

铁皮石斛高效快速繁殖体系研究

卢莉¹, 刘晓芳¹, Saad Abdelrahman², 王景雪¹

(1.山西大学生命科学学院, 山西太原 030006 2.新英格兰大学环境与农业学院, 澳大利亚 阿米代尔 2350)

摘要:为了建立铁皮石斛(*Dendrobium officinale*)种子高效快速繁殖体系,以铁皮石斛种子为外植体,在萌发培养基上萌发为原球茎,原球茎经悬浮培养增殖,再接种于分化培养基分化、生根长成完整植株。结果显示,原球茎增殖最佳培养基为 1/2 MS 培养基+0.1 mg/L 6-BA+0.4 mg/L NAA+0.33 g/L (NH₄)₂SO₄+0.525 g/L KNO₃+30 g/L 蔗糖,原球茎分化最佳培养基为 N6+0.1 mg/L 6-BA+0.4 mg/L NAA+100 g/L 土豆汁+25 g/L 蔗糖+6.5 g/L 琼脂+1 g/L 活性炭,幼苗生根最佳培养基为 1/2 MS+0.3 mg/L NAA+50 g/L 土豆汁+30 g/L 蔗糖+6.5 g/L 琼脂+1 g/L 活性炭,悬浮培养与固体培养相结合的技术优于固体组织培养技术,其具有生长周期短、节省空间、节约成本,促进原球茎增殖、提高分化率,促进生根的特点,可为铁皮石斛快繁和规模化生产提供基础。

关键词:铁皮石斛;快速繁殖;悬浮培养;原球茎

中图分类号:R282.21 文献标识码:A 文章编号:1002-2481(2018)06-0885-05

Study on High Efficient Propagation System in *Dendrobium officinale*

LU Li¹, LIU Xiaofang¹, SAAD Abdelrahman², WANG Jingxue¹

(1.College of Life Science, Shanxi University, Taiyuan 030006, China 2.School of Environment and Rural Science, University of New England, Armidale NSW 2350, Australia)

Abstract: To establish the rapid and efficient regeneration system in *Dendrobium officinale*, the seeds were germinated on the germination medium to induce protocorm bodies. The protocorm bodies were propagated in suspension culture and then inoculated in differentiation propagated medium to induce plantlets and grow into complete plants. The results showed that the highest efficiency protocorm bodies inducing medium was 1/2 MS medium+0.1 mg/L 6-BA+0.4 mg/L NAA+0.33 g/L (NH₄)₂SO₄+0.525 g/L KNO₃+30 g/L sucrose. The highest efficiency propagated medium was N6+0.1 mg/L 6-BA+0.4 mg/L NAA+100 g/L potato juice+25 g/L sucrose+6.5 g/L agar+1 g/L activated carbon. The highest efficiency rooting medium was 1/2 MS+0.3 mg/L NAA+50 g/L potato juice+30 g/L sucrose+6.5 g/L agar+1 g/L activated carbon. Also, the combination of suspension culture and solid culture technology is superior to solid tissue culture technology, with the characteristics of short growth cycle, space saving, cost saving, promoting protocorm proliferation, increasing propagation rate and promoting rooting. It can provide the basis for large scale production in *Dendrobium officinale*.

Key words: *Dendrobium officinale*; rapid propagation; suspension culture; protocorm

铁皮石斛为我国古老的中药材,在《神农本草经》、《本草纲目》、《中药大词典》等书籍中都有记载,以茎入药,具有益胃生津、延年益寿、滋阴、明目等功效,被国际药用植物界称为“药界大熊猫”^[1]。铁皮石斛植株内有许多生物活性成分,大分子包括凝集素、细胞分裂素氧化酶、生物碱和多糖,其中,石斛多糖有免疫调节的作用^[2]。生物碱有抗氧化、抗癌和神经保护的作用;其他化合物也具有抗氧化、抗癌和免疫调节的作用^[3-4]。随着现代科技的进步,铁皮石斛被越来越多的学者所研究,研究其中的有效成分及其发挥药性的基因。市场上的相关产品多种

多样,有干制品“铁皮枫斗”,有新鲜的石斛茎条,也有铁皮石斛和其他中药按一定比例制成的保健品。铁皮石斛自然繁殖率较低,而且由于生活环境缺失、农业的过度开发、城市化、过度采集以及医药的使用等原因^[5-6],导致野生铁皮石斛每年的产量非常少。目前,野生铁皮石斛资源接近濒危,组培苗移栽田间往往存在成活率低的问题。另外,移栽苗对栽培环境和管理技术要求较高,栽培基质对铁皮石斛移栽的成活率和生长繁殖影响很大^[7],而且要求在田间生长的时间较长,因此,利用悬浮培养方法培养铁皮石斛原球茎,可为铁皮石斛产品提供新的原

材料^[8]。

常规的铁皮石斛组织培养体系是采用固体培养的方式进行培养,该培养方式具有简便、容易操作、不易污染等优点,但是也存在生长较慢、培养设施占地空间较大等弊端。而石斛原球茎悬浮培养具有生长周期短、效率高、成本低等优点,是解决石斛增殖效率低的有效途径之一,也是近几年研究的热点^[9]。史俊等^[10]选用 15 种液体培养液对铁皮石斛种子悬浮培养最适培养基进行了筛选,得到的最佳悬浮培养基为:1/2 MS+0.5 mg/L NAA+80 g/L 土豆汁+45 g/L 蔗糖。研究发现,相对较低的无机盐浓度对种子的萌发有较显著的影响,低浓度的 NAA,不添加 6-BA 有利于原球茎的形成,不添加激素也可以诱导出原球茎。贾炜琮等^[11]探讨康乃馨、菊花快速繁殖的培养基激素组成时发现,低浓度的 6-BA 和适当浓度的 NAA 可以有效促进幼苗分化且移栽成活率较高。

本试验旨在研究一种结合悬浮培养和固体培养 2 种方式优化铁皮石斛快速繁殖的技术,以缩短铁皮石斛种子诱导原球茎到再生植株成苗的组织培养周期,为铁皮石斛种苗工业化生产提供理论和技术参考。

1 材料和方法

1.1 材料

试验所用种子是山西大学生命科学学院植物学实验室铁皮石斛人工授粉所得。

1.2 方法

固体培养条件 接种后的培养基放置在组培室内,温度 25℃左右,光照强度 1 500 lx,光照时间为 12 h/d。

悬浮培养条件:接种后的培养基放在摇床内,转速 110 r/min,温度 25℃左右,光照强度 1 500 lx,光照时间为 12 h/d。

1.2.1 铁皮石斛种子萌发 取人工授粉后、成熟保持新鲜且尚未开裂的蒴果(图 1-A),先冲洗干净,再用 75%的酒精、0.1% HgCl₂ 消毒,然后用无菌水冲洗,无菌滤纸吸干水分^[12],接种于 MS 培养基上。将接种好的种子置于植物组培室进行无菌培养。

1.2.2 铁皮石斛原球茎悬浮培养 以 30 g/L 蔗糖为基础,采用正交设计方案,确定了 4 个试验因素:基本培养基、(NH₄)₂SO₄ 与 KNO₃ 的质量比、细胞分裂素 6-BA、生长素 NAA,基本培养基为花宝一号^[13]、N6 和 1/2 MS 共 3 个水平,(NH₄)₂SO₄ 与 KNO₃ 的质

量比分别设 0.33 g/L:0.525 g/L:0.99 g/L:1.515 g/L,1.65 g/L:0.505 g/L 共 3 个水平,细胞分裂素 6-BA 为 0.1、0.3、0.5 mg/L 共 3 个水平,生长素 NAA 为 0.4、0.6、0.8 mg/L 共 3 个水平,采用 L₉(4³)正交表,进行 4 因素 3 水平正交试验,共 9 个处理。称取 0.1 g 原球茎接种于 30 mL 液体培养基中,培养 30 d,每个处理接种 5 瓶,重复 3 次,每处理共 15 瓶。接种后的培养基放入摇床内,30 d 后统计原球茎的鲜质量和长势。

1.2.3 铁皮石斛原球茎分化 以 25 g/L 蔗糖+6.5 g/L 琼脂+1 g/L 活性炭为基础,采用正交设计方案,确定了 4 个试验因素:基本培养基、细胞分裂素 6-BA、生长素 NAA、土豆汁,基本培养基为 1/2 MS、N6、Kc 共 3 个水平,细胞分裂素 6-BA 为 0.1、0.2、0.3 mg/L 共 3 个水平,生长素 NAA 为 0.2、0.4、0.6 mg/L 共 3 个水平,土豆汁为 50、75、100 g/L 共 3 个水平,采用 L₉(4³)正交表,进行 4 因素 3 水平正交试验,共 16 个处理。取悬浮培养 30 d 后的原球茎,用镊子将其轻轻移入固体培养基中,每瓶移入 6 个,每个处理接种 6 瓶,重复 3 次,每处理共 18 瓶。接种后的培养基标号放入组培室内,60 d 后统计原球茎的鲜质量。

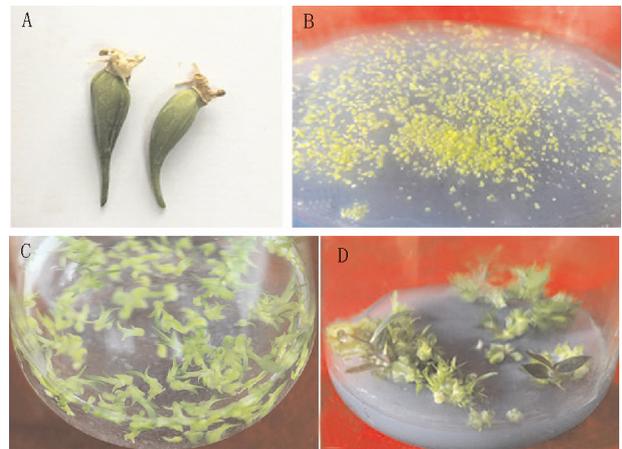
1.3 数据处理

统计结果在 Excel 上处理计算,先用 Graphpad prism 软件进行方差分析,然后进行多重比较。

增殖率=(收获鲜质量-接种鲜质量)/接种鲜质量×100% (1)

2 结果与分析

2.1 铁皮石斛种子萌发



A. 蒴果; B. 种子诱导的原球茎; C. 铁皮石斛原球茎的液体培养; D. 铁皮石斛液体培养后在固体培养基上的分化、生根

图1 铁皮石斛快繁过程

按 1.2.1 所述方法,用铁皮石斛的种子诱导原

球茎。铁皮石斛种子接种于不添加任何植物激素的培养基里萌发,结果发现,15 d 后种子膨大、发绿,30 d 后测其直径为 0.473 ~ 0.523 mm(图 1- B)。

2.2 铁皮石斛原球茎悬浮培养

将铁皮石斛种子固体培养 30 d 后所得的原球茎接种于液体培养基中增殖,研究基本培养基、细胞分裂素 6- BA、生长素 NAA 和 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 与 KNO_3 的质量比对原球茎增殖的影响(表 1 2)。铁皮石斛原球茎在液体培养基中培养 30 d 后的生长情况如图 1- C 所示,原球茎分化程度高,增殖效率高,但颜

色有些发白。由表 1 可知 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 与 KNO_3 的质量比为 0.33 g/L : 0.525 g/L 时在悬浮培养原球茎试验中占主要位置,4 个因素对原球茎增殖率的影响大小顺序为 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$: KNO_3 > 基本培养基 > 细胞分裂素 6- BA > 生长素 NAA。采用方差分析进一步验证得出(表 2) $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 与 KNO_3 质量比的 F 值最大,达到极显著水平,说明 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 与 KNO_3 的质量比在原球茎增殖中影响最大,基本培养基也达到极显著水平,影响力次之。

表 1 铁皮石斛原球茎悬浮培养正交试验结果

处理	因素				增殖率 /%	生长状况	
	基本培养基(A)	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$: KNO_3 (B)	6- BA/(mg/L)(C)	NAA/(mg/L)(D)			
C1	1/2 MS	0.33 : 0.525	0.1	0.4	6.73	原球茎为翠绿色,生长状况很好	
C2	1/2 MS	0.99 : 1.515	0.3	0.6	3.15	原球茎为翠绿色,大部分变白,生长状况不好	
C3	1/2 MS	1.65 : 0.505	0.5	0.8	5.05	原球茎为翠绿色,少部分变白,生长状况较好	
C4	N6	0.33 : 0.525	0.3	0.8	5.13	原球茎为翠绿色,少部分变白,生长状况较好	
C5	N6	0.99 : 1.515	0.5	0.4	1.77	原球茎为翠绿色,大部分变白,生长状况较差	
C6	N6	1.65 : 0.505	0.1	0.6	4.45	原球茎为翠绿色,少部分变白,生长状况较好	
C7	花宝一号	0.33 : 0.525	0.5	0.6	6.02	原球茎为翠绿色,少部分变白,生长状况很好	
C8	花宝一号	0.99 : 1.515	0.1	0.8	2.43	原球茎为翠绿色,大部分变白,生长状况较差	
C9	花宝一号	1.65 : 0.505	0.3	0.4	4.67	原球茎为翠绿色,少部分变白,生长状况较好	
k1	4.978	5.961	4.539	4.389			
k2	3.783	2.450	4.317	4.539			
k3	4.372	4.722	4.278	4.206			
R	1.195	3.511	0.261	0.183			
主次顺序		B>A>C>D					

表 2 铁皮石斛原球茎悬浮培养方差分析结果

变异来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
基本培养基	6.421	2	3.210	9.008	0.002**
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 与 KNO_3 的质量比	57.077	2	28.539	80.077	0.000**
6- BA	0.357	2	0.179	0.501	0.614
NAA	0.502	2	0.251	0.704	0.508
误差	6.415	18	0.356		
总和	588.225	27			

注:*表示 $P < 0.05$,**表示 $P < 0.01$ 。表 4 同。

2.3 铁皮石斛原球茎分化

将液体培养 30 d 后的原球茎接种到固体培养基上,研究基本培养基、细胞分裂素 6- BA、生长素 NAA、土豆对原球茎分化的影响。培养 60 d 后统计原球茎的鲜质量,其结果如表 3 所示。

铁皮石斛原球茎悬浮培养后在固体培养基上生长 60 d,最优鲜质量为 4.07 g,大部分幼苗有分化现象,长势良好(图 1- D)。

从表 3,4 可以看出,试验中 4 个因素对幼苗鲜质量影响的主次顺序为:细胞分裂素 6- BA > 基本培养基 > 生长素 NAA > 土豆,细胞分裂素 6- BA 和基本培养基都达到了极显著水平,在幼苗生长过

程中影响很大;生长素 NAA 达到了显著水平,影响力次之;有机添加剂土豆对于幼苗生长的影响力较弱。

对试验中各因素各水平之间的平均数进行多重比较,以分析确定哪 2 个水平之间的差异显著,结果列于表 5。

由表 5 可知,基本培养基中 Kc 培养基的原球茎鲜质量与 N6 培养基处理间有显著性差异;细胞分裂素 6- BA 浓度为 0.1 mg/L 的原球茎鲜质量与 0.2,0.3 mg/L 处理间有显著性差异;生长素 NAA 的浓度为 0.6 mg/L 的原球茎鲜质量与 0.2 mg/L 的处理间差异显著性达到 0.05 水平。

表 3 铁皮石斛原球茎悬浮培养之后的固体培养正交试验结果

处理	因素				鲜质量/g
	基本培养基(A)	细胞分裂素 6-BA/(mg/L)(B)	生长素 NAA/(mg/L)(C)	土豆汁/(g/L)(D)	
E1	1/2 MS	0.1	0.2	50	3.21
E2	1/2 MS	0.2	0.4	75	2.54
E3	1/2 MS	0.3	0.6	100	2.60
E4	N6	0.1	0.4	100	4.07
E5	N6	0.2	0.6	50	3.76
E6	N6	0.3	0.2	75	2.73
E7	Kc	0.1	0.6	75	3.82
E8	Kc	0.2	0.2	100	1.23
E9	Kc	0.3	0.4	50	2.10
鲜质量 k1	2.782	3.700	2.389	3.024	
鲜质量 k2	3.522	2.510	2.904	3.032	
鲜质量 k3	2.384	2.479	3.396	2.632	
R	1.168	1.221	1.007	0.400	
主次顺序			B>A>C>D		

表 4 铁皮石斛原球茎悬浮培养之后的固体培养方差分析试验结果

评价指标	变异来源	平方和	自由度	均方	F 值	P 值
鲜质量	基本培养基	6.001	2	3.001	6.559	0.007**
	6-BA	8.725	2	4.362	9.536	0.002**
	NAA	4.561	2	2.281	4.985	0.019*
	土豆汁	0.942	2	0.471	1.029	0.337
	误差	8.234	18	0.457		
	总和	254.953	27			

表 5 各因素各水平之间平均数多重比较的结果

基本培养基	原球茎鲜质量/g	显著性分析	6-BA/(mg/L)	原球茎鲜质量/g	显著性分析	NAA/(mg/L)	原球茎鲜质量/g	显著性分析
Kc	3.52	a	0.1	3.7	a	0.6	3.39	a
1/2 MS	2.78	ab	0.2	2.51	b	0.4	2.90	ab
N6	2.38	b	0.3	2.48	b	0.2	2.39	b

注:不同小写字母表示在 0.05 水平差异显著。

经研究,筛选出铁皮石斛不同生长阶段最佳繁殖体系如表 6 所示。

表 6 铁皮石斛原球茎最佳繁殖体系

生长阶段	培养基主要成分
种子萌发	MS+25 g/L 蔗糖+6.5 g/L 琼脂+1 g/L 活性炭
原球茎增殖	1/2 MS+0.1 mg/L 6-BA+0.4 mg/L NAA+0.33 g/L (NH ₄) ₂ SO ₄ :0.525 g/L KNO ₃ +30 g/L 蔗糖
原球茎分化	N6+0.1 mg/L 6-BA+0.4 mg/L NAA+100 g/L 土豆汁+25 g/L 蔗糖+6.5 g/L 琼脂+1 g/L 活性炭
幼苗生根	1/2 MS+0.3 mg/L NAA+50 g/L 土豆汁+30 g/L 蔗糖+6.5 g/L 琼脂+1 g/L 活性炭

3 讨论

徐玲等^[4]用不同有机附加物组合对铁皮石斛原球茎鲜质量增殖进行研究,结果表明,在培养 60 d 后,原球茎鲜质量增殖最高的培养基是 MS+0.5 mg/L NAA+1 mg/L 6-BA+100 g/L 土豆汁+100 g/L 小麦面粉+20 g/L 蔗糖+6 g/L 琼脂+0.5 g/L 活性炭,鲜质量是不添加有机附加物对照的 5.35 倍。本试验中原球茎增殖采用悬浮培养,优化出的最佳培养基为 1/2 MS+0.4 mg/L NAA+0.1 mg/L 6-BA+0.33 g/L (NH₄)₂SO₄:0.525 g/L KNO₃+30 g/L

蔗糖,在培养 30 d,原球茎鲜质量平均增殖率为 6.73%。侯丕勇等^[15]用不同激素对悬浮培养的铁皮石斛原球茎在固体培养基上生长和分化进行研究,结果得出,NAA 对原球茎的分化作用较好,与本试验得出的结论生长素 NAA 对悬浮培养后原球茎增殖分化长成幼苗的影响中达到了显著水平的结果一致。

本研究结果表明,以种子为外植体,在固体培养基萌发、液体培养基增殖、再接种到固体培养基分化生根的体系,具有促进原球茎增殖、大大增加

(下转第 909 页)

- 园产量与品质的影响[J].西北农林科技大学学报(自然科学版) 2010, 38(4):133-137,142.
- [8] COHEN S, FUCHS M. The distribution of leaf area, radiation, photosynthesis and transpiration in a Shamouti orange hedgerow orchard. Part I. Leaf area radiation [J]. Agricultural and Forest Meteorology, 1987, 40:123-144.
- [9] ASADA T, ARAKAWA O. The analysis of light interception and leaf area index (LAI) in central Leader 'Fuji/M26' and 'Jonagold/26' apple orchards producing high yields and quality fruit [J]. Acta Horticulturae Sinica, 2000, 525:421-423.
- [10] GREEN S R, GREER D H, WUNSCH J N, et al. Measurements of light interception and utilization in apple orchard[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2001, 557:369-376.
- [11] 郭延平, 宋丽丽, 徐凯, 等. 温州蜜柑叶片光系统反应中心光能分配的变化[J]. 应用生态学报, 2004, 15(11):2087-2090.
- [12] EILERS P H C, PEETERS J C H. A model for the relationship between light intensity and the rate of photosynthesis in phytoplankton[J]. Ecological Modelling, 1998, 42:199-215.
- [13] TSIMILLI-MICHAEL M, STRASSER R J. Experimental resolution and theoretical complexity determine the amount of information extractable from the chlorophyll fluorescence transient OJIP[J]. Information Extractable from the Chlorophyll Fluorescence Transient OJIP, 2008, 1:697-701.
- [14] 牛自勉, 张文和, 王建新. 苹果开心树形叶幕太阳辐射吸收规律研究[J]. 华北农学报, 2009, 24(4):212-217.
- [15] 牛自勉, 蔚露, 张文和. 开心树形叶幕结构对苹果园地面太阳辐射的影响[J]. 山西农业科学, 2012, 40(11):1164-1168.
- [16] 魏钦平, 鲁韧强, 张显川, 等. 富士苹果高干开心形光照分布与产量品质的关系研究[J]. 园艺学报, 2004, 31(3):291-296.
- [17] CHEN L S, CHENG L. Photosystem is more tolerant to high temperature in apple (*Malus domestica* Borkh.) leaves than in fruit peel[J]. Photosynthetica, 2009, 47:112-120.
- [18] 孙永平, 汪良驹. ALA 处理对遮荫下西瓜幼苗叶绿素荧光参数的影响[J]. 园艺学报, 2007, 34(4):901-908.
- [19] 韩炜, 徐新文, 李利, 等. 白榆 (*Ulmus pumila* L.) 光驯化后的快速光曲线变化特征[J]. 干旱区研究, 2010, 27(5):738-744.
- [20] 李培环, 吴军帅, 董晓颖, 等. 苹果密闭园不同间伐方式对光照、光合和生长结果的影响[J]. 中国农业科学, 2012, 45(11):2217-2223.
- [21] BEER S, VILENKIN B, WEIL A, et al. Measuring photosynthetic rates in seagrasses by pulse amplitude modulated (PAM) fluorometry[J]. Marine Ecology Progress Series, 1998, 174:293-300.
- [22] 李鹏民, 高辉远, STRASSER R J. 快速叶绿素荧光诱导动力学分析在光合作用研究中的应用 [J]. 植物生理与分子生物学学报, 2005, 31(6):559-566.

(上接第 888 页)

原球茎分化率、缩短组培时间、节省生产空间、节约成本、生根率较高(达 90.1%)等特点, 适合大规模推广。

参考文献:

- [1] 戴小英, 张淑霞, 周莉荫, 等. 铁皮石斛不同外植体组培快繁技术比较研究[J]. 中国农学通报, 2011, 27(10):122-126.
- [2] 钱铸锴, 张传清, 周根, 等. 铁皮石斛灰霉病多菌灵高抗菌株的 LAMP 快速检测体系的建立 [J]. 华北农学报, 2016, 31(Z1):438-442.
- [3] NG T B, LIU J Y, WONG J H, et al. Review of research on *Dendrobium*, a prized folk medicine[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2012, 93(5):1795-1803.
- [4] 王增利, 史昊, 张宗申. 铁皮石斛原球茎悬浮培养及其多糖积累的研究[J]. 河南农业科学, 2012, 41(2):129-131.
- [5] TEIXEIRA D S J, TSAVKELOVA E A, NGT B, et al. Asymbiotic in vitro seed propagation of *Dendrobium* [J]. Plant Cell Rep, 2015, 34(10):1685-1706.
- [6] ZHAO P, WU F, FENG F, et al. Protocorm-like body (PLB) formation and plant regeneration from the callus culture of *Dendrobium candidum* Wall ex Lindl[J]. In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant, 2008, 44(3):178-185.
- [7] 刘太林, 孙苗苗, 马仲强, 等. 铁皮石斛组培苗移栽条件的筛选 [J]. 天津农业科学, 2017, 23(8):28-31.
- [8] 王洪秋, 朴炫春, 蒋晓龙, 等. 促进铁皮石斛原球茎中多糖和生物碱积累的研究[J]. 北方园艺, 2017(15):117-123.
- [9] 张小娟, 卓孝康, 胡庆林, 等. 大包鞘石斛原球茎悬浮培养研究 [J]. 中国园艺文摘, 2016(11):5-8.
- [10] 史俊, 赵荣. 铁皮石斛种子液体悬浮培养的研究[J]. 安徽农业科学, 2012, 40(2):727-728.
- [11] 贾炜琰, 周小梅, 康乃馨. 菊花快速繁殖有效苗探讨[J]. 山西农业科学, 1997, 25(4):63-67.
- [12] 任海虹, 王景雪, 聂菁. 铁皮石斛原球茎高效再生体系的研究 [J]. 中草药, 2017, 48(19):4057-4061.
- [13] 聂菁, 刘丽凤, 王景雪, 等. 蝴蝶兰类原球茎诱导、增殖及植株再生条件初步研究[J]. 山西大学学报(自然科学版), 2016, 39(2):318-324.
- [14] 徐玲, 陈自宏, 杨晓娜, 等. 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[J]. 云南农业大学学报(自然科学), 2016, 30(2):250-256.
- [15] 侯丕勇, 郭顺星. 悬浮培养的铁皮石斛原球茎在固体培养基上生长和分化的研究[J]. 中国中药杂志, 2005, 30(10):729-732.