

DOI:10.11829/j.issn.1001-0629.2017-0612

杨成行,李晓婷,袁建振,马清.金线莲组织培养技术研究进展.草业科学,2018,35(5):1047-1056.

Yang C H, Li X T, Yuan J Z, Ma Q. Research progress on tissue culture techniques of *Anoectochilus roxburghii*. Pratacultural Science, 2018, 35(5): 1047-1056.

金线莲组织培养技术研究进展

杨成行, 李晓婷, 袁建振, 马清

(兰州大学草地农业生态系统国家重点实验室 兰州大学草地农业科技学院, 甘肃 兰州 730020)

摘要:金线莲(*Anoectochilus roxburghii*)作为名贵中草药和草本观赏植物,具有极高的经济和药用价值。本文从外植体和基本培养基的选择、愈伤及芽的诱导、增殖培养以及重要影响因素等方面对金线莲组织培养快繁体系的研究现状进行了综述。金线莲组织培养中多以种子、具节茎段、茎尖、茎片和叶片作为外植体。其组织培养再生体系主要包括3条途径:一是原球茎途径,激素和基因型是影响其的关键因素;二是带节茎段诱导丛生芽,细胞分裂素和生长素等配合使用对其有促进作用;三是愈伤组织分化途径,以茎片和茎段为外植体的愈伤组织能分化出大量不定芽,6-BA在此途径中起关键性作用。此外,光照条件及天然有机物也是影响金线莲组织培养的重要因素。本研究旨在为金线莲的组培快繁提供科学依据,同时对金线莲资源保护、开发利用及产业化发展奠定基础。

关键词:基因型;光照条件;有机物;外植体;激素;愈伤组织;原球茎

中图分类号:S567.038;Q943.1 **文献标志码:**A **文章编号:**1001-0629(2018)05-1047-10*

Research progress on tissue culture techniques of *Anoectochilus roxburghii*

Yang Cheng-hang, Li Xiao-ting, Yuan Jian-zhen, Ma Qing

(State Key Laboratory of Grassland Agro-ecosystem, College of Pastoral Agriculture Science and Technology, Lanzhou University, Lanzhou 730020, Gansu, China)

Abstract: *Anoectochilus roxburghii* is an herbaceous plant which is used as a Chinese herbal medicine and ornamental plant, with high economic and medicinal value. In this paper, the recent studies of tissue culture techniques of *A. roxburghii* are summarized regarding explant selection, minimal medium usage, induction of callus and bud, multiplication culture, and influencing factors. Seeds, nodal segments, stem apices, stems, and leaves are commonly used as explants for tissue cultures of *A. roxburghii*. Tissue culturing and regeneration of this species mainly relies on three approaches: Firstly, by using a protocorm-like body, with hormones and genotypes being the main influencing factors; secondly, culturing by differentiation from stem segments into buds, with cytokinin and auxin having synergistic effects; and thirdly, by callus differentiation, using the stem pieces and stem segments, as the explants can differentiate into a large number of adventitious buds; here, 6-BA plays a crucial role. In general, light conditions and natural organic matter are important factors to consider in the tissue culture of *A. roxburghii*. The aim of this paper is to provide an evidence-based protocol for rapid propagation of *A. roxburghii*, as well as to lay a foundation for protection, utilization and industrialization of *A. roxburghii*.

Key words: genotype; lighting conditions; organic matter; explant; hormone; callus; protocorm

Corresponding author: Ma Qing E-mail: maq@lzu.edu.cn

* 收稿日期:2017-11-09 接受日期:2018-01-25

基金项目:兰州大学中央高校基本科研业务费专项资金(lzujbky-2017-46);国家重点研发计划(2017YFC0504804)

第一作者:杨成行(1994-),男,贵州遵义人,在读硕士生,主要从事草类植物逆境生理研究。E-mail:yangchx16@lzu.edu.cn

通信作者:马清(1986-),男(回族),甘肃天水人,副教授,博士,主要从事草类植物逆境生理与遗传改良研究。E-mail:maq@lzu.edu.cn

金线莲 (*Anoectochilus roxburghii*) 为兰科 (Orchidaceae) 开唇兰属多年生草本植物, 主要分布于福建、浙江、广东、海南、台湾等东南沿海省(区)及贵州、四川、湖南、云南、西藏等内陆地区^[1]。金线莲作为珍惜名贵中草药, 其药性平和, 常用于治疗幼儿发热、急性肾炎等疾病^[2-4], 在民间有“金耳环”、“鸟人参”、“金钱草”等美誉^[5]; 此外, 由于金线莲株形小巧优美, 叶脉金黄、呈网状排列, 常作为高端盆栽, 或与兰草 (*Eupatorium fortunei*) 等盆景镶嵌搭配, 是名贵的室内观叶、观花盆栽珍品^[6]。因此, 金线莲具有极高的药用价值与经济价值^[2,6]。金线莲属于典型的阴生植物, 零星分布于阴蔽阔叶林下肥沃的腐植土中, 对生长环境要求严格, 自然环境下难以大量繁殖^[7]; 加之近年来自然环境恶化以及私采滥挖泛滥, 导致其野生资源濒临灭绝^[8]。目前, 利用组织培养技术快繁植株, 不仅有利于解决野生金线莲资源紧缺问题, 而且对于该物种的种质资源保护也发挥了积极的作用。为此, 从外植体的选择、愈伤及芽的诱导、增殖培养等方面对金线莲组织培养快繁体系进行综述, 以期对相关科研工作者和生产者提供参考。

1 外植体的培养

1.1 外植体的选择

外植体的选择是影响植物组织培养成功与否的重要因素, 不同植物的不同外植体建立组织培养快繁体系难易不同^[9-10]。金线莲组织培养外植体材料通常有种子^[11]、具节茎段^[12-14]、茎尖^[14-15]、茎片^[16-17]与叶片^[14]等, 各自经过相应的灭菌方法, 建立无菌体系。

1.2 消毒处理

植物组培过程中的三大难题之一即菌类污染, 降低污染率是建立植物组织培养快繁体系的前提^[18]。

兰科植物组织培养常用的外植体消毒试剂有 75% 酒精、0.1% 升汞、次氯酸钠、10% 次氯酸钙、饱和漂白粉溶液以及吐温等^[19-20]。目前, 金线莲组培消毒配合使用 75% 酒精和 0.1% 的升汞, 能有效降低种子污染率。先加入 75% 的酒精浸泡 30~60 s, 用无菌水冲洗 3 次, 再用 0.1% 的升汞溶液消毒 15~20 min, 最后用无菌水冲洗 5 次, 可使灭菌率达到 100%, 且种子萌发生长良好^[21-22]。

1.3 基本培养基的选择

基本培养基是植物生长发育的主要能量来源, 筛选合适的基本培养基是植物组织培养成功的基础。目前金线莲组培试验使用的基本培养基有 MS、1/2MS、N6、B5、VW 等^[23-24], 其中, MS 培养基对于金线莲愈伤组织生长的促进作用优于其他培养基^[25], 这可能是由于 MS 培养基相较于 B5 培养基含有更全面的营养成分。目前除了较为通用的 MS 基本培养基外, 还有营养成分全减半的 1/2MS 基本培养基^[26]和大量元素减少、微量元素增加的改进配方^[16]。

2 金线莲组织培养体系

金线莲组织培养体系的建立一般通过 3 条途径: 一是由外植体脱分化形成愈伤组织, 再诱导愈伤组织分化形成不定芽, 之后将不定芽进行继代增殖培养使其形成大量丛生芽, 最后诱导生芽愈伤组织产生不定根形成新的幼苗^[27]; 二是诱导带节茎段直接长出腋芽或顶芽, 再对其二次继代培养, 最后进行生根培养^[28]; 三是在无菌条件下诱导种子萌发或通过茎尖、茎段等外植体产生原球茎, 再由原球茎分化, 进而获得完整幼苗^[26]。其中, 以原球茎和带节茎段出芽两种方式进行增殖凭借耗时短、技术简便的优势成为金线莲大规模快繁的主流^[29](表 1)。

表 1 金线莲组织培养快繁途径

Table 1 Tissue culture fast propagation route of *Anoectochilus roxburghii*

途径 Channel	外植体 Explant	参考文献 Reference
原球茎分化成芽 Protocorms differentiate into buds	茎段 Stem segment	[25]
带节茎段诱导丛生芽 Induction of clustered shoots with nodal stem segments	种子、中部茎节 Seed, middle stem node	[21]
通过愈伤组织分化成芽 Callus differentiated into buds	带节茎段 Nodal stem segments	[30]
	叶片、茎片 Blade, stem pieces	[13]
	茎段 Stem segment	[28]

2.1 原球茎分化成芽

金线莲原球茎的诱导与分化不仅与培养基组成相关,还与植株基因型有关^[31]。在对金线莲原球茎的增殖进行研究时发现,选择合适的基本培养基能明显促进原球茎的增殖,其中以 B5 培养基效果最优,且附加一定量的天然有机物也有利于增殖,如加入椰汁培养 45 d 后原球茎重量平均增加 6 倍以上^[24]。刘丹^[26]却发现,MS 更适合于金线莲原球茎的分化培养。杨柏云等^[30]也认为,MS 基本培养基更适合金线莲原球茎的分化培养,并且以金线莲茎段为外植体,添加不同浓度的 6-BA(6-苄氨基腺嘌呤)、NAA(萘乙酸)、TDZ(噻苯隆)和 S-3307(烯效唑)开展正交试验,寻找原球茎诱导、增殖、分化与生根的最佳培养基及影响原球茎增殖与分化的主要因子,结果发现,在最适激素配比下

原球茎的诱导率达 93.3%,原球茎增殖的系数达 9.4,芽分化率达 91.7%,最适培养基为 MS+0.4 mg·L⁻¹TDZ+0.2 mg·L⁻¹NAA。并且,S-3307 是影响金线莲原球茎增殖的主要因子,TDZ 是影响原球茎芽分化的关键因子。

研究表明,在相同的培养条件下,不同产地金线莲之间诱导原球茎的结果差异较明显^[25],诱导容易程度以广西金线莲最易,台湾金线莲最难(表 2);此外,同种金线莲的不同外植体诱导原球茎效果同样差异显著($P<0.01$),以茎段作为外植体诱导原球茎,诱导率只有 66%,而以成熟种子作为外植体诱导原球茎效果最佳,在 90%以上。虽然以种子作为外植体诱导原球茎最易而且产量较多,但以它诱导的原球茎成苗率只有 51%^[32]。

表 2 不同产地金线莲在相同激素浓度下的原球茎和芽的诱导率

Table 2 Protocorm and shoot induction rate *Anoectochilus roxburghii* plants of different origins

外植体产地 Origin of explant	激素浓度 Hormone concentration/(mg·L ⁻¹)			诱导率 Induction rate/%	部位 Position	参考文献 Reference
	6-BA	NAA	KT			
福建永安 Yong'an, Fujian	3.0	0.2	1.0	84.6		[12]
台湾南投 Nantou, Taiwan	3.0	0.2	1.0	96.4	芽 Shoot	[12]
广西玉林 Yulin, Guangxi	3.0	0.2	1.0	66.7		[12]
广西永福 Yongfu, Guangxi	2	0.2	—	42.9		[25]
福建闽清 Minqing, Fujian	2	0.2	—	31.4	原球茎 Protocorm	[25]
台湾 Taiwan	2	0.2	—	0		[25]

2.2 带节茎段诱导丛生芽

对金线莲组织培养与快繁研究表明,与茎片、顶芽作为外植体相比,以金线莲带节茎段为外植体诱导丛生芽效果最佳^[13,33],且以茎段为外植体诱导产生的丛生芽的增殖能力明显优于顶芽产生的丛生芽^[17]。

对于带节茎段诱导丛生芽增殖这一途径,刘润东等^[34]在添加 6-BA 1.0 mg·L⁻¹的 MS 培养基上,附加低浓度的玉米素(ZT)能明显促进丛生芽的产生。郝丽丽等^[35]也认为适量浓度的 ZT 能显著($P<0.05$)促进腋芽的发生与增殖,当添加的玉米素浓度达到 0.6 mg·L⁻¹时最有利于芽的增殖。目前对于金线莲带节茎段诱导丛生芽这一途径中 6-BA 与 NAA 的作用积极与否尚存争议,但大多倾向于 6-BA/NAA 在 6~10 倍范围内与有机物配合使用能有效促进腋芽的诱导与增殖^[27,34-38](表 3)。李艳冬等^[27]发现,6-BA 和 NAA 与有机物香蕉泥搭配使用时可以有效促进腋芽的诱导与增殖。罗晓青等^[28]研究发现,6-BA 和 ZT 激

素对丛生芽增殖的效果优于 KT,增殖系数达 4.3。

2.3 通过愈伤组织分化成芽

外植体和激素配比同时作用于金线莲愈伤组织分化过程^[16,39]。冯亦平等^[16]以金线莲叶和茎片作为外植体诱导愈伤组织,结果表明,茎片诱导效果远好于叶片,并且以 MS 为基本培养基可形成大量丛生芽,在合适激素配比下诱导率可在 60%以上,而以叶片诱导愈伤组织不仅时间长而且诱导率低。也有研究^[39]同样证实,以叶片作为外植体几乎不能诱导出愈伤组织,相反茎段和茎片诱导的愈伤组织均能长出大量的不定芽。这表明金线莲叶片难以诱导出愈伤组织,并不适合大规模应用。

研究发现,6-BA 较 2,4-D、NAA、KT 对金线莲以茎段为外植体诱导愈伤组织有明显效果,影响强弱顺序为 6-BA>2,4-D>NAA>KT,各激素最佳浓度依次为 1.0、2.0、0.5 和 0.25 mg·L⁻¹,特别是在 3.0 mg·L⁻¹ 2,4-D、1.0 mg·L⁻¹ 6-BA、0.5 mg·L⁻¹

NAA 和 $0.25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ KT 的激素配比条件下效果最佳^[40]。王雅英等^[39]采用正交试验进一步发现,6-BA 和 ZT 是诱导金线莲愈伤组织的主要因素,附加适量的 KT 可明显提高愈伤组织的诱导率,其中,以不定芽

作为外植体时,在 $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA、 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA 和 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ KT 的激素配比条件下的愈伤组织诱导率达 95%。以上研究均表明,6-BA 在金线莲愈伤组织诱导过程中起关键性作用。

表 3 金线莲丛生芽增殖培养基

Table 3 *Anoectochilus roxburghii* bud proliferation medium

外植体 Explant	最适增殖培养基 Optimum proliferation medium	增殖系数 Proliferation coefficient	参考文献 Reference
具结茎段 Nodular segment	$1/2\text{MS}+4.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA+ $0.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA	5.00	[36]
	$1/2\text{MS}+1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA+ $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA	2.00	[33]
	$1/2\text{MS}+2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA+ $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA	4.30	[36]
	$\text{MS}+2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA+ $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA	1.67	[17]
	$1/2\text{MS}+2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA+ $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA	6.60	[5]
	$1/2\text{MS}+2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA+ $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA	4.46	[7]
茎尖 Shoot tip	$1/2\text{MS}+3.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA+ $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA+ $0.6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ZT+ $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ KT	6.70	[35]

研究^[30]表明,一定浓度的 6-BA 和 NAA 能促进愈伤组织诱导成芽,且当 6-BA 和 NAA 浓度比例大于 1 时效果最为明显。在 6-BA 和 NAA 浓度比例大于 1 的基础上,添加适量的 KT 能够更好地促进芽的诱导,进而产生丛生芽或原球茎^[7]。

2.4 金线莲生根

植物生根受多种因素影响,如激素比例、外源有机物种类与含量等^[22]。取茎段粗壮、长势好的金线莲幼芽转移至生根培养基上诱导生根时发现,在激素配比为 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA、 $4.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IBA 和 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA、并附加 $3 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 活性炭和 $100 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 香蕉汁的条件下,金线莲的生根率可达 97%;虽然添加 6-BA 对生根时间、生根率及根长有较大的促进作用,但对生根数量影响不大^[17]。在 NAA 使用方面,对福建金线莲的研究中,在培养基中加入 $3 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 NAA 有利于生根^[41],但同样认为对于金线莲生根数没有显著($P>0.05$)影响^[42]。此外,添加活性炭有助于根的生长,其中活性炭浓度 $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时促进作用效果最好,可在保证生根所需营养的同时,获得较好的生根率并能提高根的质量,有利于组培苗移栽^[43]。

3 影响金线莲组织培养的其他重要因素

3.1 光照条件的影响

目前关于金线莲组织培养的研究主要集中于培养基配方调整上,在金线莲培养与外部环境相关性方面

的研究较少。金线莲属阴生植物,适合在荫蔽环境下生长^[44],因此光照条件是控制其生长发育以及组织培养及人工栽培成功与否的关键环境因素^[45-46]。

在兰科植物组织培养早期愈伤诱导过程中,光照强度过大会催化酚类物质氧化形成醌,导致褐化^[47-48]。金线莲组培苗的生长发育对环境光照强度同样非常敏感,在较高或较低光照强度下,植株株高、节间长度、叶面积及干鲜重等均会受到影响^[46,49]。对金线莲组培苗生长过程中光强对其产生的影响研究结果表明,光强高时不利于其植株生长发育^[50]。

此外,光质对于兰科植物兰花的愈伤组织诱导同样有明显的影 响,红光/蓝光比例在一定范围内,值越大对愈伤组织的诱导效果越好,并在比例为 3:1 时能促进愈伤组织生长^[51]。但 Tanaka 等^[52]认为,蓝光能促进兰科植物原球茎的发生。相关研究也表明,光质对于金线莲组培苗生长发育有重要影响^[53-55]。在 LED 光质对金线莲组培苗生长发育、生理变化的影响研究中,分别采用红、黄、蓝 3 种 LED 光对福建产金线莲组培苗生长形态指标以及叶绿素含量、气孔发育的影响进行比对,试验结果显示,红光与黄光处理有利于金线莲组培苗株高增长,但两个处理的植株较为纤细,且植株的叶绿素 a 和叶绿素 b 含量较低;蓝光处理下金线莲组培苗生长情况优于其他两种光处理,叶绿素含量较高,且叶面积与对照组相比增长明显^[56]。光质虽然能对植物生长产生一

定作用,但不能取代激素对植物的影响,两者更多是一种补偿。

3.2 天然有机物的应用

在兰科植物离体培养中常用的有机物有香蕉泥、土豆泥、椰子汁等^[57-58]。它们含有丰富的有机营养物质和生理活性物质,如氨基酸、酶和激素等^[59]。这些物质对于植物发育不是必需的,但对于植物组织培养和再生期间细胞和组织的增殖与分化具有明显的促进作用^[60]。研究发现,在培养基中添加适量的土豆泥有利于金线莲组培苗高度和茎直径的增长^[61](;添加适

量的香蕉泥、椰子汁和蛋白胨有利于金线莲组培苗茎和根系的生长,且香蕉泥会提高金线莲增殖倍数^[5](表4)。李艳冬等^[27]研究同样表明,在培养机中添加20%的香蕉泥和椰子汁能显著促进金线莲组培幼苗生长($P < 0.01$)。然而,继代增殖培养基中若加入香蕉泥,则接入的茎段很容易烂掉;而在生根培养基中附加适量的香蕉泥,长出的植株则叶子较绿、茎部较粗壮、长势也较好^[62](表4)。因此,在金线莲离体培养中可以添加适量的天然有机物,促进植株生长。但需要注意加入天然有机物质的时间,不同阶段加入有机物的效

表4 促进金线莲组培苗生长的因素

Table 4 Factors to promote the growth of the tissue culture seedlings of *Anoectochilus roxburghii*

因素 Factor	物质 Material	参考文献 Reference
有机物 Organics	20%椰子汁 20% Coconut juice	[18]
	20%香蕉泥 20% Banana mud	[38]
	20%土豆泥 20% Potato mud	[61]
	2%蛋白胨 2% Peptone	[5]
光照条件 Light conditions	光照强度(2 000~5 000 lx) Light intensity(2 000~5 000 lx)	[46]
	光质为蓝光 Blue light	[56]
基本培养基 Basic medium	MS+3%蔗糖 MS+3% Sucrose	[25]

果不同。

4 小结

金线莲自然繁殖效率低并且生长缓慢,因此随着对其需求的日益增大,急需建立高效的金线莲组织培养体系。金线莲作为兰科开唇兰属植物,虽然目前能从其茎段、类原球茎等途径诱导愈伤组织,但花费时间长且诱导成功率低,因此目前金线莲组培主要通过原球茎诱导途径和具结茎段诱导丛生芽途径实现,其中原球茎途径增殖速度快、增殖系数高,是工厂化育苗的主要途径。细胞分裂素和生长素是影响金线莲外植体分化的关键因素,其中6-BA和NAA浓度比例在6~10范围内有利于外植体的分化,且TDZ对于金线莲原球茎的诱导作用大于NAA。这与一些研究结果相同,未分化愈伤组织内源生长素低于已分化出芽的愈伤组织^[63],内源生长素含量升高时,其愈伤组织分化率降低,恰好与内源细胞分裂素相反^[64-65]。这表明,植物内源激素含量

调控细胞分化和生长的方向与进程,外源激素通过与内源激素平衡调节发挥作用。因此,植物愈伤组织分化是内源与外源激素调节下的生长素降低和细胞分裂素升高的结果。金线莲组培过程中加入有机物不仅对外植体的分化和芽的诱导有促进作用,并且有利于组培苗的生根,但长时间加入香蕉泥等有机物则会导致植物烂根,这与有机物中的活性氧(ROS)消除相关酶有关,相关研究表明,愈伤组织分化以及不定根的诱导都与过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)和超氧化物歧化酶(SOD)等活性氧消除相关酶有关^[66]。并且在植物愈伤组织分化过程中POD、CAT、SOD等ROS消除酶活性逐渐增强^[67-69]。活性氧在细胞发育过程中可以穿透细胞膜,对细胞造成损害^[70],不同植物细胞在分化过程中对活性氧抗性强弱不同,加入外源ROS消除相关酶能减少对细胞的损害^[71]。但过量的有机物则会导致细胞缺氧,因此金线莲组培过程中应适时适量添加有机物。此外,光照强度和光质对金线莲组培亦有显著影响,

其中红光光强在一定范围内与愈伤组织生长呈正比,与原球茎发生呈反比,这可能与光诱导植物形态建成有关。上述研究对解决野生金线莲资源紧缺和该物种的种质资源保护具有积极意义。

参考文献 References:

- [1] 陈谦海. 贵州植物志. 第10卷. 贵阳:贵州科技出版社,2004:343-355.
Chen Q H. Flora of Guizhou, Tenth volumes. Guiyang: Guizhou Science and Technology Publishing House, 2004; 343-355. (in Chinese)
- [2] 吴梅,马巧群,凌丹燕,徐寒艳. 名贵中药材金线莲人工栽培关键技术探讨. 园艺与种苗,2016(6):57-59.
Wu M, Ma Q Q, Ling D Y, Xu H Y. Discussion on key cultivation techniques of expensive medicine *Anoectochilus roxburghii*. Horticulture & Seed, 2016(6): 57-59. (in Chinese)
- [3] Qu X, Huang Y, Feng H, Hu R. *Anoectochilus nandanensis* sp. nov. (Orchidaceae) from northern Guangxi, China. Nordic Journal of Botany, 2015, 33(5): 572-575.
- [4] 姜福星,魏丕伟,寇亚平,贾茵,陈其兵. 台湾金线莲转录组特性研究. 分子植物育种,2015,13(12):2743-2753.
Jiang F X, Wei P W, Kou Y P, Jia Y, Chen Q B. Study on characterization of the transcriptome of *Anoectochilus formosanus* Taiwan. Molecular Plant Breeding, 2015, 13(12): 2743-2753. (in Chinese)
- [5] 王建明,王松良,詹巧杰,古力,康智明,张金荣,林长芹. 金线莲组织培养的条件优化研究. 中国现代中药,2013,15(1):45-49.
Wang J M, Wang S L, Zhan Q J, Gu L, Kang Z M, Zhang J R, Lin C Q. Study on condition optimization of tissue culture for *Anoectochilus roxburghii*. Modern Chinese Medicine, 2013, 15(1): 45-49. (in Chinese)
- [6] 张君诚,张超,陈强,林春辉. 金线莲产业化现状及发展对策. 福建林业科技,2014(4):220-224.
Zhang J C, Zhang C, Chen Q, Lin C H. Industrial status and development countermeasures of *Anoectochilus* spp. Journal of Fujian Forestry Science and Technology, 2014(4): 220-224. (in Chinese)
- [7] 罗庆国,叶炜,江金兰,谢嫦,李永清. 金线莲组培快繁技术研究. 南方农业:园林花卉版,2011,5(5):43-44.
Luo Q G, Ye Y, Jiang J L, Xie C, Li Y Q. Study on tissue culture of *Anoectochilus roxburghii*. South China Agriculture, 2011, 5(5): 43-44. (in Chinese)
- [8] 邵清松,叶申怡,周爱存,王红珍,张爱莲,徐建伟. 金线莲种苗繁育及栽培模式研究现状与展望. 中国中药杂志,2016,41(2):160-166.
Shao Q S, Ye S Y, Zhou A C, Wang H Z, Zhang A L, Xu J W. Current researches and prospects of seedling propagation and cultivation modes *Anoectochilus roxburghii*. China Journal of Chinese Materia Medica, 2016, 41(2): 160-166. (in Chinese)
- [9] 阳宴清,王咏,朱美兰,卢运海. 芦竹愈伤组织诱导及再生体系的建立. 草业科学,2016,33(7):1332-1341.
Yang Y Q, Wang Y, Zhu M L, Lu Y H. A study on callus induction and plant regeneration in giant reed (*Arundo donax*). Pratacultural Science, 2016, 33(7): 1332-1341. (in Chinese)
- [10] 钊秀娟,陈彩虹,罗丽娟. 热研5号柱花草高频、优质愈伤组织的诱导. 草业科学,2015,32(1):78-84.
Chuan X J, Chen C H, Luo L J. Callus induction of *Stylosanthes guianensis* cv. Reyan No. 5. Pratacultural Science, 2015, 32(1): 78-84. (in Chinese)
- [11] 鲁松,熊铁一. 峨眉金线莲种子无菌苗组培快繁体系的建立. 四川林业科技,2017,38(1):1-5.
Lu S, Xiong T Y. Establishment of rapid propagation for sterile seedlings of *Anoectochilus roxburghii* by tissue culture. Journal of Sichuan Forestry Science and Technology, 2017, 38(1): 1-5. (in Chinese)
- [12] 黄淑燕,荣俊冬,郑郁善. 不同产地金线莲组培快繁试验. 西南林业大学学报,2014(5):64-68.
Huang S Y, Rong J D, Zheng Y S. Study on tissue culture and rapid propagation of *Anoectochilus roxburghii* in different origins. Journal of Southwest Forestry University, 2014(5): 64-68. (in Chinese)
- [13] 许晴,穆梁丽,冀爱青. 濒危药材金线莲愈伤组织诱导及分化成苗研究. 安徽农业科学,2017,45(14):103-106.
Xu Q, Mu L L, Ji A Q. Study on callus induction and seeding differentiation of the rare medicinal species *Anoectochilus roxburghii*. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2017, 45(14): 103-106. (in Chinese)
- [14] 靳松,陈泽斌,夏体渊,任祺,余燕,莫丽玲. 金线莲试管苗高效快繁技术研究. 时珍国医国药,2016(6):1491-1493.

- Jin S, Chen Z B, Xia T Y, Ren Z, Yu Y, Mo L L. Study on efficient rapid propagation technology of *Anoectochilus roxburghii* plantlets. *Lishizhen Medicine and Materia Medica Research*, 2016(6): 1491-1493. (in Chinese)
- [15] 孟志霞, 郭顺星, 于雪梅, 陈晓梅, 肖培根. 植物生长调节剂对福建金线莲丛生芽增殖的影响. *中国药理学杂志*, 2008, 43(23): 1777-1780.
- Meng Z X, Guo S X, Yu X M, Chen X M, Xiao P G. Effect of plant growth regulator on prolifera of axillary buds of *Anoectochilus roxburghii*. *Chinese Pharmaceutical Journal*, 2008, 43(23): 1777-1780. (in Chinese)
- [16] 冯亦平, 张利平, 王岩花, 张学红. 金线莲外植体的筛选及不定芽诱导的研究. *种子*, 2009, 28(10): 19-22.
- Feng Y P, Zhang L P, Wang Y H, Zhang X H. Studies on explant selection and buds induction of *Anoectochilus roxburghii*. *Seed*, 2009, 28(10): 19-22. (in Chinese)
- [17] 韩晓红, 王春龙, 段春红. 不同激素水平对金线莲组织培养的影响. *广东农业科学*, 2012, 39(18): 94-97.
- Han X H, Wang C L, Duan C H. Effects of different hormone levels on tissue culture of *Anoectochilus roxburghii*. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2012, 39(18): 94-97. (in Chinese)
- [18] 林志魁, 罗宗志, 梅兰, 刘宏伟, 吴金寿, 林熿. 芦竹属新材料绿洲3号的愈伤组织诱导. *草业科学*, 2016, 33(10): 2012-2018.
- Lin Z K, Luo Z Z, Mei L, Liu H W, Wu J S, Lin X. Study on callus inductions of lvzhou No. 3: A new material of *Arundo*. *Practical Science*, 2016, 33(10): 2012-2018. (in Chinese)
- [19] 丁丽, 唐虹, 吴家丽, 李怀情, 鲍菊. 兰花外植体消毒试验初探. *北方农业学报*, 2012(2): 48-49.
- Ding L, Tang H, Wu J L, Li H Q, Bao J. Preliminary study on disinfection test of orchid explants. *Inner Mongolia Agricultural Science and Technology*, 2012(2): 48-49. (in Chinese)
- [20] Nicomrat D, Anantasaran J. A reliable homemade tissue culture protocol for dendrobium orchid cultivation. *Applied Mechanics & Materials*, 2015, 804: 227-230.
- [21] 胡琦敏, 黄云峰, 张启伟. 灰岩金线莲种子萌发与组培快繁技术研究. *南方农业学报*, 2016, 47(11): 1891-1896.
- Hu Q M, Huang Y F, Zhang Q W. Seed germination and tissue culture propagation technique of *Anoectochilus roxburghii*. *Journal of Southern Agriculture*, 2016, 47(11): 1891-1896. (in Chinese)
- [22] 李焕勇, 刘涛, 张华新, 杨秀艳, 杨升. 植物扦插生根机理研究进展. *世界林业研究*, 2014, 27(1): 23-28.
- Li H Y, Liu T, Zhang H X, Yang X Y, Yang S. Research progress in rooting mechanism of plant cuttings. *World Forestry Research*, 2014, 27(1): 23-28. (in Chinese)
- [23] 罗安雄, 孟志霞, 陈晓梅, 郭顺星. 福建金线莲种子萌发及幼苗培养研究. *中国药理学杂志*, 2012, 47(15): 1199-1203.
- Luo A X, Meng Z X, Chen X M, Guo S X. Seed germination and young seedling propagation of *Anoectochilus roxburghii*. *Chinese Pharmaceutical Journal*, 2012, 47(15): 1199-1203. (in Chinese)
- [24] 韩晓红, 罗明英, 欧阳志成, 段春红. 金线莲原球茎增殖研究. *北方园艺*, 2012(24): 144-146.
- Han X H, Luo M Y, Ouyang Z C, Duan C H. Study on the proliferation of protocorm-like bodies in *Anoectochilus roxburghii*. *Northern Horticulture*, 2012(24): 144-146. (in Chinese)
- [25] 王建勤, 陈钢, 林兰英. 金线莲原球茎的组培诱导. *中药材*, 1995(1): 3-5.
- Wang J Q, Chen G, Lin L Y. Tissue culture induction of protocorm of *Anoectochilus roxburghii*. *Journal of Chinese Medicinal Materials*, 1995(1): 3-5. (in Chinese)
- [26] 刘丹. 福建戴云山金线莲工厂化育苗关键技术研究. 福州: 福建农林大学硕士学位论文, 2013.
- Liu D. Studies on the key techniques of industrial-scale micropropagation in *Anoectochilus roxburghii* from Daiyunshan mountain in Fujian. Master Thesis. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2013. (in Chinese)
- [27] 李艳冬, 叶红霞, 陈丽萍. 金线莲组培快繁技术体系的研究. *江西农业学报*, 2013, 25(4): 52-54.
- Li Y D, Ye H X, Chen L P. Study on tissue culture and rapid propagation techniques of *Anoectochilus roxburghii*. *Acta Agriculturae Jiangxi*, 2013, 25(4): 52-54. (in Chinese)
- [28] 罗晓青, 蒙秋伊, 查兰松, 张志勇, 卢加举. 兴仁金线莲丛生芽诱导增殖研究. *安徽农业科学*, 2012, 40(22): 11231-11232.
- Luo X Q, Meng Q Y, Za L S, Zhang Z Y, Lu J J. Study on the induction and proliferation of lustered buds of *Anoectochilus roxburghii*. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2012, 40(22): 11231-11232. (in Chinese)
- [29] 何碧珠, 何官榕, 黄铭星, 邹双全. 福建野生金线莲快速繁育技术. *农业工程*, 2013, 3(2): 72-76.

- He B Z, He G R, Huang M X, Zou S Q. Micropropagation technology of *Anoectochilus roxburghii* in Fujian Province. *Agricultural Engineering*, 2013, 3(2): 72-76. (in Chinese)
- [30] 杨柏云, 高荫榆, 李春华, 罗丽萍, 蔡奇英. 金线莲原球茎的诱导与快速繁殖. *安徽农业科学*, 2008, 36(10): 3999-4001.
Yang B Y, Gao Y Y, Li C H, Luo L P, Cai Q Y. Induction and rapid propagation of *Anoectochilus roxburghii* protocorm. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2008, 36(10): 3999-4001. (in Chinese)
- [31] 朱美瑛. 金线莲种质资源评价及组培快繁体系研究. 南京: 南京农业大学硕士学位论文, 2014.
Zhu M Y. Study on germplasm resource evaluate and rapid propagation system establish of *Anoectochilus roxburghii* and *Anoectochilus formosanus*. Master Thesis. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2014. (in Chinese)
- [32] 黄慧莲, 刘贤旺, 吴祥松, 赖学文, 张寿文. 金线莲种子诱导成苗的研究. *中药材*, 2002, 25(1): 3-4.
Huang H L, Liu X W, Wu X S, Lai X W, Zhang S W. Study on seedling inducement from seed of *Anoectochilus roxburghii*. *Journal of Chinese Medicinal Materials*, 2002, 25(1): 3-4. (in Chinese)
- [33] 宋丽莎, 邓伟, 文治瑞, 李玉红, 吴丽娟, 钱祥鑫. 荔波野生金线莲芽的诱导及其增殖. *贵州农业科学*, 2011, 39(10): 43-46.
Song L S, Deng W, Wen Z R, Li Y H, Wu L J, Qian X X. Bud induction and propagation of wild *Anoectochilus roxburghii* from Libo County, Guizhou. *Guizhou Agricultural Sciences*, 2011, 39(10): 43-46. (in Chinese)
- [34] 刘润东, 郭文杰, 林忠宁, 鲁雪华. 金线莲组织培养及营养成分的分析研究. *南方农业学报*, 2006, 37(5): 506-509.
Liu R D, Guo W J, Lin Z N, Lu X H. Tissue culture and nutrient contents analysis of *Anoectochilus roxburghii*. *Guangxi Agricultural Sciences*, 2006, 37(5): 506-509. (in Chinese)
- [35] 郝丽丽, 乙引, 申刚, 张习敏. 金线莲腋芽增殖培养条件的优化. *贵州农业科学*, 2010, 38(7): 18-19.
Hao L L, Yi Y, Shen G, Zhang X M. Optimization of proliferation culture condition of *Anoectochilus roxburghii* axillary buds. *Guizhou Agricultural Sciences*, 2010, 38(7): 18-19. (in Chinese)
- [36] 罗晓青, 申刚, 蒙秋伊, 张显波, 查兰松. 兴仁金线莲组织培养与快繁试验. *西南农业学报*, 2014, 27(1): 331-336.
Luo X Q, Shen G, Meng Q Y, Zhang X B, Zha L S. Study on culture and rapid propagation of *Anoectochilus roxburghii*. *South-west China Journal of Agricultural Sciences*, 2014, 27(1): 331-336. (in Chinese)
- [37] 孔琼, 袁盛勇, 张庭香, 查应洪, 张薇. 药用植物台湾金线莲快繁技术研究. *安徽农业科学*, 2012, 36(6): 2272-2278.
Kong Q, Yuan S Y, Zhang T X, Zha Y H, Zhang W. Rapid propagation of medical Taiwan *Anoectochilus roxburghii*. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2008, 36(6): 2272-2278. (in Chinese)
- [38] 杨红丽, 胡靖锋, 徐学忠, 和江明, 宋爽. 金线莲的组织培养与快速繁殖研究. *西南农业学报*, 2013, 26(6): 2485-2488.
Yang H L, Hu J F, Xu X Z, He J M, Song S. Study on tissue culture and rapid propagation of *Anoectochilus roxburghii*. *South-west China Journal of Agricultural Sciences*, 2013, 26(6): 2485-2488. (in Chinese)
- [39] 王雅英, 林小华, 洪璇. 金线莲外植体筛选及愈伤组织诱导研究. *亚热带植物科学*, 2011, 40(3): 41-43.
Wang Y Y, Lin X H, Hong X. Studies on explants selection and callus induction of *Anoectochilus roxburghii*. *Subtropical Plant Science*, 2011, 40(3): 41-43. (in Chinese)
- [40] 张奎一, 龚宁, 邱玥, 司庆永. 不同培养基对金线兰愈伤组织诱导的影响. *贵州农业科学*, 2010, 38(4): 33-35.
Zhang K Y, Gong N, Qiu Y, Si Q Y. Effect of culture medium on callus induction of *Anoectochilus roxburghii*. *Guizhou Agricultural Sciences*, 2010, 38(4): 33-35. (in Chinese)
- [41] 赵玥, 郭顺星. 两种金线莲组培苗的促根试验研究. *辽宁农业科学*, 2011(3): 40-42.
Zhao Y, Guo S X. Study on the root-promoting effect of two species of *Anoectochilus roxburghii*. *Liaoning Agricultural Sciences*, 2011(3): 40-42. (in Chinese)
- [42] 申刚, 刘荣, 罗晓青, 张显波. 金线莲组培苗生根培养基配方及移栽基质探究. *农技服务*, 2015(12): 103-104.
Shen G, Liu R, Luo X Q, Zhang X B. Study on the formulation and transplanting substrate of tissue culture medium of *Anoectochilus roxburghii*. *Agricultural Technology Service*, 2015(12): 103-104. (in Chinese)
- [43] 邵果园, 邬玉芬. 不同培养基组分对金线莲组培苗壮苗生根的影响. *热带农业科技*, 2014, 37(1): 14-15.
Sao G Y, Wu Y F. The effect of different components on strengthening and rooting of *Anoectochilus roxburghii* in vitro. *Tropical Agricultural Science & Technology*, 2014, 37(1): 14-15. (in Chinese)
- [44] 张福生, 郭顺星. 金线莲 ISSR 反应体系的建立与优化. *中草药*, 2011, 42(1): 137-142.

- Zhang F S, Guo S X. Establishment and optimization of ISSR reaction system for *Anoectochilus roxburghii*. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2011, 42(1): 137-142. (in Chinese)
- [45] 肖开前, 赖荣才, 林仁穗, 吴国虹, 郑伟榕, 吴德峰. 不同培养方式对金线莲主要化学成分的影响. 中药材, 2014, 37(4): 553-556.
- Xiao K Q, Lai R C, Lin R H, Wu G H, Zheng W R, Wu D F. Effect of different culture conditions on main chemical compositions of *Anoectochilus roxburghii*. Journal of Chinese Medicinal Materials, 2014, 37(4): 553-556. (in Chinese)
- [46] 魏翠华, 谢宇, 秦建彬, 陈沁. 光照强度对金线莲生长及产量的影响. 北方园艺, 2015(12): 139-141.
- Wei C H, Xie Y, Qin J B, Chen Q. Effect of light intensity on the growth and yield of *Anoectochilus roxburghii*. Northern Horticulture, 2015(12): 139-141. (in Chinese)
- [47] 唐德华, 崔宝禄. 蝴蝶兰外植体褐化控制的研究. 安徽农业科学, 2012, 40(3): 1294-1295.
- Tang D H, Cui B L. The research about controlling browning of *Phalaenopsis hybrid* explants. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2012, 40(3): 1294-1295. (in Chinese)
- [48] 张和. 降低蝴蝶兰组培苗褐变率的技术研究. 杨凌: 西北农林科技大学硕士学位论文, 2014.
- Zhang H. The study on reducing somaclone browning rate of butterfly orchid. Master Thesis. Yangling: Northwest A & F University, 2014. (in Chinese)
- [49] 陆祖正, 唐君海, 唐利球, 符策, 赵静. 低光照对金线莲组培苗生长的影响. 中国热带农业, 2013(2): 56-58.
- Lu Z Z, Tang J H, Tang L Q, Fu C, Zhao J. Effect of low light on seedling growth of *Anoectochilus roxburghii*. China Tropical Agriculture, 2013(2): 56-58. (in Chinese)
- [50] 郑连金, 马增强, 肖玉兰. 不同光照强度对台湾金线莲生长发育和次生代谢物合成的影响. 安徽农学通报, 2016, 22(16): 25-26.
- Zheng L J, Ma Z Q, Xiao Y L. The influence of different light intensities on the growth and development and the synthesis of secondary metabolites of *Anoectochilus formosanus*. Anhui Agricultural Science Bulletin, 2016, 22(16): 25-26. (in Chinese)
- [51] Le V T H, Tanaka M. Effects of red and blue light-emitting diodes on callus induction, callus proliferation, and protocorm-like body formation from callus in *Cymbidium* Orchid. Environmental Control in Biology, 2004, 42(1): 57-64.
- [52] Tanaka M, Watanabe T, Giang D T, Tanaka M, Takamura T, Watanabe H. Morphogenesis in the PLB segments of *Phalaenopsis cultured* under LED irradiation system. Horticultural Society, 2001, 70(S1): 58-75.
- [53] 刘敏玲. LED不同光质对金线莲生理特征及品质的影响. 福州: 福建农林大学硕士学位论文, 2013.
- Liu M L. Effect of light quality on physiological characteristics and quality of *Anoectochilus roxburghii*. Master Thesis. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2013. (in Chinese)
- [54] 周锦业, 丁国昌, 何荆洲, 曹光球, 李秀玲, 卜朝阳. 不同光质对金线莲组培苗叶绿素含量及叶绿素荧光参数的影响. 农学学报, 2015, 5(5): 67-72.
- Zhou J Y, Ding G C, He J Z, Cao G Q, Li X L, Bu C Y. Effect of quality on the growth of tissue culture chlorophyll and chlorophyll fluorescence in *Anoectochilus roxburghii*. Journal of Agriculture, 2015, 5(5): 67-72. (in Chinese)
- [55] 陈美香, 武礼宾, 曹立, 王智杰, 彭东辉, 刘春春. 光质对金线莲组培苗生长和主要化学成分的影响. 照明工程学报, 2016, 27(2): 112-117.
- Chen M X, Wu L B, Cao L, Wang Z J, Peng D H, Liu Y C. Effect of light quality on growth and main chemical composition of tissue culture in *Anoectochilus roxburghii*. China Illuminating Engineering Journal, 2016, 27(2): 112-117. (in Chinese)
- [56] 刘敏玲, 苏明华, 潘东明, 王伟. 不同LED光质对金线莲生长的影响. 亚热带植物科学, 2013(1): 46-48.
- Liu M L, Su M H, Pan D M, Wang W. The effect of different led light on the growth of *Anoectochilus roxburghii*. Subtropical Plant Science, 2013(1): 46-48. (in Chinese)
- [57] 罗远华, 黄敏玲, 林兵, 叶秀仙, 钟淮钦. 文心兰杂种胚培养研究. 福建农业学报, 2016, 31(8): 839-843.
- Luo Y H, Huang M L, Lin B, Ye X X, Zhong H Q. Embryo culture for orchid hybrid crossed between beallara marfitch and oncidium sweet sugar. Fujian Journal of Agricultural Sciences, 2016, 31(8): 839-843. (in Chinese)
- [58] Chen Z Z. Orchid Industry Development and Tissue Culture Plantlet Propagation Project, Paraguay: Extension Division, Ministry of Agriculture and Livestock; Marketing Division, Ministry of Agriculture and livestock; Agricultural Science and Tech-

- nology Research Institute (Paraguay); TaiwanICDF, 2015.
- [59] Thorpe T, Stasolla C, Yeung E C, Klerk G J M, Roberts A, George E F. The components of plant tissue culture media II: Organic additions, osmotic and pH effects, and support systems. *Plant Propagation by Tissue Culture*, 2007, 1: 65-113.
- [60] 徐玲, 陈自宏, 杨晓娜, 杨丽华. 不同有机附加物对铁皮石斛原球茎增殖和组培苗生根壮苗的影响. *云南农业大学学报(自然科学版)*, 2016(2): 250-256.
- Xu L, Chen Z H, Yang X N, Yang L H. Effect of different organic appendices on protocorm multiplication and seedlings rooting and growth-promoting of *Dendrobium officinale*. *Journal of Yunnan Agricultural University (Natural Science)*, 2016(2): 250-256. (in Chinese)
- [61] 朱萍. 福建赤壁金线莲高效繁殖与栽培技术研究. 福州: 福建农林大学硕士学位论文, 2014.
- Zhu P. Study on high efficient propagation and cultivation techniques for *Anoectochilus roxburghii* from chibi mountain in Fujian. Master Thesis. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2014. (in Chinese)
- [62] 周锐, 孔琼, 薛春丽, 高维明, 普丽波, 尹艳玲. 屏边野生金线莲组培快繁技术研究. *云南农业科技*, 2014(4): 7-10.
- Zhou R, Kong Q, Xue C L, Gao W M, Pu L B, Yin Y L. Tissue culture and rapid propagation of wild *Anoectochilus* in Pingbian. *Yunnan Agricultural Science and Technology*, 2014(4): 7-10. (in Chinese)
- [63] 刘涤, 迟静芬, 刘桂芸. 烟草愈伤组织器官发生过程中外源激素的作用. *植物生理学报*, 1986(1): 106-110.
- Liu D, Chi J F, Liu G Y. Exogenous hormone regulation in the organogenesis of tobacco callus. *Acta Phytophysiologica Sinica*, 1986(1): 106-110. (in Chinese)
- [64] 王秀红. 水稻不同外植体的组织培养能力及其内源激素分析. 雅安: 四川农业大学硕士学位论文, 2002.
- Wang X H. Tissue culture and endogenous hormone analysis of different explants in rice. Master Thesis. Ya'an: Sichuan Agricultural University, 2002. (in Chinese)
- [65] Leshem B. Polarity and responsive regions for regeneration in the cultured melon cotyledon. *Journal of Plant Physiology*, 1989, 135(2): 237-239.
- [66] Abbasi B H, Khan M, Guo B, Bokhari S A, Khan M K. Efficient regeneration and antioxidative enzyme activities in *Brassica rapa* var. *turnip*. *Plant Cell Tissue & Organ Culture*, 2011, 105(3): 337-344.
- [67] 王亚馥, 王仑山. 枸杞组织培养中形态发生的细胞组织学观察. *兰州大学学报(自然科学版)*, 1989, 25(4): 88-92.
- Wang Y F, Wang K S. Cytohistological observation of morphogenesis on tissue culture of *Lycium barbarum* L. *Journal of Lanzhou University (Natural Science)*, 1989, 25(4): 88-92. (in Chinese)
- [68] 庄东红, 杜虹. 大白菜子叶培养过程中 POD 同工酶和可溶性蛋白质含量的变化. *汕头大学学报(自然科学版)*, 2002, 17(1): 64-68.
- Zhuang D H, Du H. Changes in peroxidase isozyme activity and soluble protein content in the course of culture for cotyledon of *Brassica pekinensis*. *Journal of Shantou University (Natural Science Edition)*, 2002, 17(1): 64-68. (in Chinese)
- [69] 崔凯荣, 任红旭. 枸杞组织培养中抗氧化酶活性与体细胞胚发生相关性的研究. *兰州大学学报(自然科学版)*, 1998, 34(3): 93-99.
- Cui K R, Ren H X. The positive correlations between the activities of antioxidant enzymes and somatic embryogenesis during the period of tissue culture in *Lycium barbarum* L. *Journal of Lanzhou University (Natural Science)*, 1998, 34(3): 93-99. (in Chinese)
- [70] Meratan A A, Ghaffari S M, Niknam V. In vitro organogenesis and antioxidant enzymes activity in *Acanthophyllum sordidum*. *Biologia Plantarum*, 2009, 53(1): 5-10.
- [71] Srivastav M, Kishor A, Dahuja A, Sharma R R. Effect of paclobutrazol and salinity on ion leakage, proline content and activities of antioxidant enzymes in mango (*Mangifera indica* L.). *Scientia Horticulturae*, 2010, 125(4): 785-788.

(责任编辑 王芳)