

文献著录格式: 余水生, 付双彬, 郑英茂, 等. 梵净山石斛无菌播种及快繁技术 [J]. 浙江农业科学, 2018, 59 (8): 1334-1336, 1346.
DOI: 10.16178/j.issn.0528-9017.20180802

梵净山石斛无菌播种及快繁技术

余水生¹, 付双彬², 郑英茂¹, 李成惠¹, 程筵寿³, 杨燕萍^{2*}

(1. 浙江九龙山国家级自然保护区管理局, 浙江 遂昌 323300; 2. 浙江省亚热带作物研究所, 浙江 温州 325005;
3. 遂昌县林业局, 浙江 遂昌 323300)

摘要: 以梵净山石斛成熟的蒴果为外植体, 研究不同培养基、激素浓度处理对梵净山石斛种子萌发、原球茎增殖、不定芽分化与生根的影响。结果表明, 梵净山石斛无菌播种最佳的培养基为 KN + 6-BA 0.5 mg · L⁻¹ + NAA 0.5 mg · L⁻¹ + 10% CM + AC 1.0 g · L⁻¹, 萌发率达到 95.5%; 原球茎增殖最优培养基为 B5 + 6-BA 1.0 mg · L⁻¹ + NAA 0.1 mg · L⁻¹ + AC 0.5 g · L⁻¹; 筛选出不定芽分化最适培养基为 1/2MS + 6-BA 0.5 mg · L⁻¹ + NAA 0.2 mg · L⁻¹ + 10% 土豆泥 + AC 2.0 g · L⁻¹, 不定芽增殖最适培养基为 1/2MS + 6-BA 2.0 mg · L⁻¹ + NAA 0.2 mg · L⁻¹ + 10% 土豆泥 + AC 2.0 g · L⁻¹; 小苗生根适宜的培养基为 1/2MS + NAA 0.5 mg · L⁻¹ + 10% 土豆泥 + AC 2.0 g · L⁻¹。

关键词: 梵净山石斛; 种子萌发; 继代增殖; 组织培养

中图分类号: S567 文献标志码: B 文章编号: 0528-9017(2018)08-1334-03

梵净山石斛 (*Dendrobium fanjingshanense*) 为兰科石斛属多年生草本植物, 是 2001 年在贵州省梵净山黑湾河海拔 800 ~ 1 500 m 处发现的一个新种^[1]。自发现之时起, 一直被认为是贵州特有药用植物之一^[2]。直到 2010 年, 叶喜阳等^[3]在浙江九龙山国家级自然保护区内也发现了梵净山石斛的分布。九龙山国家级自然保护区是目前浙江省唯一一处记载梵净山石斛分布的区域。梵净山石斛是一种珍稀名贵的中草药, 性味甘淡微咸, 寒, 归胃、肾, 主要用于治疗口干、烦渴、热病伤津、肺热干咳、腰膝软弱、阴伤目暗等病症^[4]。另外, 其花黄褐色或橙黄色, 也可作观赏植物, 具有较高的观赏价值。因而导致了大规模的采挖和频繁发生非法出口, 目前正面临着濒危的状态, 然而靠传统的分株繁殖方式, 很难起到保育作用。由于梵净山石斛种子微小, 胚胎发育不完全, 在自然条件下种子通常要与真菌共生才能萌发, 造成其种子发芽极为困难。因此采用无菌播种技术为梵净山石斛快速繁殖及开发利用提供技术服务。

1 材料与方法

1.1 材料

收稿日期: 2018-06-22

基金项目: 浙江省公益研究计划 (LGN18C160003); 浙江省林业极小种群保护项目 (浙财农〔2014〕143 号); 遂昌县科技重点项目 (遂科发〔2016〕5 号)

作者简介: 余水生 (1974—), 男, 浙江遂昌人, 工程师, 从事自然资源保护和研究推广工作, E-mail: schhc@sina.com。

通信作者: 杨燕萍, 从事兰科及木本植物的研究和开发工作, E-mail: 47496850@qq.com。

以梵净山石斛开花 2 d 后进行自交授粉 120 d 的蒴果为试验材料。

1.2 方法

1.2.1 外植体消毒灭菌

将梵净山石斛的蒴果用流水冲洗 2 h 后, 在超净工作台上用质量分数 75% 的酒精浸泡 30 s, 然后用无菌水冲洗 3 次, 再用质量分数 0.1% HgCl₂ 消毒 10 ~ 12 min, 最后用无菌水冲洗 5 次。

1.2.2 种子萌发培养基的选择

将处理好的蒴果放在无菌操作台上的培养皿中, 先切除两端 (0.5 cm), 然后把蒴果切开, 均匀地洒在 MS、1/2MS、B5、KN 和花宝 1 号培养基中, 附加 6-BA 和 NAA 各 0.5 mg · L⁻¹, 以及 10% 椰汁 (CM), 活性炭 (AC) 含量为 1.0 g · L⁻¹, 蔗糖质量浓度为 30 g · L⁻¹, 琼脂为 6.8 g · L⁻¹。随时观察萌发情况, 60 d 后统计萌发率和生长情况。

1.2.3 原球茎增殖培养基筛选

将萌发培养基上的原球茎转入到增殖培养基上, 采用 L₁₆ (4⁵) 的正交试验设计设置不同基本培养基 (1/2MS、KC、B5、VW)、6-BA 浓度 (1.0、2.0、3.0、4.0 mg · L⁻¹)、NAA 浓度 (0、

0.1、0.5、1.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)、AC 含量 (0、0.5、1.0、2.0 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) 等 4 个因素对梵净山石斛增殖的影响, 40 d 后统计增重并计算增殖倍数。

1.2.4 原球茎分化与丛生芽增殖

将增殖的原球茎转接入基本培养基 1/2MS 中, 添加 6-BA 浓度 (0.1、0.5、1.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 和生长素 NAA 浓度 (0.1、0.2、0.5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 组合的芽诱导培养基, 培养基中 AC 含量为 2 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、蔗糖质量浓度 30 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、琼脂 6.8 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, 每个组合培养基为 10 瓶, 每瓶 10 个原球茎, 30 d 后统计分化芽数及生长情况, 60 d 后统计丛生芽数并计算增殖系数。

1.2.5 生根诱导

待丛生芽长至 2 cm 高时转接入 1/2MS 培养基, 分别添加不同浓度的 NAA (0.5、1.0、2.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 和 IBA (0.2、0.5、1.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 到生根诱导培养基中, AC 含量为 2 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, 蔗糖质量浓度为 30 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, 琼脂 7.7 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。每个组合培养基为 10 瓶, 每瓶 2~3 个分化小芽, 每隔 3~4 d 观察培养基中的情况, 30 d 后统计生根率、观察根系生长状况。

1.2.6 培养条件

培养室环境的温度为 (22 ± 2) $^{\circ}\text{C}$, 光照强度

为 2 000 lx, 日光照射时间为 12 h。

2 结果与分析

2.1 种子萌发

将梵净山石斛的种子接到为 MS、1/2MS、KN、B5、花宝 1 号及附加 BA、NAA 浓度为 0.5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的萌发培养基上, 观察种胚萌发率和生长差异较大。种子接入培养基 20 d 后, 在培养基 KN + 6-BA 0.5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA 0.5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + 10% CM + AC 2.0 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 上可见到白色圆球茎; 60 d 后, 原球茎由白转绿, 出现芽苗。

由表 1 可见, 供试种子在不同培养基上萌发程度不同。以 KN + 6-BA 0.5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA 0.5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + 10% CM + AC 1.0 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 培养基上效果最优, 萌发率可达 95.5%; 在培养基 B5 + 6-BA 0.5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA 0.5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + 10% CM + AC 1.0 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 中萌发效果差, 萌发率仅有 85.6%; 在花宝 1 号 + 6-BA 0.5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA 0.5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + 10% CM + AC 1.0 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 培养基中, 萌发率可达 93.3%, 可见培养基的盐分组合与盐浓度是影响种子萌发的因素之一, 不同的盐分组合与高浓度盐成分可能会抑制梵净山种子萌发, 在培养基中附加椰汁与活性炭有助于种子的萌发。

表 1 不同培养基对种子萌发的影响

处理	基本培养基	萌发率/%	萌发状况
T _{A1}	1/2MS + 10% CM + AC 1.0 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	90.7	种子萌发成颗粒状 (++)
T _{A2}	MS + 10% CM + AC 1.0 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	89.1	萌发原球茎少 (+)
T _{A3}	KN + 10% CM + AC 1.0 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	95.5	种子萌发多成团状 (+++)
T _{A4}	花宝 1 号 + 10% CM + AC 1.0 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	93.3	种子萌发成原球茎少 (+)
T _{A5}	B5 + 10% CM + AC 1.0 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	85.6	种子萌发成颗粒状 (++)

注: (+) 表示原球茎少, (++) 表示原球茎较多, (+++) 表示原球茎多。

2.2 原球茎增殖

不同基本培养基、植物激素的种类与配比浓度及添加物共同使用对原球茎增殖有重要作用。由表 2 可知, 在极差分析中, 培养基类型对原球茎增殖影响最大, 其次是 AC 含量。由此可见, 各因素对梵净山石斛原球茎增殖的影响程度依次是培养基类型 > AC 含量 > 6-BA > NAA。根据 K 值大小及培养基类型, 6-BA 和 NAA 浓度, 以及 AC 含量各因素水平间的比较, 得出原球茎增殖的最优培养基为 B5 + 6-BA 1.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA 0.1 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + AC 0.5 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

2.3 丛生芽分化与增殖

将增殖后的原球茎转接到培养基 C1~C9 中, 诱导不定芽分化与增殖。表 3 结果表明, 最适合梵净山石斛不定芽分化的培养基为 1/2MS + 6-BA

0.5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA 0.2 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + 10% 土豆泥 + AC 2.0 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, 分化芽数达 1.6 个, 随着 6-BA 浓度的升高, 不定芽的分化呈下降趋势, 说明低浓度的 6-BA 对不定芽的分化有促进作用。不定芽增殖培养基为 1/2MS + 6-BA 2.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA 0.2 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + 10% 土豆泥 + AC 2.0 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, 而随着 6-BA 浓度的升高, NAA 浓度的降低, 不定芽增殖系数呈上升趋势。

2.4 生根诱导

待丛生芽长至 2 cm 高时转接入 1/2MS 培养基, 附加 10% 土豆泥, AC 含量 2.0 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。在此基础培养基上, 添加不同浓度的生长素 NAA 或 IBA 的生根诱导培养基 (D1~D6)。培养 30 d 后发现, 在茎基部开始长出较细的不定根, 约 2 个

表2 不同培养基对原球茎增殖的影响

处理	培养基	NAA/ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	6-BA/ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	AC/ ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)	增殖 倍数
T _{B1}	1/2MS	0	1.0	0	1.9±0.3
T _{B2}	1/2MS	0.1	2.0	0.5	6.6±0.7
T _{B3}	1/2MS	0.5	3.0	1.0	4.4±0.3
T _{B4}	1/2MS	1.0	4.0	2.0	1.8±0.1
T _{B5}	KC	0	2.0	1.0	1.9±0.0
T _{B6}	KC	0.1	1.0	2.0	8.1±0.8
T _{B7}	KC	0.5	4.0	0	0.3±0.2
T _{B8}	KC	1.0	3.0	0.5	5.6±0.2
T _{B9}	B5	0	3.0	2.0	8.0±1.2
T _{B10}	B5	0.1	4.0	1.0	5.3±2.5
T _{B11}	B5	0.5	1.0	0.5	6.9±1.0
T _{B12}	B5	1.0	2.0	0	6.7±1.0
T _{B13}	VW	0	4.0	0.5	2.1±0.4
T _{B14}	VW	0.1	3.0	0	0.5±0.1
T _{B15}	VW	0.5	2.0	2.0	2.3±1.0
T _{B16}	VW	1.0	1.0	1.0	2.2±0.3
K ₁	3.7	3.5	4.8	2.4	
K ₂	4.0	5.1	4.4	5.3	
K ₃	6.7	3.5	4.6	3.4	
K ₄	1.8	4.1	2.4	5.1	
R	4.9	1.6	2.4	2.9	

表3 不同浓度的 BA、NAA 对不定芽分化与增殖的影响

培养基	6-BA/ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	NAA/ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	分化不定芽 个数	不定芽 增殖系数
T _{C1}	0.5	0.1	1.5	5.9
T _{C2}	0.5	0.2	1.6	5.2
T _{C3}	0.5	0.5	1.3	4.6
T _{C4}	1.0	0.1	1.3	7.6
T _{C5}	1.0	0.2	1.3	7.2
T _{C6}	1.0	0.5	1.2	7.0
T _{C7}	2.0	0.1	1.2	9.2
T _{C8}	2.0	0.2	1.2	8.8
T _{C9}	2.0	0.5	0.9	8.2

月后即可获得根系发达, 生长旺盛的完整植株(表4)。

表4 不同浓度 NAA、IBA 对不定芽生根诱导的影响

培养基	NAA/ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	IBA/ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	平均 生根数	生根率/ %	根系 特征
T _{D1}	0.5	0	2.3	98.2	根长, 侧根多
T _{D2}	1.0	0	2.1	96.7	根短, 长
T _{D3}	2.0	0	2.0	90.5	根细, 少
T _{D4}	0	0.2	1.7	85.9	根长, 细
T _{D5}	0	0.5	1.8	86.1	根细, 少
T _{D6}	0	1.0	2.0	92.3	根长, 细

选用不同的生长素种类与浓度因不同植物而定, 只有满足植物生根所需的激素浓度与配比, 才

能提高生根率和成活率。在各激素处理中, 以 NAA 低浓度 ($0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 处理对梵净山石斛的生根效果最好; 而 IBA 浓度 ($0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 处理对梵净山石斛苗生根生长的效果最差。说明高浓度 NAA 不利于梵净山石斛的生根, 因此在梵净山石斛生根过程中添加 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA 是较适宜的, 附加土豆泥和活性炭对组培苗生根有促进作用。

3 小结与讨论

梵净山石斛由于具有较高的观赏价值与经济价值, 因而广受欢迎。目前采用无菌播种方法生产种苗是解决种苗短缺一种快速有效的途径。由于无菌播种生产的种苗后代不一致, 稳定性差, 因此在采用无菌播种进行梵净山种苗生产时, 要对父母本进行严格选择, 以确保后代性状尽可能一致。

梵净山石斛在组培中对激素种类、浓度和营养状况的要求较高, 适宜的激素配比可大大提高梵净山石斛的快速繁殖能力。基本培养基、植物激素的种类与配比浓度及添加物组合使用对梵净山石斛组织培养过程中种子萌发、原球茎诱导、增殖、不定芽分化与增殖以及生根诱导等方面产生重要的影响^[6-10]。在种子萌发阶段, KN 基本培养基无机盐含量较低, 能满足种子萌发所需的矿物营养, 而高浓度的矿物营养会影响种子萌发, 故采用 KN + 6-BA $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + 10% CM + AC $1.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 培养基效果较为理想, 种子萌发率可达 95.5%, 且萌发多成团状。在原球茎增殖阶段, 培养基类型对原球茎增殖影响最大, 其次是 AC 含量。由此可见, 各因素对梵净山石斛原球茎增殖的影响程度依次是培养基类型 > AC 含量 > 6-BA > NAA, 得出较优培养基为 B5 + 6-BA $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + AC $0.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$; 在不定芽分化与增殖培养中, 6-BA 浓度对梵净山石斛原球茎分化与不定芽增殖也有重要的影响, 其中以低浓度 6-BA 对不定芽的分化有促进作用, 而不定芽的增殖随着 6-BA 浓度的升高增殖系数呈上升趋势, 因此筛选出 1/2MS + 6-BA $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + 10% 土豆泥 + AC $2.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 培养基分化芽数较高, 为 1/2MS + 6-BA $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + 10% 土豆泥 + AC $2.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 培养基能有效提高其增殖系数。梵净山石斛生根过程添加 NAA 为 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 是较适宜的, 附加土豆泥和活性炭能促进组培苗生根。因而采用组培快繁

(下转第 1346 页)

产量具有明显的作用,同时也找到了水稻缓释肥比较适宜的用量和用法。在本试验条件下,相同数量不同肥料类型对水稻的增产效应呈现缓释肥>水稻配方肥>常规肥;在同施缓释肥的情况下,不同氮素水平的增产效应呈现 667 m^2 施 $21\text{ kg}>15\text{ kg}>18\text{ kg}$;从经济角度来看,缓释肥(N、 P_2O_5 、 K_2O 含量分别为15%、4%和6%)采用一基一追施肥方式效益最高,氮素用量相对较少,并减少了2次施肥次数,节约了人工成本,达到了化肥减氮增效的效果。

参考文献:

- [1] 陈萍,迟海峰,张骞,等. 缓控释肥对水稻产量及其构成因素的影响[J]. 黑龙江农业科学,2012(6): 71-73.
- [2] 董晖,张中华,沈翠英,等. 缓释肥在水稻上应用效果初探[J]. 上海农业科技,2012(5): 112.
- [3] 王颖,姜娟,刘顺国,等. 缓释肥料对水稻产量和养分吸收的影响[J]. 安徽农业科学,2017,45(3): 123-126.
- [4] 凌启鸿. 水稻精确定量栽培理论与技术[M]. 北京: 中国农业出版社,2007.
- [5] 魏海燕,李宏亮,程金秋,等. 缓释肥类型与运筹对不同穗型水稻产量的影响[J]. 作物学报,2017,43(5): 730-740.
- [6] 樊小林,刘芳,廖照源,等. 我国控释肥料研究的现状和展望[J]. 植物营养与肥料学报,2009,15(2): 463-473.
- [7] 徐明岗,孙小凤,邹长明,等. 稻田控释氮肥的施用效果与合理施用技术[J]. 植物营养与肥料学报,2005,11(4): 487-493.
- [8] JI X H, ZHENG S X, LU Y H, et al. Study of dynamics of floodwater nitrogen and regulation of its runoff loss in paddy field-based two-cropping rice with urea and controlled release nitrogen fertilizer application [J]. Agricultural Sciences in China, 2007, 6(2): 189-199.
- [9] 聂军,肖剑,戴平安,等. 控释氮肥对水稻氮代谢关键酶活性及糙米蛋白质含量的影响[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版),2003,29(4): 318-321.
- [10] YANG Y, ZHANG M, LI Y C, et al. Controlled release urea improved nitrogen use efficiency, activities of leaf enzymes, and rice yield [J]. Soil Science Society of America Journal, 2012, 76(6): 2307-2317.
- [11] TANG S, YANG S, CHEN J, et al. Studies on the mechanism of single basal application of controlled-release fertilizers for increasing yield of rice *Oryza sativa* L. [J]. 中国农业科学(英文版),2007,6(5): 586-596.
- [12] 李玥,李应洪,赵建红,等. 缓控释氮肥对机插稻氮素利用特征及产量的影响[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版),2015,41(6): 673-684.
- [13] JI Y, LIU G, MA J, et al. Effect of controlled-release fertilizer on mitigation of N_2O emission from paddy field in South China: a multi-year field observation [J]. Plant & Soil, 2013, 371(1/2): 473-486.
- [14] WANG B, LI Y, WAN Y, et al. Modifying nitrogen fertilizer practices can reduce greenhouse gas emissions from a Chinese double rice cropping system [J]. Agriculture Ecosystems & Environment, 2016, 215: 100-109.
- [15] YANG J I, GANG L, JING M A, et al. Effects of urea and controlled release urea fertilizers on methane emission from paddy fields: a multi-year field study [J]. Pedosphere, 2014, 24(5): 662-673.
- [16] 王宏庭,金继运. 农业养分资源精准管理研究进展[J]. 山西农业科学,2005,33(1): 68-72.

(责任编辑: 张才德)

(上接第1336页)

技术使梵净山石斛野生资源得到保护从而进一步开发利用,推进其保育工作。

参考文献:

- [1] 金效华,张玉武,肖丽萍. 中国石斛属一新种[J]. 植物分类学报,2001,39(3): 269-271.
- [2] 孙济平,何顺志. 贵州特有药用植物的种类及分布[J]. 中国中药杂志,2005,30(10): 735-738.
- [3] 徐文芬,黄敏,何顺志. 贵州兰科药用植物新资源调查[J]. 贵州农业科学,2012,40(8): 18-21.
- [4] 叶喜阳,吴棣飞,李根友,等. 浙江2种种子植物新记录[J]. 浙江林学院学报,2010,27(3): 478-479.
- [5] 袁正仿,张卫明,丁小余,等. 铁皮石斛的组织培养研究[J]. 中国医学生物技术应用杂志,2002(3): 58-60.
- [6] 李荣珍. 铁皮石斛种子试管苗的快速繁殖研究[J]. 广东农业科学,2012(14): 22-24.
- [7] 曾万勇,李金华,王智,等. 铁皮石斛无菌萌发及小苗快繁培养条件研究[J]. 武汉工业学院学报,2012(3): 10-12,47.
- [8] 宋顺,许奕,林妃,等. 铁皮石斛原球茎的快繁培养条件研究[J]. 安徽农业科学,2013,41(21): 8850-8852.
- [9] 张桂芳,关杰敏,黄松,等. 铁皮石斛原球茎的诱导与增殖影响因素研究[J]. 中药材,2011,34(8): 1172-1177.
- [10] 王丽萍,梁淑云. 铁皮石斛原球茎诱导与增殖研究[J]. 中国农学通报,2010,26(1): 265-268.

(责任编辑: 张瑞麟)