \text{ g} \cdot L^{-1}$ 的培养基上, 原球茎的出芽率超过 90%; 将芽接种在 $1/2MS + NAA0.5 \text{ mg} \cdot L^{-1} + BA0.1 \text{ mg} \cdot L^{-1} + \text{香蕉泥 } 70 \text{ g} \cdot L^{-1} + \text{蔗糖 } 25 \text{ g} \cdot L^{-1}$ 的生根培养基中, 生根率达 94%; 以水苔作为移栽基质较理想, 移栽成活率可达 92.5%, 且植株生长健壮。

关键词: 树兰; 种子; 原球茎; 组织培养

中图分类号: S 682.31

文献标志码: A

树兰(*Epidendrum*) 为兰科树兰属, 原产美洲热带地区的厄瓜多尔, 是一种具有很高观赏价值的热带气生兰^[1-2]。早期因树兰花色较单调、花型偏小, 并未受到消费者的注意, 但近年来经由品种的改良, 树兰的株型花型已显著改善, 且花色鲜丽繁多, 优雅情趣, 充满青春活力, 深受兰花爱好者的青睐, 具有很高的观赏价值(见图版 1), 既可作鲜切花, 也可用作室内盆栽花卉。谷祝平等人对树兰的组织培养进行研究^[3-5], 但尚未应用于生产。由于本属是濒危兰花物种^[2], 数量稀少, 为了保护和开发树兰, 笔者以无菌种子为外植体, 成功诱导出原球茎和再生植株, 并移栽成活, 现报道如下。

1 材料与方法

1.1 接种材料 试验材料为果长 6~7 cm, 成熟度为 7~8 成, 未开裂的树兰(*Epidendrum schomburgkii*) 蒴果。

1.2 无菌外植体的构建 将树兰蒴果先用软刷蘸肥皂液轻轻刷洗, 除去果面的脏物质, 经流水冲洗干净, 用棉花球沾取 $\varphi = 75\%$ 的酒精擦拭, 随后用自来水冲洗, 除去残留的污水后将蒴果放在超净工作台上, 用 $\varphi = 70\%$ 的酒精浸泡消毒 30 s 后用 $1 \text{ g} \cdot L^{-1}$ 的升汞浸泡 10 min, 之后又用无菌水冲洗 4~5 次, 避免升汞残留在蒴果上, 最后将蒴果放置于无菌钢盘中, 用消毒过的刀片将蒴果剖开, 取出种子, 将种子放在无菌水中摇匀, 用无菌吸管将种子移入事先准备好的培养基上, 并让其均匀分布。

1.3 培养条件 培养室温度为 $(23 \pm 2)^\circ\text{C}$, 以日光灯为光源, 光照强度 1 500~2 000 lx, 光照时间 10~12 h $\cdot d^{-1}$ 。

1.4 培养基 按植物组织培养常规方法进行配制^[6], 所有的培养基均含有质量浓度 $0.7 \text{ g} \cdot L^{-1}$ 的卡拉胶, pH 值调至 5.8 ± 0.2 , 培养基装瓶后在 121°C 0.14 MPa 高温高压下灭菌 20 min, 冷却备用。

1.4.1 原球茎诱导培养基 以 $MS + BA0.5 \text{ mg} \cdot L^{-1} + NAA0.25 \text{ mg} \cdot L^{-1} + \text{蔗糖 } 25 \text{ g} \cdot L^{-1}$ 为培养基, 诱

收稿日期: 2010-03-26

基金项目: 国家科技基础条件平台建设子项目(2005DKA21006)

作者简介: 潘学峰(1963-) 男, 海南文昌人, 海南大学农学院高级实验师, 现在海南大学学报编辑部从事编辑工作。

导种子产生原球茎,待原球茎产生后,转接至增殖培养基进行增殖培养。

1.4.2 原球茎继代增殖培养基

1.4.2.1 不同无机盐浓度的 MS 培养基对原球茎的增殖的效果比较 比较了 5 种不同无机盐浓度的 MS 基本培养基(分别为 1/4MS、1/3MS、1/2MS、3/4MS、MS),分别附加 6-BA 2.0 mg·L⁻¹,NAA 0.25 mg·L⁻¹,25 g·L⁻¹的蔗糖,重复 3 次,每瓶接种 8~10 个原球茎,40 d 后观察原球茎的增殖情况。

1.4.2.2 不同 6-BA 质量浓度对原球茎的增殖诱导的影响 选最适的 MS 无机盐浓度的培养基+NAA 0.25 mg·L⁻¹+蔗糖 25 g·L⁻¹为基本培养基,分别添加 6-BA 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5、3.0、3.5 mg·L⁻¹等 8 个质量浓度进行比较试验,重复 3 次,每瓶接种 8~10 个原球茎,40 d 后观察原球茎的增殖情况。

1.4.2.3 不同蔗糖质量浓度对原球茎增殖的影响 以最适的 MS 无机盐浓度+NAA 0.25 mg·L⁻¹+最适的 BA 浓度为基本培养基,附加上不同的蔗糖质量浓度(0、10、20、30、40、50、60、70 g·L⁻¹),重复 3 次,每瓶接种 8~10 个原球茎,40 d 后观察原球茎的增殖情况。

1.4.2.4 不同 CH 质量浓度对原球茎的增殖影响 以最适的 MS 无机盐浓度+NAA 0.25 mg·L⁻¹+最适的 BA 浓度+最适的蔗糖浓度为基本培养基,加入不同浓度的 CH(水解酪蛋白)(0、1.0、2.0、3.0、4.0 g·L⁻¹),重复 3 次,每瓶接种 8~10 个原球茎,40 d 后观察原球茎的增殖情况,确定最适的 CH 浓度。

1.4.3 原球茎的萌发培养基 将生长正常的原球茎转到附加不同质量浓度 6-BA(0.2、0.4、0.6 mg·L⁻¹)的 1/2MS+NAA 0.1 mg·L⁻¹+蔗糖 25 g·L⁻¹培养基上,重复 3 次。培养 30 d 后统计原球茎发芽生长情况。

1.4.4 生根培养基 将 1.0 cm 高、具 2~3 片叶子的不定芽切成小插条,接种到 1/2MS+NAA 0.5 mg·L⁻¹+6-BA 0.1 mg·L⁻¹+香蕉泥 70 g·L⁻¹+蔗糖 25 g·L⁻¹培养基上,10 d 后开始观察其生根情况。

1.5 试管苗的移栽 试管苗经壮苗生根培养,当苗壮根粗时即可移栽。试管苗移栽时,先将培养瓶移出培养室,于散射光下放置 4 d 左右,再将瓶盖去掉,在室温(25~28℃)下继续炼苗 1~2 d,取出苗用流水洗净培养基,然后用 1 000 倍液的多菌灵浸泡 3~5 min,待自然晾干后再移栽于水苔基质中,用 800 倍多菌灵溶液浇透,注意保温、保湿、遮荫、通风,30 d 后调查成活率。

1.6 统计分析方法 对取得的试验数据采用 SAS 软件进行方差分析。

2 结果与分析

2.1 原球茎的诱导 淡褐色的粉状种子接种在 MS+BA 0.5 mg·L⁻¹+NAA 0.25 mg·L⁻¹+蔗糖 25 g·L⁻¹的培养基上,7~10 d 后开始有绿点产生,25 d 左右就看见原球茎团(图版 2)。

2.2 原球茎的继代增殖 原球茎是一种类胚组织^[6],兰花的原球茎生命力强,遗传性状稳定,对快繁及种质资源保存极为有利。原球茎增殖期是兰花大量增殖的有利阶段,是提高繁殖系数的核心^[4]。因此,在此阶段要及时切割转瓶,进行增殖(图版 3),否则,超过 70 d 后原球茎便开始发芽分化成幼苗,增殖能力将大大降低。

2.2.1 不同 MS 无机盐浓度对原球茎增殖的影响 将树兰的原球茎团拆分成单个原球茎,分别培养在不同无机盐浓度的 MS 培养基中,40 d 后原球茎的增殖情况见表 1。

表 1 不同 MS 无机盐浓度对原球茎增殖率的影响

培养基	重复			平均增殖倍数	原球茎的生长状况
	I	II	III		
1/4MS	2.6	2.9	3.1	2.87D	色淡、正常
1/3MS	3.8	4.2	3.8	3.93B	淡绿、正常
1/2MS	5.1	5.3	5.4	5.27A	浓绿、健壮
3/4MS	3.2	3.5	3.4	3.37C	浓绿、正常
MS	2.9	3.1	3.1	3.03CD	淡绿、正常

注: 差异显著性如表中字母所示,相同大写字母为差异不显著,不同大写字母为差异极显著,下同。

从表 1 可以看出,不同浓度无机盐的 MS 培养基对树兰原球茎的增殖影响不同。在 1/4MS ~ 1/2MS 的范围内,原球茎的增殖倍数与 MS 无机盐浓度成正比,当无机盐的浓度为 1/2MS 时,原球茎的平均增殖倍数最高,增殖倍数为 5.27,而且原球茎生长健壮,颜色浓绿。但是,在 1/2MS ~ 1MS 的范围内,原球茎的增殖倍数与 MS 无机盐浓度成反比,当无机盐浓度达到 3/4MS 时,平均增殖倍数为 3.37;1MS 时,增殖倍数为 3.03。

对所得的数据用 SAS 软件进行方差分析,结果表明:1/2MS 与其他培养基之间的差异达到显著水平。由此可见,1/2MS 较有利树兰原球茎的增殖。

2.2.2 不同 6-BA 质量浓度对原球茎增殖的影响 以 1/2MS 为基本培养基,NAA 的质量浓度为 0.25 mg · L⁻¹,与 8 种 6-BA 质量浓度(0,0.5,1.0,1.5,2.0,2.5,3.0,3.5 mg · L⁻¹)进行配比,每个处理重复 3 次,40 d 后原球茎的增殖情况见表 2 和图 1。

表 2 不同 6-BA 质量浓度对原球茎增殖率的影响

6-BA 质量浓度/ (mg · L ⁻¹)	重复			平均增殖倍数	原球茎的生长状况
	I	II	III		
0	1.1	1.3	1.4	1.27E	个体小色淡,有发黄
0.5	4.3	4.4	4.2	4.30BC	较小、色淡
1.0	4.5	5.2	5.2	4.97B	淡绿、个体正常
1.5	6.7	7.3	7.1	7.03A	浓绿、个体健壮
2.0	5.5	5.2	4.9	5.20B	浓绿、个体健壮
2.5	4.8	5.0	5.2	5.00B	浓绿、个体正常
3.0	4.2	4.2	4.0	4.13BC	淡绿、个体正常
3.5	3.1	2.8	3.0	2.97D	淡绿、个体较小

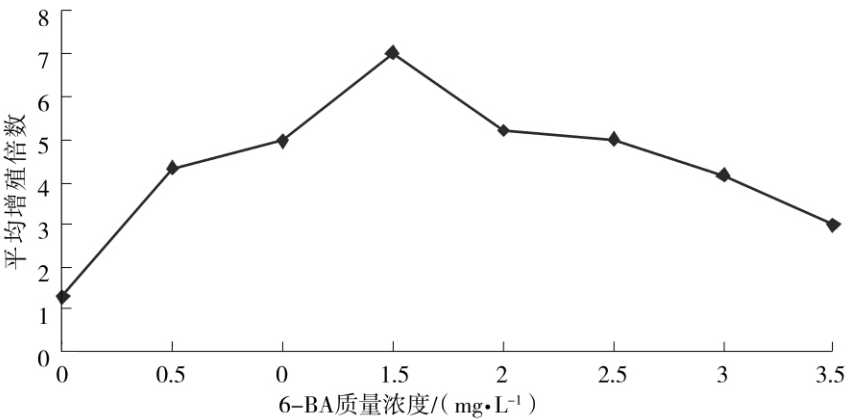


图 1 不同 6-BA 质量浓度对原球茎增殖率的影响

从图 1 可以看出,当培养基中不含 6-BA 时,原球茎的浓度增殖速度很慢,平均增殖倍数为 1.27。在 0.5 ~ 1.50 mg · L⁻¹ 范围内,随着浓度的增大,原球茎的增殖倍数不断地提高,当 6-BA 为 1.50 mg · L⁻¹ 时,增殖倍数为 7.03,平均增殖倍数最高,并且原球茎壮实,色浓。但是,当 6-BA 质量浓度超过 1.50 mg · L⁻¹ 时,浓度越大,新增的原球茎数反而减少,增殖倍数与 6-BA 质量浓度成反比。当 6-BA 为 2.0 mg · L⁻¹ 时,平均增殖倍数为 5.20;当 6-BA 为 2.5 mg · L⁻¹ 时,平均增殖倍数为 5.00;当 6-BA 为 3.0 mg · L⁻¹ 时,平均增殖倍数为 4.13;当 6-BA 为 3.5 mg · L⁻¹ 时,增殖倍数降为 2.97。

经过用 SAS 软件对表 2 的数据进行方差分析,结果表明:6-BA 1.50 mg · L⁻¹ 与其他浓度之间的差异显著,由此可见,6-BA 1.50 mg · L⁻¹ 的质量浓度较适宜树兰原球茎的增殖,原球茎的色泽浓绿、个体健壮。

2.2.3 不同蔗糖质量浓度对原球茎增殖的影响 以 1/2MS + 6-BA 1.50 mg · L⁻¹ + NAA0.25 mg · L⁻¹ 为基本培养基,附加不同的质量浓度的蔗糖(0,10,20,30,40,50,60,70 g · L⁻¹),重复 3 次,40 d 后观察

统计原球茎的增殖情况 结果见表 3 和图 2。

表 3 不同蔗糖质量浓度对原球茎增殖的影响

蔗糖质量浓度/ (g · L ⁻¹)	重复			平均增殖倍数	原球茎的生长状况
	I	II	III		
0	2.2	2.2	2.6	2.33E	淡绿、弱小
10	5.2	6.5	6.0	5.90B	嫩绿、健壮
20	6.6	8.2	7.1	7.30A	浓绿、健壮
30	5.1	5.4	5.1	5.20BC	浓绿、正常
40	5.6	4.8	5.0	5.13C	浓绿、正常
50	4.5	3.9	4.3	4.23D	淡绿、正常
60	4.0	4.1	3.5	3.87D	淡绿、弱小畸形
70	2.7	2.6	2.6	2.67E	淡绿、畸形、有点发红

从图 2 和表 3 可以看出 ,当 6 - BA 为 1. 50 mg · L⁻¹ 时 ,蔗糖质量浓度在 0 ~ 20 g · L⁻¹ 范围内 ,随着浓度的增大 ,原球茎增殖的倍数不断提高 ,当蔗糖质量浓度为 20 g · L⁻¹ 时 ,新增的原球茎个数最多 ,达到 7.30 倍; 蔗糖质量浓度在 20 ~ 70 g · L⁻¹ 范围内 ,原球茎的增殖倍数与浓度成反比 ,随着蔗糖质量浓度的增大 ,增殖的倍数则下降 ,当蔗糖质量浓度为 70 g · L⁻¹ 时 ,原球茎的平均增殖倍数仅为 2.67。可见培养基中不加蔗糖或过高的蔗糖浓度都会抑制树兰原球茎的增殖。最佳蔗糖质量浓度为 20 g · L⁻¹ ,其次是 10 g · L⁻¹ 和 30 g · L⁻¹ ,原球茎的平均增殖倍数分别达到 5.90 倍和 5.20 倍。

方差分析结果表明: 蔗糖质量浓度为 20 g · L⁻¹ 时与其他浓度之间的原球茎平均增殖倍数差异达极显著水平; 蔗糖质量浓度 10 g · L⁻¹ 与其他处理间的差异也极显著 ,30 g · L⁻¹ ,40 g · L⁻¹ 的处理间差异不显著 ,但他们与其他处理间的差异极显著。试验结果表明 ,较适宜树兰原球茎增殖的蔗糖质量浓度是 20 g · L⁻¹。

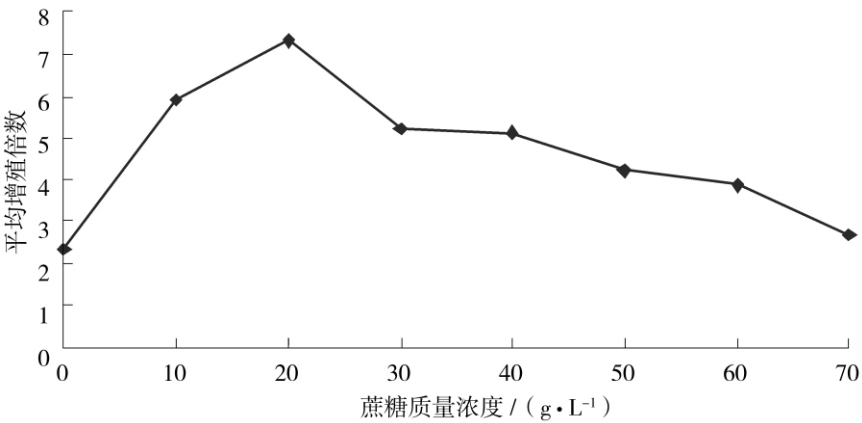


图 2 不同蔗糖质量浓度对原球茎增殖的影响

2.2.4 不同 CH 质量浓度对原球茎的增殖影响 以 1/2MS + 6 - BA 1.50 mg · L⁻¹ + NAA0.25 mg · L⁻¹ + 蔗糖20 g · L⁻¹ 为基本培养基 ,附加不同质量浓度的 CH (0 ,1.0 ,2.0 ,3.0 ,4.0 g · L⁻¹) ,定期观察原球茎的增殖情况 ,40 d 后统计 ,结果见表 4 。从表 4 可知 ,不同浓度的 CH 对树兰原球茎的增殖影响不同 ,CH 的质量浓度在 0.0 ~ 2.0 g · L⁻¹ 范围内 ,随着浓度的增大 ,增殖倍数有升高的趋势 ,当 CH 质量浓度为 2.0 g · L⁻¹ 时 ,原球茎增殖倍数达最大 ,为 9.17 倍; 但当超过 2.0 后 ,平均增殖倍数则随着 CH 浓度的升高而逐渐降低 ,当 CH 质量浓度为 4.0 g · L⁻¹ 时 ,增殖倍数只有 6.10 倍 ,可见 ,培养基中不是加越多的 CH 就越有利于原球茎的增殖。

对所得数据进行方差分析 ,结果表明: 除了对照与 1.0 g · L⁻¹ ,对照与 3.0 g · L⁻¹ 之间的差异不显著外 ,其他浓度之间存在极显著性差异。试验结果表明 ,较适宜树兰原球茎增殖的 CH 质量浓度是 2.0 g · L⁻¹ ,增殖倍数可达到 9.17 倍。

表 4 不同 CH 质量浓度对原球茎的增殖影响

CH 质量浓度/(g·L ⁻¹)	重复			平均增殖倍数	原球茎的生长状况
	I	II	III		
0	7.5	7.4	7.2	7.37BC	淡绿、正常
1.0	7.5	7.7	7.7	7.63B	淡绿、正常
2.0	9.2	9.4	8.9	9.17A	淡绿、壮实
3.0	7.1	7.0	7.3	7.13C	淡绿、较小
4.0	6.1	5.8	6.4	6.10D	淡绿较弱、有发黄

2.3 不同激素配比对原球茎萌发的影响 将大小一致的原球茎转接到萌芽培养基中,每瓶接 8~10 个,30 d 后统计萌发情况,结果见表 5。

表 5 不同激素配比对原球茎萌发的影响

激素配比/(mg·L ⁻¹)	重复			平均萌发率/%	原球茎芽的生长状况
	I	II	III		
0	49	48	50	61.25C	嫩绿、较小
NAA0.1	63	67	63	80.41B	淡绿、正常
NAA0.1+6-BA0.2	72	70	77	91.25A	浓绿、健壮
NAA0.1+6-BA0.4	50	53	56	66.25C	淡绿、正常
NAA0.1+6-BA0.6	41	37	45	51.25D	淡绿、较弱

注:以 1/2MS 为基本培养基

从表 5 可以看出,在不含有任何激素的 1/2MS 上,原球茎也能萌发,平均萌发率为 61.25%;在只有 NAA0.1 mg·L⁻¹的 1/2MS 上,原球茎也能萌发,平均萌发率为 80.41%;当 6-BA 与 NAA 配合使用时,可促进原球茎的萌发(图版 4),在所试的配比中以 NAA0.1 mg·L⁻¹+6-BA0.2 mg·L⁻¹的效果最好,原球茎的平均萌发率最高,达到 91.25%,且芽生长健壮。

方差分析结果表明:NAA0.1 mg·L⁻¹+6-BA0.2 mg·L⁻¹与其他的配比激素有极显著性差异,能较好地促进原球茎的萌发,效果最佳;NAA0.1 mg·L⁻¹+6-BA0.6 mg·L⁻¹与其他的配比激素也存在极显著性的差异,原球茎的平均萌芽率最低,效果最差。

2.4 生根培养 当原球茎萌发的芽长至约 1.0 cm 高,具 2~3 片叶子时,就将其切下转接到 1/2MS+NAA0.5 mg·L⁻¹+BA0.1 mg·L⁻¹+香蕉泥 70 g·L⁻¹的生根培养基中。植株接入生根培养基 16~20 d 后开始长出白色根尖,25 d 左右就能形成完整植株(图版 5),35 d 后逐渐生长成 2~4 条 1~2 cm 长的根,并带有许多白色根毛,生根率达 94%(调查 150 株,其中 141 株生根)。树兰生根虽然容易,但植株生长较缓慢,35 d 苗高为 2 cm 左右。

2.5 试管苗出瓶移栽 组培苗移栽后成活因素除了必要的环境条件外,还要求有适宜的移栽基质,兰花试管苗自养能力差,移栽养护难度大,在培养壮苗的基础上应注意温、光、营养、介质等因素与兰花生物学特性相协调,使移栽兰花逐渐由异养向自养过渡。因此,试管苗经生根培养 60~70 d,当苗高 2~4 cm,具 2~4 条根时,方可移栽。出瓶前应先将试管苗放在有 4 h·d⁻¹左右自然光照射的地方炼苗 4~5 d,并在移栽前一天打开瓶盖。移栽时,将生根试管苗取出,用清水洗去培养基,再用多菌灵 1 000 倍液浸苗 10 min,然后移入水苔基质中,浇透水。移栽后幼苗应放在通风良好的地方,避免强光,适时淋水和定期喷洒杀菌剂,15 d 左右叶片变绿增厚,25 d 左右即可成活,成活率达 92.5%,且植株生长健壮(图版 6)。

3 结 论

树兰的种子小,每一蒴果具有大量种子,故用种子进行无菌播种,可达到快速繁殖的目的,且不伤害植株。本试验结果表明:1) 树兰的种子播种在 MS+BA0.5 mg·L⁻¹+NAA0.25 mg·L⁻¹+蔗糖 25 g·

L^{-1} 的培养基上 7 ~ 10 d 后开始有绿点产生 25 d 左右就看见原球茎团。

2) 在原球茎增殖阶段, $1/2MS$ 的培养基较理想; $6 - BA 1.50\text{ mg} \cdot L^{-1} + NAA 0.25\text{ mg} \cdot L^{-1}$ 的激素配比对原球茎的增殖效果最好; 树兰的原球茎在 $0 \sim 70\text{ g} \cdot L^{-1}$ 的蔗糖质量浓度范围内都能增殖, 但最适宜的蔗糖质量浓度是 $20\text{ g} \cdot L^{-1}$; $2.0\text{ g} \cdot L^{-1}$ 的 CH 对原球茎的增殖有促进作用。 $1/2MS + 6 - BA 1.5\text{ mg} \cdot L^{-1} + NAA 0.25\text{ mg} \cdot L^{-1} + \text{蔗糖 } 20\text{ g} \cdot L^{-1} + CH 2.0\text{ g} \cdot L^{-1}$ 的培养基, 是原球茎增殖效果最佳的培养基, 平均增殖倍数超过 9 倍。

3) $1/2MS + NAA 0.1\text{ mg} \cdot L^{-1} + 6 - BA 0.2\text{ mg} \cdot L^{-1} + \text{蔗糖 } 25\text{ g} \cdot L^{-1}$ 的培养基, 诱导原球茎萌发的效果较佳, 萌发率超过 90%, 且芽生长健壮。

4) 萌发的原球茎接种在 $1/2MS + NAA 0.5\text{ mg} \cdot L^{-1} + BA 0.1\text{ mg} \cdot L^{-1} + \text{香蕉泥 } 70\text{ g} \cdot L^{-1} + \text{蔗糖 } 25\text{ g} \cdot L^{-1}$ 的生根培养基上, 生根率可达到 94%。 在生根阶段, 树兰植株生长较缓慢, 60 ~ 70 d 方能移栽出瓶。

5) 水苔(*Sphagnum*) 为苔藓植物^[7], 生长在海拔较高的山区热带、亚热带的潮湿处或沼泽地, 长度一般在 8 ~ 30 cm, 水苔透气吸水为纯天然产品, 材料干净, 无病菌, 能减少病虫害的发生, 是较理想的兰花移栽基质^[7-8]。 树兰试管苗移栽在水苔上成活率可达 92.5%, 且植株生长健壮。



图版 树兰未成熟种子离体快繁植株

1. 树兰的开花植株;
2. 原球茎团;
3. 原球茎的增殖;
4. 萌发的原球茎;
5. 完整植株;
6. 移栽成活的植株

参考文献:

[1] 曾宋军. 树兰的繁殖栽培 [J]. 园林, 2001(3) : 28 - 29.
[2] 魏翠华. 树兰的离体培养和植株再生 [J]. 亚热带植物通讯, 2006(2) : 35 - 36.
[3] 谷祝平, 徐涛. 树兰原球茎增殖中体细胞胚发生的研究 [J]. 兰州大学学报: 自然科学版, 1990(1) : 76 - 79.
[4] 张建霞, 李洪林, 付志惠, 等. 胶水树兰的组织培养 [J]. 植物生理学通讯, 2006, 42(5) : 913.

- [5] 黄家平 戴思兰. 兰花组织培养研究综述[J]. 广东园林, 1997(2): 29–31.
- [6] 曹孜义 刘国民. 实用植物组织培养技术教程[M]. 兰州: 甘肃科学技术出版社, 1996: 34–37, 350–363.
- [7] 黄少锋 洪生标. 水苔在兰花生产中的应用及合理开发[J]. 中国花卉盆景, 2005(8): 21.
- [8] 饶华芳. 水苔——花卉植料的理想选择[J]. 中国花卉盆景, 1998(12): 26–27.

Rapid Propagation of Immature Seeds of Tree Orchid (*Epidendrum schbombergkii*) *in vitro*

PAN Xue-feng¹, LING Mei¹, WANG An-shi²

(1. Agricultural College, Hainan University, Haikou 570228, China;

2. Wenchang Animal and Plant Quarantine Isolation Farm Co., Ltd., Wenchang 571300, China)

Abstract: The immature seeds of tree orchid (*Epidendrum schbombergkii*) were used as materials, and the media formulas which were suitable for the induction, proliferation, germination of the protocorm and root growth were screened. The results revealed that after the seeds of tree orchid was sown on the media MS + BA0.5 mg · L⁻¹ + NAA0.25 mg · L⁻¹ + sugar 25 g · L⁻¹, after 7—10 days, there are some green spots, after 25 days, the protocorm could be seen growing on it; the media 1/2MS + 6-BA1.5 mg · L⁻¹ + NAA0.25 mg · L⁻¹ + sugar 20 g · L⁻¹ + CH2.0 g · L⁻¹ is most suitable for the proliferation of protocorm, with the best effectiveness and the proliferating coefficient over 9 times; that the germination rate attain over 90% by implanting the protocorm in the media 1/2MS + NAA0.1 mg · L⁻¹ + 6-BA0.2 mg · L⁻¹ + sugar 25 g · L⁻¹; the rooting percentage of 94% could also be obtained by implanting the germinated buds in the media 1/2MS + NAA 0.5 mg · L⁻¹ + BA 0.1 mg · L⁻¹ + banana 70 g · L⁻¹ + sugar 25 g · L⁻¹ for rooting; during the period of transplantation, the moss is a satisfied medium for transplanting by which the survival rate can reach as high as 92.5%, and the plantlets vigorously grow.

Key words: tree orchid (*Epidendrum schbombergkii*); seed; protocorm; tissue culture