

杂交兰‘韩国桃花’ \times 蕙兰种间杂交种子无菌萌发特征研究

陈瑶瑶, 张 燕, 张 琛, 王广东*

(南京农业大学园艺学院, 南京 210095)

摘 要: 以大花蕙兰和墨兰杂交育成的品种‘韩国桃花’为母本, 再与蕙兰进行种间远缘杂交, 取其不同成熟度的种子进行无菌播种, 研究了杂交种子萌发、原球茎和根状茎的增殖与分化特征。结果表明: 授粉后 240 d 的种胚具有较好的萌发能力, 在所试的 4 种培养基中, 以 1/2MS 添加 6-BA $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 NAA $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的处理萌发效果较好; 萌发的种子可以通过原球茎和根状茎两条途径增殖; 1/2MS 培养基添加 6-BA $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 NAA $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 适于原球茎增殖, 培养 30 d 后增殖系数可达 4.25; 而 NAA $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 适宜原球茎的发育和植株再生; 根状茎的增殖以 NAA 6-BA 为 2:1 较适宜, 培养 40 d 后增殖系数可达 6.0 以上; 当 NAA 浓度为 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 根状茎发育及植株再生效果佳, 培养 70 d 后超过 80% 的根状茎茎端分化成苗。杂交后代通过原球茎和根状茎均可获得再生植株, 且形态无明显差别。

关键词: 兰; 蕙兰; 种间杂交; 原球茎; 根状茎; 植株再生

中图分类号: S 682.31 文献标识码: A 文章编号: 0513-353X (2009) 03-0441-06

A Study on Aseptic Seed Germination of Interspecific Hybrid Between *Cymbidium hybrida* \times *C. sinense* and *C. faberi*

CHEN Yao-yao, ZHANG Yan, ZHANG Chen, and WANG Guang-dong*

(College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: An aseptic seed germination protocol for interspecific hybrid between *Cymbidium hybrida* \times *C. sinense* and *C. faberi* was established. The results showed that seed germination rate related to its 'mature degree' and seed harvested 240 days after pollination germinated well. The suitable medium for hybrid seed germination was half strength MS basal medium supplemented with $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA and $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA. Germinated seeds can be multiplied *in vitro* via 2 pathways: PLBs and rhizomes. The optimal medium for proliferation of PLBs was half strength MS medium (solid/liquid) supplemented with $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA and $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA, and proliferation coefficient could reach to 4.25 after 30 days culture. The development and plantlet regeneration of PLBs can be highly enhanced on medium containing $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA and $0.5, 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA. On the other hand, when rhizomes developed from PLBs were cultured on the medium containing $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA and $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA for 40 days, the highest proliferation coefficient reached to 6.67, and subsequently more than 80% of the apex of rhizomes developed into shoots within 70 days culture on the medium containing $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA and $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA.

Key words: *Cymbidium*; *Cymbidium faberi*; interspecific hybridization; protocorm-like bodies; rhizome; plant regeneration

兰科花卉中兰属 (*Cymbidium*) 的种间远缘杂交常存在亲和障碍, 且种间杂种胚通常发育较差,

收稿日期: 2008-08-18; 修回日期: 2009-01-21

* 通讯作者 Author for correspondence (E-mail: gdwang@njau.edu.cn)

致谢: 感谢广东省农业科学院花卉研究所朱根发研究员对本研究提供的帮助。

杂交种子萌发困难,成苗率低。此外杂种胚的萌发差异较大,直接影响了兰属种间远缘的杂交育种。深入探讨不同类型兰属植物种间杂交种子的萌发与后代生长特性,将为进一步开展兰属新品种培育提供基础。近年来,国内已经有部分兰属种间杂交研究的报道(张志胜等,2001;朱根发等,2004,2005),但对于兰属多亲本杂交及其杂种胚培养技术尚无深入的研究。

作者以大花蕙兰(*Cymbidium hybrida*)与墨兰(*C. sinense*)杂交选育成的杂交兰品种‘韩国桃花’(*C. hybrida* × *C. sinense*)为母本,以蕙兰(*C. fabdieri*)为父本进行杂交,并对不同发育阶段的杂种胚进行离体培养,探讨远缘杂种胚萌发及杂交后代增殖和植株再生特征,并获得杂交后代群体,为筛选具有多亲本特征的优良株系提供基础,也为合理利用兰属种质资源,培育更多优良新品种提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料及其无菌播种

以引进杂交兰品种‘韩国桃花’(大花蕙兰 × 墨兰)为母本,蕙兰为父本,于2006年3月在南京农业大学园艺学院兰花种质资源圃中进行杂交授粉。授粉后90、120和240 d取蒴果,表面灭菌,在无菌状态下剖开,将种子分成4份,均匀散播于4种培养基(表1)上,比较不同培养基条件下不同胚龄杂交种子萌发的差异。

1.2 原球茎增殖及再生

将培养150 d形成的原球茎接种到 $1/2MS + 6BA\ 0.5\ mg \cdot L^{-1} + NAA\ (0.5、1.0、1.5、2.0、2.5)\ mg \cdot L^{-1}$ 的培养基上,固、液体培养基交替周期为15 d,每个培养皿接种原球茎0.5 g左右,Parafilm封口,3次重复。原球茎植株再生试验以 $1/2MS$ 为基本培养基,分别附加 $6BA\ 1.0\ mg \cdot L^{-1} + NAA\ (0.1、0.5、1.0、2.0、3.0\ mg \cdot L^{-1})$,3次重复(蔗糖3%,无活性炭)。

1.3 根状茎增殖及分化

在原球茎伸长形成的根状茎中选择生长状态相近的,在无菌条件下分割成长约5.0 mm的切段,接种到 $1/2MS$ 添加 $NAA\ (0、0.5\ mg \cdot L^{-1})$ 、 $6BA\ 0.5\ mg \cdot L^{-1} + NAA\ (0、0.5、1.0、1.5\ mg \cdot L^{-1})$ 和 $6BA\ 1.0\ mg \cdot L^{-1} + NAA\ (0.5、1.0、1.5、2.0\ mg \cdot L^{-1})$ 共10个处理的培养基上,进行根状茎增殖试验,每个处理重复3次。根状茎再生试验切取根状茎顶端1.0 cm,接种于 $1/2MS + 6BA\ 1.0\ mg \cdot L^{-1} + NAA\ (0.1、0.5、1.0、2.0\ mg \cdot L^{-1})$ 及无植物生长调节剂的 $1/2MS$ 培养基上共5个处理,每个处理重复3次(蔗糖3%,活性炭0.05%, $GA_3\ 0.01\ mg \cdot L^{-1}$),进行分化培养。

以上试验所用培养基除注明外均添加蔗糖2%、椰子汁 $100\ mL \cdot L^{-1}$,活性炭0.1%和琼脂粉0.6%,pH 5.4,光照1000 lx,光周期16 h,25℃。

1.4 结果统计与数据分析

无菌播种以每个处理萌发获得的原球茎数表示萌发效率;原球茎增殖和植株再生情况分别以接种后30和40 d统计的增殖系数和再生率表示[增殖系数=增殖后鲜样质量/接种时鲜样质量;再生率(%)=成苗数/接种原球茎数 × 100];根状茎增殖和植株再生情况分别以根状茎接种后40、70 d的增殖系数和根状茎萌发率表示[增殖系数=增殖后根状茎数/接种根状茎数;再生率(%)=成苗数/接种根状茎段数 × 100]。试验结果均采用SPSS软件进行计算,以邓肯氏新复极差法测验差异显著性。

2 结果与分析

2.1 不同胚龄种子萌发差异及不同培养基对杂交种子萌发的影响

不同胚龄的韩国桃花 × 蕙兰杂交种子在4种萌发培养基上的萌发情况如表1所示,胚龄90和120

d时均无萌发能力，而胚龄达到 240 d的种子在 4种培养基上培养 120 d后均萌发，以 $1/2\text{MS} + 6\text{-BA}$ $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{NAA}$ $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 较为适宜。

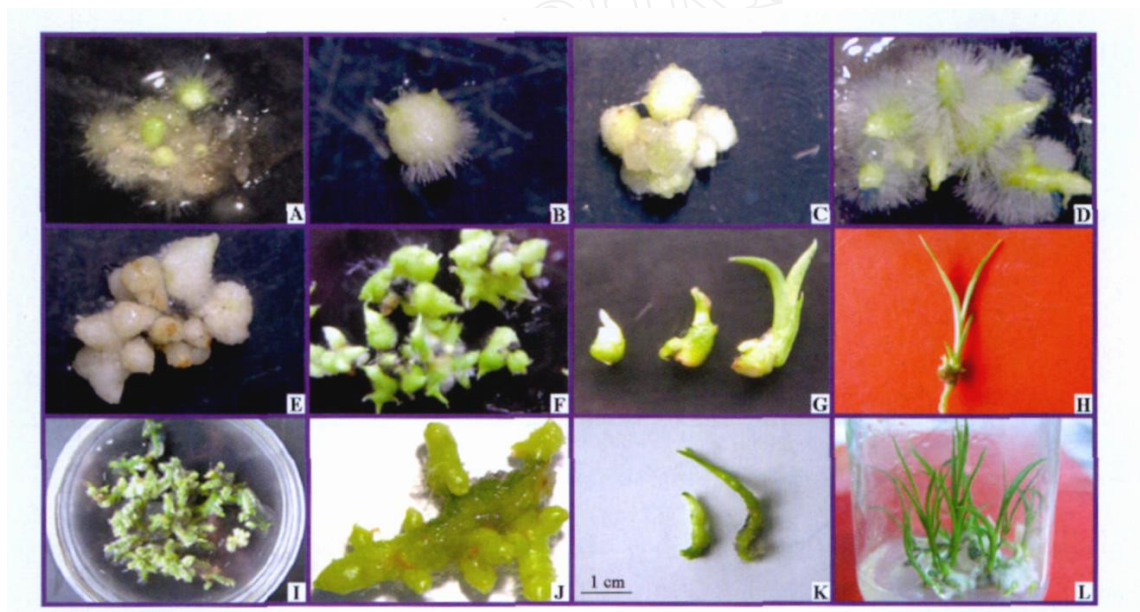
种子接种 20 d后开始膨胀，约 60 d膨大形成白色球形胚（图版，A），继续培养形成白色原球茎（图版，B、C），光下可转成绿色原球茎。接种 120 d后，其余各组均有萌发，种子萌发的时间前后可相差约半年。萌发的原球茎其顶端分生组织不断分裂、伸长形成根状茎，此时还可以观察到根状茎的表面布满根毛状物（图版，D）。

另外， $1/2\text{MS}$ 培养基优于 Hyponex 1（花宝 1号）培养基（表 1），这可能是由于 MS 培养基含有全部植物生长必需的矿质元素，而 Hyponex 1只含有 N、P、K元素。无论是在 Hyponex 1还是 $1/2\text{MS}$ 培养基，添加植物生长调节剂均优于不添加的。

表 1 不同培养基对杂交后代种子萌发形成原球茎数量的影响

Table 1 Effects of different sowing period and medium on the hybrid seed germination

培养基 Medium	6-BA / ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	NAA / ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	种子成熟度 /d Days after pollination		
			90	120	240
Hyponex 1	0	0	0	0	24
Hyponex 1	0.5	2.0	0	0	59
$1/2\text{MS}$	0	0	0	0	101
$1/2\text{MS}$	0.5	2.0	0	0	203



图版说明：杂交兰与蕙兰种间杂交种子的无菌萌发与植株再生

A. 种子萌发初期形成的原球胚；B. 单个原球茎；C. 原球茎团；D. 原球茎发育成根状茎；E. 液体培养条件下原球茎增殖；F. 固体条件下原球茎增殖；G. 原球茎分化成苗；H. 由原球茎萌发的单个植株；I. 根状茎的增殖；J. 根状茎增殖中二级分支的形成；K. 根状茎基端的萌发；L. 根状茎再生植株。

Explanation of plates: Aseptic seed germination and plantlet regeneration of interspecific hybrid between *Cymbidium hybrida* × *C. sinense* and *C. faberi*

A. Protocorm-like bodies (PLBs) formation from the hybrid seed; B. Single PLB; C. Clump of PLBs; D. Rhizomes developed from PLBs; E. Proliferation of PLBs in liquid culture condition; F. Proliferation of PLBs in solid culture condition; G. Shoots differentiation from PLBs; H. Single plantlet from PLB; I. Rhizome proliferation on Petri dish; J. Secondary branches formation of rhizome; K. Shoots developed from rhizome; L. Plantlets regeneration from rhizomes

2.2 植物生长调节剂对原球茎增殖与植株再生的影响

如表 2 所示, 当 6-BA 浓度为 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 随着 NAA 浓度的提高, 原球茎的增殖系数也显著提高, 并以 $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 最佳, 培养 30 d 达到 4.25。原球茎在液体培养基培养 2 周后, 其周围出现新的突起 (图版, E), 而后转至固体培养基上, 突起进一步增大、转绿并发育形成新的原球茎 (图版, F)。各处理差异显著性分析表明, 1/2MS 培养基中添加 6-BA $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 NAA $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 较适宜原球茎的增殖。

表 2 6-BA 和 NAA 对杂交后代原球茎增殖的影响

Table 2 Effects of 6-BA and NAA combination on the PLBs proliferation after 30 days culture

6-BA / ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	NAA / ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	接种鲜样质量 /g Fresh weight of PLBs	30 d 后鲜样质量 /g Fresh weight of PLBs after 30 d culture	增殖系数 Proliferation coefficient	生长状况 Growth status
0.5	0.5	0.497	1.753	2.53cd	差 Worse
0.5	1.0	0.513	1.977	2.85bcd	一般 Ordinary
0.5	1.5	0.503	2.127	3.23bc	一般 Ordinary
0.5	2.0	0.510	2.680	4.25a	好 Good
0.5	2.5	0.513	2.220	3.33b	一般 Ordinary

注: 不同字母代表在 0.05 水平差异显著。下同。

Note: Different letters within columns indicate significant difference by Duncan's multiple range test at 5% level. The same below.

将原球茎转至不同分化培养基上, 经过 40 d 培养, 陆续分化出根和芽, 形成完整植株, 当 6-BA 浓度为 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, NAA 浓度以 0.5 和 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 原球茎成苗率最高, 可达到 90% 以上 (表 3), 且再生植株生长健壮 (图版, G、H)。

表 3 6-BA 和 NAA 对杂交后代原球茎分化的影响

Table 3 Effects of 6-BA and NAA combination on the PLBs differentiation after 40 days culture

6-BA / ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	NAA / ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	平均原球茎数 Average number of PLBs	平均再生苗数 Average number of plantlet regenerated from PLBs	再生率 / % Percentage of regenerated plants
1.0	0.1	10.3	7.0	67.6b
1.0	0.5	10.0	9.0	90.0a
1.0	1.0	10.7	9.7	90.6a
1.0	2.0	9.7	6.0	61.9b
1.0	3.0	11.0	5.0	44.9c

2.3 植物生长调节剂对杂交兰根状茎增殖和植株再生的影响

根状茎经过 40 d 的培养后, 在无植物生长调节剂或者仅添加 6-BA 或 NAA 的培养基上培养虽然能增殖但是生长速度较慢。同时加入 6-BA 和 NAA 可以促进根状茎的增殖 (图版, I)。6-BA $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 以及 6-BA $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 即 6-BA : NAA 为 1 : 2 时, 根状茎的增殖系数显著高于其它组合, 分别达到 6.67 和 6.40 (表 4), 但后者根状茎增殖呈不正常的簇生型。在 6-BA 为 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, NAA $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 条件下, 新生根状茎呈白色芽点状, 随着培养时间延长, 芽点伸长、变粗, 向外延伸为一级根状茎, 在一级根状茎的节处形成新的二级根状茎 (图版, J)。

将根状茎茎端转入 5 种 1/2MS 培养基上进行植株再生培养, 70 d 后观察发现, 培养基中, 6-BA $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的组合根状茎茎端成苗率最高 (82.8%), 长势最好, 植株芽生长速度一致, 芽体饱满、粗壮、生长速度快 (表 5; 图版, K、L)。

表 4 6-BA 和 NAA 组合对杂交后代根状茎增殖的影响

Table 4 Effects of 6-BA and NAA combination on the rhizome proliferation after 40 days culture

6-BA / (mg · L ⁻¹)	NAA / (mg · L ⁻¹)	根状茎段数 Number of rhizomes	70 d后根状茎数 Number of rhizomes after 70 d culture	增殖系数 Proliferation coefficient
0	0	10	13.0	0.30ef
0	0.5	10	18.6	0.87e
0.5	0.5	10	44.0	3.40c
0.5	1.0	10	76.7	6.67a
0.5	1.5	10	58.0	4.80b
0.5	0	10	35.7	2.57d
1.0	0	10	11.3	0.13f
1.0	1.0	10	34.0	2.40d
1.0	1.5	10	47.7	3.77c
1.0	2.0	10	74.0	6.40a

表 5 6-BA 和 NAA 组合对根状茎茎端发育和植株再生的影响

Table 5 Effects of 6-BA and NAA combination on plantlet regeneration from the rhizomes after 70 days culture

6-BA / (mg · L ⁻¹)	NAA / (mg · L ⁻¹)	接种根状茎数 Average number of rhizomes with apex	平均成苗数 Average number of plantlet developed from rhizomes	再生率 / % Percentage of regenerated plants	单株平均根数 Average number of roots per plantlet
0	0	10.0	1.7	16.7c	0.8
1.0	0.1	10.7	6.7	62.7b	1.2
1.0	0.5	9.7	7.0	72.6ab	1.6
1.0	1.0	11.7	9.7	82.8a	1.8
1.0	2.0	10.7	4.3	41.1b	2.4

3 讨论

兰属花卉杂交后代种子的萌发和生长特征常因杂交组合不同而异 (张志胜等, 2001)。通常热带附生兰杂交种子易于萌发, 萌发后形成原球茎, 成苗快 (Chang et al, 2005), 温带地生兰杂交种子萌发困难, 萌发后一般形成根状茎, 成苗难 (Shimasaki & Uemoto, 1990), 二者杂交后代萌发及生长特征因亲本及组合不同而异 (Oguratsujita & Okubo, 2006)。在本试验中, 以大花蕙兰与墨兰的杂交品种 ‘韩国桃花’ (*C. hybrida* × *C. sinense*) 为母本, 再与蕙兰 (*C. faberi*) 杂交获得杂交种子, 在离体条件下, 其形态发生经历了原球茎到根状茎的完整过程。杂种胚遗传了两种类型兰花萌发的特点, 即先形成原球茎, 再形成根状茎, 这与曾宋君等 (1998) 在墨兰与象牙白、西藏虎头兰杂交所得的胚萌发过程以及朱根发等 (2004, 2005) 报道的建兰与纹瓣兰种间杂种胚萌发过程部分相似, 因此对其后代的增殖可在原球茎和根状茎两个阶段进行。对于兰属杂交后代的增殖与分化, 植物生长调节剂具有重要作用, 关于兰科植物原球茎的增殖和分化条件, 在多种兰科花卉上已有报道 (朱根发等, 2004; da Silva et al, 2006)。本试验研究表明, NAA 有利于原球茎增殖, 6-BA 能促进原球茎的发生与分化, 这与朱根发等 (2004) 关于墨兰与大花蕙兰种间杂种原球茎增殖研究结果不同, 而与 Oguratsujita 和 Okubo (2006) 关于附生兰 (*C. Sleeping Beauty*) × 墨兰的原球茎分化结果相同。原球茎的增殖与分化在细胞分裂素和生长素的浓度配比与地生兰根状茎相似, 由此表明以 ‘韩国桃花’ 为母本, 蕙兰为父本的种间远缘杂交, 获得的原球茎对外源植物生长调节剂的吸收水平同亲本中的地生兰更为相近。

对根状茎增殖和发育条件的研究表明, 6-BA 与 NAA 影响着根状茎增殖及绿芽分化, 生长素/细胞分裂素的比值高, 促进根状茎的增殖, 比值低促进根状茎的分化, 这与前人研究报道结果

(Shimasaki & Uemoto, 1990; Paek Yeung, 1991; Chang & Chang, 2000a, 2000b; 石乐娟等, 2006)一致。但不同兰属花卉所要求的适宜生长调节剂配比不同, Chen等(2005)研究发现 NAA $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 能有效促进蕙兰根状茎增殖, 6-BA $2.0 \sim 5.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 附加 NAA 0.5 或 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的组合对根状茎芽分化有利。本试验中发现, 6-BA和 NAA的不同比例对于根状茎的形态和增殖速度具有明显的影响。NAA刺激根状茎的分支和生长, BA则抑制根状茎生长和分支数目。这与对春兰、建兰等的研究报道(Paek & Yeung, 1991; 石乐娟等, 2006)相似。此外, 植株再生的结果表明原球茎和根状茎转接到适当的分化培养基中均可成苗, 而且再生形成的小植株在形态上无明显差别。

兰属多亲本种间杂交在兰花新品种培育中具有广阔的应用前景。本研究建立了杂交兰‘韩国桃花’与蕙兰杂交种子的无菌播种、原球茎和根状茎增殖及植株再生体系, 并获得了一定数量的杂交后代群体, 为进一步筛选株型适中且抗逆性强的新种质提供了基础。同时初步明确了来源于附生兰与地生兰杂交种子的萌发和增殖特征, 为今后开展兰属多亲本杂交育种以及优良株系的快速繁殖提供了参考。

References

- Chang C, Chang W C. 2000a. Effect of thidiazuron on bud development of *Cymbidium sinense* Wild in vitro. *Plant Growth Regul*, 30: 171 - 175.
- Chang C, Chang W C. 2000b. Micropropagation of *Cymbidium ensifolium* var. *maisei* through callus-derived rhizomes. *In Vitro Cell Dev Biol Plant*, 36: 517 - 520.
- Chang C, Chen Y, Yen H. 2005. Protocorm or rhizome? The morphology of seed germination in *Cymbidium dayanum* Reichb. *Bot Bull Acad Sin*, 46: 71 - 74.
- Chen Yong-qin, Liu Xiao, Liu You-qi. 2005. In vitro plant regeneration from the immature seeds of *Cymbidium faberi*. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 81: 247 - 251.
- da Silva J A T, Chan M T, Sanjaya, Chai M L, Tanaka M. 2006. Priming abiotic factors for optimal hybrid *Cymbidium* (Orchidaceae) PLB and callus induction, plantlet formation, and their subsequent cytogenetic stability analysis. *Scientia Horticulturae*, 109 (4): 368 - 378.
- Ogura-sujita Y, Okubo H. 2006. Promotion of in vitro shoot formation from protocorm-like bodies of a hybrid between tropical and temperate *Cymbidium* species. *J Japan Soc Hort Sci*, 75: 334 - 336.
- Paek K Y, Yeung E C. 1991. The effects of 1-naphthaleneacetic acid and N_6 -benzyladenine on the growth of *Cymbidium forrestii* rhizomes in vitro. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 24: 65 - 71.
- Shi Le-juan, Zhang Fang, Zhang Shi-liang, Bu Yan-feng, Ye Xiao-wei. 2006. Effects of plant growth regulators on the rhizome's multiplication and differentiation in *Cymbidium goeringii* with verge line pattern leaves. *Acta Horticulturae Sinica*, 33 (4): 887 - 890. (in Chinese)
- 石乐娟, 张放, 张士良, 卜岩枫, 叶晓伟. 2006. 植物生长调节剂对线艺春兰根状茎的增殖与分化的影响. *园艺学报*, 33 (4): 887 - 890.
- Shimasaki K, Uemoto S. 1990. Micropropagation of a terrestrial *Cymbidium* species using rhizomes developed from seeds and pseudobulbs. *Plant Cell Tiss Org Cult*, 22: 237 - 244.
- Zeng Song-jun, Cheng Shi-jun, Zhang Jing-li, Zhao Feng-pan, Huang Xiang-li. 1998. A study on tissue culture and rapid propagation of *Cymbidium sinense* and its hybrids in vitro. *Guihaia*, 18 (2): 153 - 156. (in Chinese)
- 曾宋君, 程式君, 张京丽, 赵逢畔, 黄向力. 1998. 墨兰及其杂种的组织培养与快速繁殖. *广西植物*, 18 (2): 153 - 156.
- Zhang Zhi-sheng, He Qiong-ying, Fu Xue-lin, Ou Xiu-juan, Lin Wei-qiang, Jing Jun-yue. 2001. Studies on the wide cross of Chinese orchids and the germination of their hybrid seeds. *Journal of South China Agricultural University*, 22 (2): 62 - 65. (in Chinese)
- 张志胜, 何琼英, 傅雪琳, 欧秀娟, 林伟强, 蒋俊岳. 2001. 中国兰花远缘杂交及杂交种子萌发的研究. *华南农业大学学报*, 22 (2): 62 - 65.
- Zhu Gen-fa, Chen Ming-li, Luo Zhi-wei, Luo Si-qiong, L ūFu-bing, Wang Bi-qing. 2004. Induction and propagation of hybrid protocorm like-body of crosses between *Cymbidium sinense* and *Cymbidium hybridum*. *Acta Horticulturae Sinica*, 31 (5): 688 - 690. (in Chinese)
- 朱根发, 陈明莉, 罗智伟, 罗思琼, 吕复兵, 王碧青. 2004. 墨兰与大花蕙兰种间杂种原球茎的诱导及增殖研究. *园艺学报*, 31 (5): 688 - 690.
- Zhu Gen-fa, Wang Bi-qing, Chen Ming-li, Jiang Ming-dian, L ūFu-bing. 2005. Study on hybridization among *Cymbidium* species and hybrid *Cymbidium*. *Chinese Bulletin of Botany*, 22 (4): 445 - 448. (in Chinese)
- 朱根发, 王碧青, 陈明莉, 蒋明殿, 吕复兵. 2005. 大花蕙兰与兰属植物种间杂交研究. *植物学通报*, 22 (4): 445 - 448.