

土田七的组织培养与快速繁殖

黄赛, 符瑞侃, 杨珺, 戚华沙, 吕德任, 潘梅*

海南省农业科学院热带园艺研究所, 海口571100

摘要: 通过比较不同的外植体、基础培养基、植物生长调节剂种类和浓度配比、蔗糖浓度以及生根苗的移栽基质, 建立土田七组织培养快速繁殖体系。结果表明, 以茎尖为外植体诱导效果最好; 培养基MS+6-BA 3.0 mg·L⁻¹+NAA 0.2 mg·L⁻¹+蔗糖40 g·L⁻¹利于形成丛生芽, 30 d的增殖系数为4.16; MS+NAA 0.6~0.8 mg·L⁻¹适宜诱导生根获得再生植株, 生根率100%; 生根苗移栽于椰糠中成活率达100%。

关键词: 土田七; 外植体; 组织培养; 快速繁殖

土田七(*Stahlianthus involucratus*)是姜科土田七属多年生直立草本植物, 分布于我国海南、广东、广西和福建, 生于海拔800~900 m的林下、荒坡荫湿处(高江云等2006)。植株高20~30 cm, 叶片披针形, 叶面深绿色; 花序从根茎抽出, 10~15朵花聚生于钟状的总苞内, 花白色, 唇瓣中央具杏黄色斑, 花期5~7月, 是极好的地被和盆栽花卉资源。土田七还具有药用价值, 其根茎有散瘀消肿, 活血止血, 行气止痛的功效, 可治跌打瘀痛, 风湿骨痛, 吐血, 蛇虫咬伤等, 因此有较广阔的应用前景。土田七可用根茎繁殖, 但繁殖速度慢, 难以满足应用的需要。采用组织培养技术是大量快速繁殖土田七种苗行之有效的方法。目前尚未见有土田七组织培养与快速繁殖的研究报道, 土田七属中其他植物的组培快繁也未见有报道。本研究通过比较外植体类型、丛生芽的增殖及生根培养等关键步骤的配方, 以期建立土田七的快速繁殖技术, 为土田七种苗的快速繁殖与应用提供技术参考。

材料与方法

1 材料及外植体消毒

采自野外引种于海南省农业科学院热带园艺研究所苗圃的土田七[*Stahlianthus involucratus* (King ex Baker.) Craib ex Loesener]植株, 选择晴朗天气, 取出植株在流水下冲洗干净后, 切取茎尖、幼叶和根茎备用。以上3种外植体先用75%酒精分别处理30、10、30 s, 再用0.1% HgCl₂浸泡15、6、30 min, 最后用无菌水冲洗5次。茎尖切成长度为1.5 cm的小段, 叶片切成1 cm见方的小块, 根茎切成长约1.0 cm的小块, 接种于诱导培养基MS+6-BA 2.0 mg·L⁻¹+NAA 0.5 mg·L⁻¹。30 d后统计污染率、存活率、芽诱导率和芽高。

2 培养基

以MS作为基础培养基, 附加30 g·L⁻¹食用蔗糖和8 g·L⁻¹卡拉胶, 增殖试验增加B₅和Ls培养基, 蔗糖增加20和40 g·L⁻¹ 2个浓度水平, 根据实验目的添加不同种类和浓度的6-BA、IBA、NAA和IAA, pH 6.0, 配制分装后, 于温度121℃、压力1.1 kg·cm⁻²条件下灭菌20 min。

3 培养条件

材料接种后, 在光照强度40 μmol·m⁻²·s⁻¹、光照时间9 h·d⁻¹、温度(26±2)℃条件下培养。

4 培养方法

将经表面消毒的外植体接入诱导培养基上, 茎尖和根茎分别在15 d和16 d后开始形成新芽, 30 d可获得1~3个小芽; 叶片外植体培养40 d后, 开始出现愈伤组织, 以后陆续有小芽长出。将新芽接种到相同的培养基中, 经30 d的培养, 可获得大量的芽苗。选取生长状况基本一致的小芽, 除去顶端切成长1 cm的单芽, 接种到诱导丛生芽培养基中, 用正交设计表L₉(3⁴)考察基础培养基、6-BA、NAA和蔗糖4个因子3个浓度水平。当单个丛生芽长到3 cm高、具2~4片小叶时, 将其从基部分开接入各种生根培养基上。每种处理接种10袋, 每袋接种3个材料, 重复3次, 定期观察记录, 30 d后统计结果。

5 生根苗的炼苗与移栽

将培养30 d根系发达的土田七组培苗移入荫棚, 炼苗5 d后, 取出小苗洗净根部附着的培养基, 移栽到5种基质配方[椰糠、椰糠:河沙(1:1)、椰糠:

收稿 2016-07-27 修定 2016-08-15

资助 海南省科研院所技术开发研究专项(KYYS-2015-14)。

* 通讯作者(E-mail: panmei200@sina.com)。

河沙:表土(1:1:1)、河沙:表土(1:1)和营养土]中。其中营养土由盛泰园艺科技有限公司配制,内含泥炭土、蛭石、谷壳粉和珍珠岩成分。每种处理栽种50株,浇水淋透,适当遮荫保湿,30 d后统计植株的成活率以及生长状况。

6 数据统计与分析

采用Microsoft Excel整理数据,SPSS 19.0软件进行方差分析和多重比较。污染率=污染的外植体数/接种的外植体数×100%;存活率=存活外植体数/接种的外植体数×100%;芽诱导率=诱导出芽数/存活外植体数×100%。

实验结果

1 外植体的选择与无菌苗的获得

叶片外植体表面光滑较容易消毒,灭菌时间短,但对消毒剂反应敏感,叶片较易出现褐化死亡,存活率为76%,存活外植体培养40 d后才开始出现愈伤组织。以茎尖和根茎为外植体,都能诱导出新芽,但根茎外植体表面灭菌较为困难,消毒时间长且容易污染,污染率达到34%,高出茎尖外植体26%,存活率则较茎尖外植体低24% (表1),培养16 d开始长出新芽,芽诱导率偏低,30 d时为167%,芽生长缓慢,芽体短(图1-A)。以茎尖为外植体,污染

表1 土田七不同外植体培养效果的比较
Table 1 Comparison of culture of different explants of *S. involucratus*

外植体类型	处理方法		污染率/%	存活率/%	芽诱导率/%	芽高/cm
	75%酒精/s	0.1% HgCl ₂ /min				
茎尖	30	15	8	86	191	1.6
叶片	10	6	14	76	0	0
根茎	30	30	34	62	167	0.9

三种外植体均接种于MS+6-BA 2.0 mg·L⁻¹+NAA 0.5 mg·L⁻¹培养基上。

率低,存活率高达86%,出芽时间早,培养15 d基部开始诱导出新芽,30 d时芽诱导率可达191%,新芽较壮(图1-B),生长速度也较快,在继代培养过程中,长势优于根茎。因此,以茎尖为外植体较为理想。

2 丛生芽的继代增殖

L₉(3⁴)正交试验的9种培养基均可诱导出土田七的丛生芽。接种芽3 d开始抽长,7 d后开始分化出小芽,30 d大多数可诱导出2~4个丛生芽,数目最多可达8个,芽基部均有根系长出。从增殖系数的角度看(表2),土田七丛生芽诱导的培养基以3号为最佳组合,即MS+6-BA 3.0 mg·L⁻¹+NAA 0.2 mg·L⁻¹+蔗糖40 g·L⁻¹组合,诱导出的丛生芽长而粗壮,生长速度较快,增殖系数达到4.16 (图1-C)。由极差分析可知,基础培养基的极差最大,为1.38,是影响土田七不定芽诱导的关键性因子,其对丛生芽的诱导影响作用最大,3种基础培养基中,以MS的诱导效果最好,最差的是Ls培养基,约有1/3芽未分化出新芽,芽的增殖率也较低,诱导芽数最多只有3个,且芽苗较弱,少数叶片在叶梢至1/3的叶片有黄化现象。6-BA的极差为0.65,在同一基础培养基中,

随着6-BA浓度的提高,丛生芽的增殖系数多表现为上升趋势,即6-BA为3.0 mg·L⁻¹时出芽率较高;NAA的极差为0.47,对丛生芽影响较小;影响作用最小的是糖,极差为0.31。方差分析结果也表明,3号组合诱导的丛生芽增殖系数显著优与其他组合,因此,根据增殖系数、极差及方差分析可知,最优的水平组合为: MS+6-BA 3.0 mg·L⁻¹+ NAA 0.2 mg·L⁻¹+蔗糖40 g·L⁻¹,在基础培养基、6-BA、NAA和蔗糖的试验浓度范围内,此组合最有利于土田七丛生芽的诱导生长。

3 不同种类生长素对再生芽生根的影响

在MS培养基中分别添加生长素IAA、NAA和IBA各0.4 mg·L⁻¹,共3种处理,结果见表3。土田七小苗较易生根,培养7 d后,NAA和IBA处理均有根系长出,IAA处理在第9天开始长根、30 d后各处理生根率都达到100%。IAA培养基中的植株生长速度较慢,植株偏矮,平均株高6.95 cm,叶片绿色,茎较细,根数少,平均每株生根6.38条,根相对较短。IBA处理的植株粗壮,平均株高7.26 cm,叶绿色,但少数叶片的叶梢有黄褐点,平均根数6.90条,形成

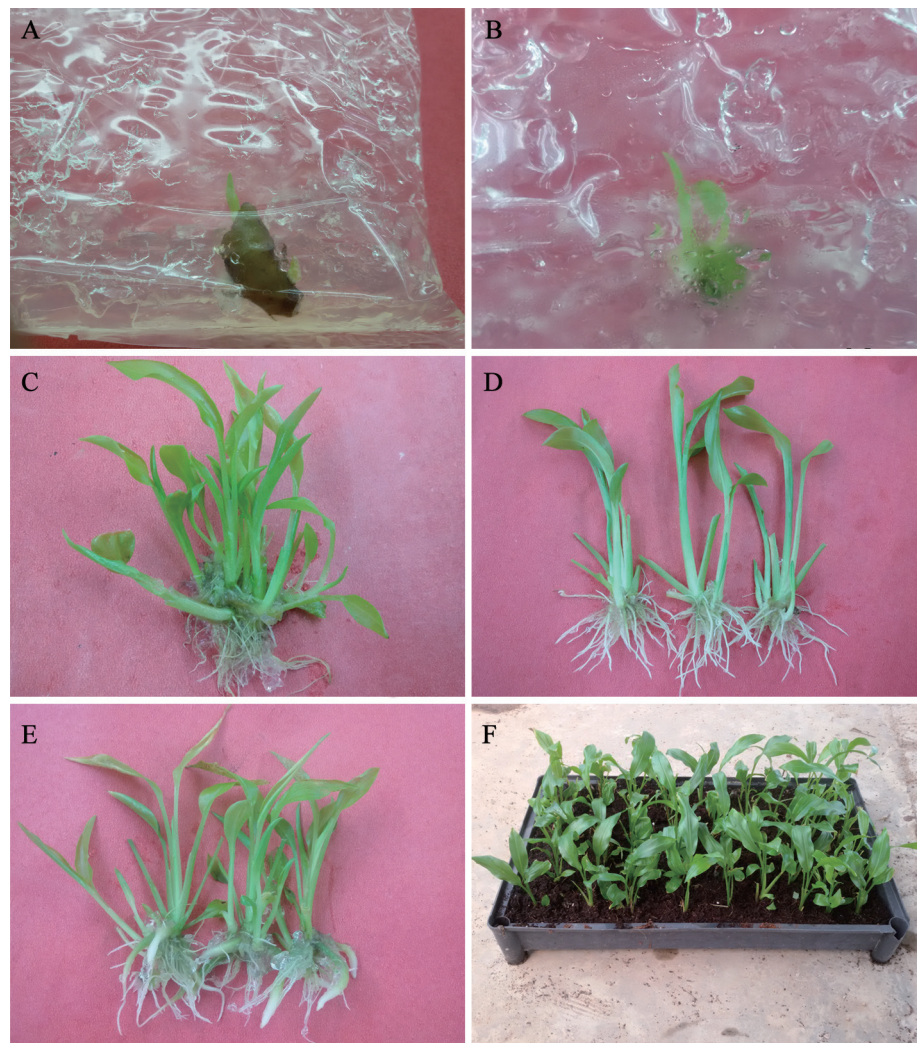


图1 土田七的组织培养与快速繁殖

Fig.1 Tissue culture and rapid propagation of *S. involucratus*

A: 根茎外植体30 d后的生长情况; B: 茎尖外植体30 d后的生长情况; C: 增殖培养30 d后的生长情况; D: 生根培养30 d后的正常根; E: 生根培养30 d后的膨大根; F: 移栽30 d后的组培苗。

的根细长, 最长根3.78 cm。与IAA和IBA相比, NAA更有利于土田七小苗的生长, 植株生长快, 平均株高7.99 cm, 最高株达到9.30 cm, 整齐度较好, 茎粗壮, 叶绿色, 诱导的根数多, 平均每株生根达到9.32条, 根粗而长。方差分析结果表明, NAA处理的株高和平均根数与IAA和IBA间的差异达到显著性水平, 最长根与IBA的差异不显著而与IAA间的差异达到显著性水平。因此, 土田七的生根培养的生长素以NAA为最佳, 植株健壮, 根系质量好。

4 NAA浓度对再生芽生根的影响

单芽接种到添加不同浓度NAA的MS生根培养基中, 7 d后大多数无根小苗的基部长出白色根,

30 d诱导的生根率达到100% (表4), 植株高可达4~10.2 cm。在不含NAA的培养基上, 植株矮小, 最小株高只有4 cm, 诱发的根数最少, 平均每株生根5.31条, 而且根短。0.2 mg·L⁻¹ NAA诱导的生根数偏少, 形成的根系细长。NAA在浓度0.4~0.8 mg·L⁻¹时, 诱导的根数较相近, 介于9.32~9.80条之间, 根长且粗壮, 植株生长势好, 茎干粗壮(图1-D)。NAA 1.0和1.5 mg·L⁻¹的浓度下, 植株生长良好, 诱发的根数最多, 分别为10.66条和11.32条, 其中NAA 1.5 mg·L⁻¹处理的根相对较短, 2个处理均有膨大根出现(图1-E), 说明NAA的浓度偏高。方差分析表明, 不含NAA的对照处理在株高和生根

表2 不同培养基组成对土田七丛生芽增殖的影响

Table 2 Effects of different composition of medium on fasciculate buds propagation of *S. involucratus*

试验序号	因子种类				增殖系数
	基础培养基	6-BA/mg·L ⁻¹	NAA/mg·L ⁻¹	蔗糖/g·L ⁻¹	
1	MS	1.0	0.05	20	2.79 ^{cd}
2	MS	2.0	0.10	30	3.22 ^b
3	MS	3.0	0.20	40	4.16 ^a
4	B ₅	1.0	0.10	40	2.60 ^d
5	B ₅	2.0	0.20	20	2.89 ^c
6	B ₅	3.0	0.05	30	2.73 ^{cd}
7	Ls	1.0	0.20	30	1.82 ^f
8	Ls	2.0	0.05	40	1.94 ^f
9	Ls	3.0	0.10	20	2.27 ^e
X ₁	3.39	2.40	2.49	2.65	
X ₂	2.74	2.68	2.70	2.59	
X ₃	2.01	3.05	2.96	2.90	
R	1.38	0.65	0.47	0.31	

同列数字旁不同小写字母表示在0.05水平有显著差异, 下表同。

表3 不同种类生长素对土田七根系分化的影响

Table 3 Effects of different kinds of auxin on differentiation of rooting of *S. involucratus*

生长素	株高/cm	根数/条	最长根/cm	生根率/%
IAA	6.95 ^b	6.38 ^b	3.00 ^b	100 ^a
IBA	7.26 ^b	6.90 ^b	3.78 ^a	100 ^a
NAA	7.99 ^a	9.32 ^a	3.65 ^a	100 ^a

表4 不同NAA浓度对土田七根系分化的的影响

Table 4 Effects of different NAA concentrations on differentiation of rooting of *S. involucratus*

NAA/mg·L ⁻¹	株高/cm	根数/条	生根率/%	根生长状况
0	6.61 ^b	5.31 ^d	100 ^a	根少, 短
0.2	7.78 ^a	8.65 ^c	100 ^a	根较多, 长, 较细
0.4	7.99 ^a	9.32 ^{bc}	100 ^a	根多, 长, 粗
0.6	8.27 ^a	9.67 ^b	100 ^a	根多, 长, 粗
0.8	8.29 ^a	9.80 ^b	100 ^a	根多, 长, 粗
1.0	8.32 ^a	10.66 ^a	100 ^a	根多, 有膨大根
1.5	8.08 ^a	11.32 ^a	100 ^a	根多, 短, 有膨大根

数上与含NAA各处理间存在显著性差异; 而含NAA的各处理, 其株高的差异不显著; 在生根数量上, 0.2 mg·L⁻¹与0.4 mg·L⁻¹之间, 0.4 mg·L⁻¹、0.6 mg·L⁻¹、0.8 mg·L⁻¹之间, 1.0 mg·L⁻¹与1.5 mg·L⁻¹处理间的差异均不显著, 综合考虑株高、生根数以及根系质量, 宜选择MS+NAA 0.6~0.8 mg·L⁻¹作为土田七的生根培养基。

5 移栽基质的选择

从表5看出, 土田七组培苗移栽成活率较高, 各处理均在90%以上, 在椰糠基质上的成活率最高, 达到100%; 椰糠和河沙(1:1)的混合基质的成活率略低, 为98%, 椰糠:河沙:表土(1:1:1)和营养土基质的成活率均为94%, 河沙与表土(1:1)的成活率最低, 为90%。从生长情况看, 组培苗在纯椰糠基质上的生长量最大, 30 d平均株高达到12.04 cm, 叶片大而绿, 植株健壮(图1-F), 根系发达粗壮, 这可能是基质透气、保湿性良好, 有利于根系的发生, 从而促进植株的生长。在含有椰糠的另2个混合基质中, 组培苗生长也较快, 平均株高相近, 分别为10.07 cm和10.09 cm, 根较多。而河沙与表土(1:1)的混合基质较易板结, 通透气性较差, 不利于根系的发育, 故成活率低些, 植株生长也较慢, 平均株高只有8.99 cm, 长出的新叶较小。营养土基质上的组培苗长势一般, 植株也较矮, 平均株高为9.41 cm, 可能是其保水性能过好, 湿度太大, 影响了根系的发育, 从而影响到植株的生长。因此, 土田七组培苗的移栽以椰糠为首选基质。

讨 论

外植体类型的选择对其植物组织培养体系的建立十分重要, 不同取材时间、部位、植株年龄和生理状态等都会直接影响培养结果(梁钻姬等

表5 不同基质对土田七组培苗生长的影响

Table 5 Effects of different substrates on growth of plantlets of *S. involucratus*

基质	移栽株数/株	成活株数/株	成活率/%	株高/cm
椰糠	50	50	100	12.04
椰糠:河沙(1:1)	50	49	98	10.07
椰糠:河沙:表土(1:1:1)	50	47	94	10.09
河沙:表土(1:1)	50	45	90	8.99
营养土	50	47	94	9.41

2012)。本实验采用土田七的茎尖和根茎作为外植体都能诱导出新芽, 其中茎尖外植体污染率和死亡率低, 芽诱导率高, 生长快。可能与茎尖的生长结构有关, 一是由于茎尖外植体有叶鞘包裹, 受杂菌的污染较少; 二是剥除叶鞘后的茎尖外表光滑, 较易消毒, 而外表的包片保护着茎尖生长点不直接受到消毒剂的伤害, 茎尖的顶端优势使其有较快的生长速度。

基础培养基提供离体外植体生长、维持生命活动所需的基本成分。MS培养基营养成分较为齐全, 浓度适中, 其总氮量约是B₅培养基的2倍, Ls培养基的多数成分和含量与MS培养基相同, 但不含盐酸吡哆素, 且肌醇较MS培养基低200倍(王玉英和高新一2001)。土田七小芽在MS培养基中的效果显著优于B₅和Ls培养基, 表现为生长势好, 丛生芽增殖系数高, 说明土田七芽的生长发育需要较高的硝酸盐、铵盐以及较为丰富的微量元素和有机物质; 盐酸吡哆素对土田七芽的生长也有促进作用。植物生长调节剂的水平以及相互作用对组织的产生与分化也极为重要, 土田七的芽增殖生长需要较高的6-BA浓度, 6-BA 3.0 mg·L⁻¹与NAA 0.2 mg·L⁻¹配合达到最大的增殖效果。蔗糖含量虽然对植物组织或细胞的生长速率、次生代谢产物的合成的影响甚大, 而且不同植物及同一植物的不同培养阶段所需的糖浓度会有所不同。但本研究结果表明, 蔗糖浓度对土田七芽的增殖影响最小。MS+6-BA 3.0 mg·L⁻¹+NAA 0.2 mg·L⁻¹+蔗糖40 g·L⁻¹的组合配方是土田七丛生芽增殖的最佳配方, 丛生芽增殖系数高, 生长势好, 芽苗健壮整齐。

适宜的生长素种类和水平可以促进植株根系的良好分化, 而不同植物对生长素的种类和浓度需求不同。在本实验中, NAA对土田七苗根系分化的效果最好, 最佳浓度为0.6~0.8 mg·L⁻¹, 能快速分化

生长, 形成的根系多而粗壮, NAA浓度达到1.0 mg·L⁻¹时产生膨大畸形根。在药用植物裸花紫珠的生根研究中发现, NAA浓度达到1.0 mg·L⁻¹时, 出现膨大海绵状根系, 在洗苗过程中极易从茎基部折断, 移栽到苗床上容易死苗(潘梅等2013)。药用植物白术的生根试验中, 生长素浓度IBA为1.0 mg·L⁻¹或NAA为2.0 mg·L⁻¹时产生板状根(朱玉球等2006)。其原因一方面可能是前期培养阶段所用的外源激素水平不同, 导致培养物的内源激素在质和量上有所差异(龙华等2006), 另一方面可能是外源激素超过本身适应极限, 从而影响自身根的形成与生长。

基质是影响组培苗移栽成活的主要因子, 普遍认为, 保水、保肥、通透性良好的基质有利于试管苗的成活和生长(方少忠等2003)。目前, 我国已离体培养成功的姜科花卉有圆瓣姜花(陈薇等2002), 瓷玫瑰(莫饶等2004), 红球姜(范燕萍等2004), 白姜花(熊友华等2005), 金姜花(熊友华等2007)等10余种, 移栽成活率为90%~100%, 选用的基质原料主要有椰糠、泥炭土、草炭土、珍珠岩、蛭石、表土和河沙, 多是2~3种原料基质按一定的比例混合使用, 虽然不同的姜科花卉植物对移栽基质要求有所不同, 但相对疏松透气的根部环境和含有较丰富的营养有利于组培苗的成活与生长。土田七组培苗移栽所用的5种基质成活率均在90%以上, 其中椰糠基质中的成活率达到了100%, 高生长量最大。椰糠属于海南本地资源, 在取材、运输等方面都比较方便, 价格也相对较低, 因此, 椰糠应是土田七组培苗的理想基质。

参考文献

Chen W, He JM, Cun SX (2002). Tissue culture of stem apexes of *Hedychium forrestii*. *Plant Physiol Commun*, 38 (2): 146 (in Chinese) [陈薇, 和江明, 寸守铤(2002). 圆瓣姜花茎尖组织培养. *植物生理学通讯*, 38 (2): 146]

- Fan YP, Yu RC, Chen XD (2004). Tissue culture and rapid propagation of *Zingiber zerumbet*. *Plant Physiol Commun*, 40 (4): 458 (in Chinese) [范燕萍, 余让才, 陈小丹(2004). 红球姜的组织培养和快速繁殖. *植物生理学通讯*, 40 (4): 458]
- Fang SZ, Cai XM, Lin Z, Zheng WW (2003). Several technical essentials for the transition of tube seedlings. *Fujian Agric Sci*, (1): 44–45 (in Chinese) [方少忠, 蔡宣梅, 林真, 郑伟文(2003). 试管苗移栽过渡的几个技术要领. *福建农业科学*, (1): 44–45]
- Gao JY, Xia YM, Huan JY, Li QJ (2006). *Chinese Zingiberaceae Flowers*. Beijing: Science and Technology Press, 107 (in Chinese) [高江云, 夏永梅, 黄加元, 李庆军(2006). *中国姜科花卉*. 北京: 科学技术出版社, 107]
- Liang ZJ, Pan CM, Lai ZZ, Zheng FH, Xia J, Liu X (2012). Tissue culture and rapid propagation of medicinal plant *Eupatorium chinense* L. *Plant Physiol J*, 48 (1): 85–89 (in Chinese with English abstract) [梁钻姬, 潘超美, 赖珍珍, 郑芳昊, 夏静, 刘欣(2012). 药用植物华泽兰组织培养和快速繁殖. *植物生理学报*, 48 (1): 85–89]
- Long H, Hu XF, Huang HY (2009). Tissue culture of *Swertia bimaculata*. *Chin Trad Herbal Drugs*, 40 (3): 462–466 (in Chinese with English abstract) [龙华, 胡雪峰, 黄衡宇(2009). 獐牙菜的组织培养. *中草药*, 40 (3): 462–466]
- Mo R, Qi CL, Zhu WL (2004). Tissue culture of *Phaeomeria magnifica*. *Plant Physiol Commun*, 40 (3): 338 (in Chinese) [莫饶, 戚春霖, 朱文丽(2004). 瓷玫瑰的组织培养. *植物生理学通讯*, 40 (3): 338]
- Pan M, Huang S, Wang JF, Lv DR, Qi HS (2013). Study on tissue culture and rapid propagation of medicinal plant *Callicarpa nudiflora*. *Chin Agric Sci Bull*, 29 (7): 127–132 (in Chinese with English abstract) [潘梅, 黄赛, 王景飞, 吕德任, 戚华莎(2013). 药用植物裸花紫珠组织培养与快速繁殖研究. *中国农学通报*, 29 (7): 127–132]
- Wang YY, Gao XY (2011). *Plant Tissue Culture Technology Handbook*. Beijing: Shield Press, 352, 356–357 (in Chinese) [王玉英, 高新一(2011). *植物组织培养技术手册*. 北京: 金盾出版社, 352, 356–357]
- Xiong YH, Ma GH, Liu N (2005). Tissue culture and plantlet regeneration of *Hedychium coronarium*. *Plant Physiol Commun*, 41 (1): 66 (in Chinese) [熊友华, 马国华, 刘念(2005). 白姜花的组织培养与植株再生. *植物生理学通讯*, 41 (1): 66]
- Xiong YH, Ma GH, Liu N (2007). Tissue culture and rapid propagation of *Hedychium gardnerianum* Roscoe. *Plant Physiol Commun*, 43 (1): 135 (in Chinese) [熊友华, 马国华, 刘念(2007). 金姜花的组织培养和快速繁殖. *植物生理学通讯*, 43 (1): 135]
- Zhu YQ, Xia GH, Fang HG, Fu SH, He FJ (2006). Tissue culture and rapid propagation of *Atractylodes macrocephala* Koidj. *Trad Chin Med*, 29 (3): 212–213 (in Chinese with English abstract) [朱玉球, 夏国华, 方慧刚, 付顺华, 何福基(2006). 白术组培快繁技术. *中药材*, 29 (3): 212–213]

Tissue culture and rapid propagation of *Stahlianthus involucratus*

HUANG Sai, FU Ri-Kan, YANG Jun, QI Hua-Sha, LÜ De-Ren, PAN Mei*

Tropical Horticulture Research Institute of Hainan Academy of Agricultural Sciences, Haikou 571100, China

Abstract: The techniques of tissue culture and rapid propagation of *Stahlianthus involucratus* were studied by comparing with different explants, basic medium, types and concentrations of plant growth regulators, sucrose concentration and transplanting medium. The results showed that the stem tips were the best explants. MS+6-BA 3.0 mg·L⁻¹+NAA 0.2 mg·L⁻¹+sucrose 40 g·L⁻¹ could effectively induce fasciculate buds, the propagation coefficient was 4.16 per 30 days; the most optimum rooting medium was MS+NAA 0.6–0.8 mg·L⁻¹, and the rooting rate was 100%. The rooting seedlings were effectively transplanted in coconut chaff, and the survival rate was 100%.

Key words: *Stahlianthus involucratus*; explants; tissue culture; rapid propagation

Received 2016-07-27 Accepted 2016-08-15

This work was supported by the Technology Development Project of Hainan Provincial Research Institutes (Grant No. KYYS-2015-14).

*Corresponding author (E-mail: panmei200@sina.com).