

植物生长调节剂对金线莲玻璃化苗复壮与增殖的影响

刘芳¹, 唐映红², 李春艳¹, 巩媛¹, 毛凯权¹, 陈建荣^{1*}

(1.长沙学院 生物与环境工程学院,湖南 长沙 410022;2.湖南文理学院 生命与环境科学学院,湖南 常德 415000)

摘要:金线莲市场应用前景广阔,但资源短缺,利用组织培养技术进行金线莲的快速繁殖,能有效解决金线莲繁殖周期长、市场供应不足等问题,对保护野生金线莲资源具有重要意义.但在试验过程中常常由于植物生长调节剂配比或培养条件不合理导致试验材料产生玻璃化导致试验材料浪费.针对这种情况,本试验在多因素筛选后的基础上,采用单一变量的方法,研究了不同的植物调节剂对比对玻璃化苗复壮的影响.结果显示,不仅玻璃化苗复壮并且得到了较好的增殖及原球茎诱导效果.金线莲玻璃化苗复壮最佳配比为:MS+2.0 mg/L 6-BA+1.0 mg/L NAA;最佳增殖的配比为:MS+2.0 mg/L 6-BA+0.01 mg/L NAA,培养条件为温度 24 ℃、光照强度 2 000 lx、光照 12 h/d.

关键词:组织培养;金线莲;玻璃化;植物生长调节剂;玻璃化苗复壮

中图分类号:Q945.52

文献标志码:A

文章编号:2095-7300(2020)03-0015-06

Effect of Plant Growth Regulators on Rejuvenation and Proliferation of Vitrified Seedlings of *Anoectochilus roxburghii*

LIU Fang¹, TANG Yinghong², LI Chunyan¹, GONG Yuan¹,
MAO Kaiquan¹, CHEN Jianrong^{1*}

(1.College of Biological and Environmental Engineering, Changsha University, Changsha 410022, China;

2.College of Life and Environmental Sciences, Hunan University of Arts and Science, Changde 415000, China)

Abstract: The market prospect of *Anoectochilus roxburghii* is broad, but its resources are in short supply. The tissue culture technology is used for rapid propagation of *Anoectochilus roxburghii*, which can effectively solve the problems such as long breeding cycle of *Anoectochilus roxburghii* and undersupply of the market. It is of great significance to the protection of wild *Anoectochilus* resources. But in the process of test, vitrification of test materials are caused often by unreasonable plant growth regulator proportions or culture conditions, which leads to waste of test materials. So this experiment is based on multi factor after screening, using a single variable, to study the effects of proportion of different plant growth regulators on recovery of vitrified seedlings. The results showed that: Vitrified seedlings were resuscitated and better pro-

收稿日期:2020-05-26

基金项目:湖南省自然科学基金项目(2014CK4018);湖南省长沙市科技计划项目(K1205040-31)

作者简介:*为通信作者,陈建荣,教授,博士,研究方向:植物资源与应用, E-mail:249809957@qq.com. 刘芳,硕士研究生, E-mail:15044671@qq.com

引文格式:刘芳,唐映红,李春艳,等.植物生长调节剂对金线莲玻璃化苗复壮与增殖的影响[J].湖南生态科学学报,2020,7(3):15-20. LIU F, TANG Y H, LI C Y, et al. Effect of plant growth regulators on rejuvenation and proliferation of vitrified seedlings of *Anoectochilus roxburghii*[J]. Journal of Hunan Ecological Science, 2020, 7(3):15-20.

liferation and protocorm induction were obtained. The optimal proportion for recovery of *Anoectochilus roxburghii* was MS+2.0 mg/L 6-BA+1.0 mg/L NAA; The optimal proportion of proliferation was MS+2.0 mg/L 6-BA+0.01 mg/L NAA, with the culture conditions of 24 °C, light intensity, light 12 h/d 2 000 lx.

Keywords: tissue culture; *Anoectochilus roxburghii*; vitrification; plant conditioner; recovery of vitrified seedlings

金线莲(*Anoectochilus roxburghii*)为兰科开唇兰属多年生草本植物,别名金线兰、金丝草、树草莲、金钱仔草等.金线莲全草均可入药,其功效范围广泛,主治咯血、肾炎、膀胱炎、风湿性关节炎、肿瘤等疑难病症^[1-3].金线莲只能生长在人迹罕至处于原始生态的深山老林内,对环境要求极为严格.金线莲自然繁殖率低,自然繁殖大量的金线莲非常困难^[4].由于生态环境恶化和对金线莲需求的增加,导致野生金线莲资源濒临灭绝^[5].常规扦插或嫁接繁殖速度慢、繁殖系数低、成本高,因此难以大规模应用^[6].随着科学技术的发展,目前通过植物组织培养方法探索建立金线莲高效稳定的诱导愈伤组织培养系统和进行再生试管苗的培养,可以解决金线莲在国内推广应用的问题,也可以起到保护野生的金线莲资源的作用^[7].近年来金线莲的组培技术得到了迅速地发展,但是在诱导愈伤组织的过程中常常会发生试管苗玻璃化的现象,造成试验材料的浪费和试验进度的缓慢.

玻璃化是一种生理失调或者生理病变,是指在植物离体培养的过程中,植物幼苗呈半透明水渍状,玻璃化的植株难以移栽成活^[8-10].可通过适当提高光照强度、注意通气、适当降低培养基中铵根离子浓度、细胞分裂素与生长激素配比和钾离子之间的配合使用、控制温度等方法降低或改善组培苗玻璃化^[11-12].本试验通过调节生长素和细胞分裂素的比对金线莲玻璃化组培苗的复壮、以及复壮苗的增殖生长能力进行研究,为金线莲的快速繁殖提供参考.

1 材料和方法

1.1 试验材料

试验材料为已经玻璃化的金线莲组培丛生芽.

1.2 试验方法

1.2.1 不同生长调节剂比对玻璃化苗复壮、增殖的影响

以 MS 为基本培养基,加入不同配比的 6-BA

和 NAA,共设置 49 种培养基(见表 1),首先对玻璃化苗进行复壮培养,然后将复壮苗移植至新的培养基中进行增殖培养.其中,培养基中蔗糖 30 g/L、琼脂 9 g/L、pH 值 5.8.

表 1 不同生长调节剂配比

Table 1 Proportion of different growth regulators

复壮 编号	增殖 编号	因素	水平/(mg/L)						
			1	2	3	4	5	6	7
F	Z	NAA	0.01	0.05	0.1	0.5	1.0	1.5	2.0
S	H	6-BA	0.1	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0

1.2.2 培养条件

上述试验每个处理设 10 次重复,每瓶接种 3~5 个外植体.于温度 25 °C、光照强度 1 500 lx、光照时间 12 h/d 条件下连续培养观察芽的复壮、增殖及生长情况.

1.2.3 数据统计与分析方法

复壮和增殖培养 30 d 后进行统计分析.复壮率=复壮芽数*100/接种的外植体株数,记录 10 次重复的平均数作为最终结果,以玻璃化苗的叶片变成翠绿色为复壮依据;增殖率=增殖后的总株数/接种的外植体株数,记录 10 次重复的平均数作为最终结果,并于试验结束时,目测芽生长情况并用 5 级表示,分别记为:“+”、“++”、“+++”、“++++”、“+++++”表示,试验数据用 DPS 软件进行多重比较分析.

2 结果与分析

2.1 不同生长调节剂比对玻璃化苗复壮的影响

由表 2 可以看出,49 个处理都有不同程度的玻璃化苗复壮,其中以组合 F₁S₁、F₂S₁、F₅S₁、F₆S₁、F₇S₁ 及 F₅S₅ 复壮率较高,均达到了 80.0% 以上,其中以组合 F₅S₅ 即 2.0 mg/L 6-BA+1.0 mg/L NAA 复壮效果最好,其复壮率可达到 88.9%,培养 30 d 后,产生大量原球茎(图 1-f),由表 3 可知,6-BA、NAA 两种因素

对玻璃化苗复壮均有显著的相关性,说明6-BA、NAA 这 2 种生长调节剂对玻璃化苗都有明显的效果,其中以 6-BA 效果较好($F=13.794\ 3$),NAA($F=0.657\ 9$)较差.由表 4 可知,各因素不同浓度之间的差异也有所不同,不同 6-BA 浓度之间具有显著性,不同 NAA 浓度之间无显著性.因此,根据正交试验优先选择原则,结合复壮率的直观分析,两种因素配比时的复壮效果较好,可得出 2 种因素的最佳配比为 F_5S_5 ,即 $MS+2.0\text{ mg/L }6\text{-BA}+1.0\text{ mg/L NAA}$.

表 2 不同生长调节剂配比下玻璃化苗复壮情况(30 d 后)

Table 2 Recovery of vitrified seedlings in the proportion of different growth regulators (after 30 days)								
FS 组合 复壮率/%	(S) 6-BA/(mg/L)							
	0.1	0.5	1.0	1.5	2.0	2.5	3.0	
(F) NAA/ (mg/L)	0.01	87.0	10.2	23.8	41.9	60.6	2.2	45.7
	0.05	83.5	9.7	46.7	44.3	53.6	32.5	38.9
	0.1	74.3	5.0	38.9	34.6	83.7	7.6	41.2
	0.5	73.5	6.9	44.4	40.1	80.4	17.9	40.4
	1.0	80.4	9.2	47.7	32.3	88.9	33.5	48.4
	1.5	84.9	22.3	45.9	3.0	7.8	26.8	46.2
	2.0	83.7	21.6	20.3	37.3	10.2	32.4	50.3

表 3 玻璃化苗复壮情况方差分析

Table 3 Analysis of variance on recovery of vitrified seedlings					
方差来源	平方和	F 值	自由度	均方	显著性
F	1 030.460 9	0.657 9	6	179.456 5	*
S	23 214.187 5	13.794 3	6	3 869.031 2	***

* 表示差异不显著($p>0.05$), ** 表示差异显著($0.01<p<0.05$), *** 表示差异极显著($P<0.01$),表 6 同

表 4 各因素不同浓度之间玻璃化苗复壮情况方差分析

Table 4 Analysis of variance on recovery of vitrified seedlings between different concentrations of various factors					
方差来源	水平	复壮率/%	方差来源	水平	复壮率/%
F	5	50.6±30.0 aA	S	1	81.2±6.3 aA
	4	46.6±26.6 aA		5	59.5±35.5 abAB
	2	44.3±23.4 aA		7	47.7±4.5 bcBC
	3	43.4±31.5 aA		3	38.3±11.3 bcdBC
	1	42.0±32.3 aA		4	33.3±13.9 bcdBC
	7	38.6±26.2 aA		6	23.3±13.3 cdC
	6	33.3±26.8 aA		2	12.2 8±7.0 dC

小写字母表示差异显著($P<0.05$),大写字母表示差异极显著($P<0.01$),表 7 同

2.2 不同生长调节剂配比对复壮苗增殖生长的影响

由表 5 的结果可知,金线莲在复壮的基础上都有不同程度的增殖,组合 Z_1H_1 、 Z_1H_2 、 Z_1H_3 、 Z_1H_4 、 Z_1H_5 、 Z_1H_6 、 Z_1H_7 增殖效果较好,其中以组合 Z_1H_5 的增殖效果最好,增殖率达到了 59.8%,其在复壮时产生原球茎,30 d 后原球茎上形成大量丛生芽,生长旺盛,长势喜人(图 1-g).

表 5 复壮苗增殖情况
Table 5 Proliferation of resuscitated seedlings

组合	增殖率/%	生长情况	组合	增殖率/%	生长情况
Z_1H_1	54.2	+++++	Z_4H_5	5.3	++
Z_1H_2	52.1	+++++	Z_4H_6	1.2	++
Z_1H_3	59.2	+++++	Z_4H_7	4.3	++
Z_1H_4	50.1	+++++	Z_5H_1	45.4	+++
Z_1H_5	59.8	+++++	Z_5H_2	44.1	+++
Z_1H_6	57.2	+++++	Z_5H_3	47.7	+++
Z_1H_7	56.4	+++++	Z_5H_4	46.2	+++
Z_2H_1	3.3	+	Z_5H_5	40.4	+++
Z_2H_2	5.1	+	Z_5H_6	7.1	++
Z_2H_3	0.0	+	Z_5H_7	9.2	++
Z_2H_4	0.0	+	Z_6H_1	1.3	+
Z_2H_5	0.0	+	Z_6H_2	6.2	++
Z_2H_6	6.2	+	Z_6H_3	2.3	+
Z_2H_7	3.2	+	Z_6H_4	4.3	+
Z_3H_1	2.3	++	Z_6H_5	6.4	++
Z_3H_2	9.8	+++	Z_6H_6	5.1	++
Z_3H_3	11.1	+++	Z_6H_7	5.1	++
Z_3H_4	11.3	+++	Z_7H_1	37.2	++++
Z_3H_5	2.2	++	Z_7H_2	30.3	++++
Z_3H_6	13.4	++	Z_7H_3	26.4	++++
Z_3H_7	4.5	+	Z_7H_4	35.1	++++
Z_4H_1	9.1	++	Z_7H_5	31.2	++++
Z_4H_2	10.2	+++	Z_7H_6	28.1	++++
Z_4H_3	7.4	++	Z_7H_7	29.9	++++
Z_4H_4	8.3	++			

“+”表示增殖效果很差,苗细小,叶片卷起;“++”表示增殖效果较差,苗细小,部分叶片展开;“+++”表示增殖情况较好,产生较多的新芽,但新芽细小,叶片卷起;“++++”表示增殖情况较好,产生较多的新芽,新芽较粗,叶片展开;“+++++”表示产生原球茎,且原球茎上形成大量丛生芽,新芽较细小,部分叶片展开.

表 6 的方差分析结果中 F 值显示, Z 因素和 H 因素对复壮苗的增殖均有显著的相关性,说明6-BA 和 NAA 这 2 种生长调节剂配比对复壮苗增殖都有非常明显的效果,其中以 6-BA 效果较好

($F=54.244\ 4$),NAA 较差 ($F=1.012\ 5$).由表 7 可知,NAA 各浓度之间的差异较小,但 6-BA 各浓度之间差异较大,通过比较得出:2.0 mg/L 6-BA 和 0.01 mg/L NAA 组合,即 Z_1H_5 时的效果最好.因此,适合复壮苗增殖的培养基为 MS+2.0 mg/L 6-BA+0.01 mg/L NAA.

表 6 复壮苗增殖情况方差分析

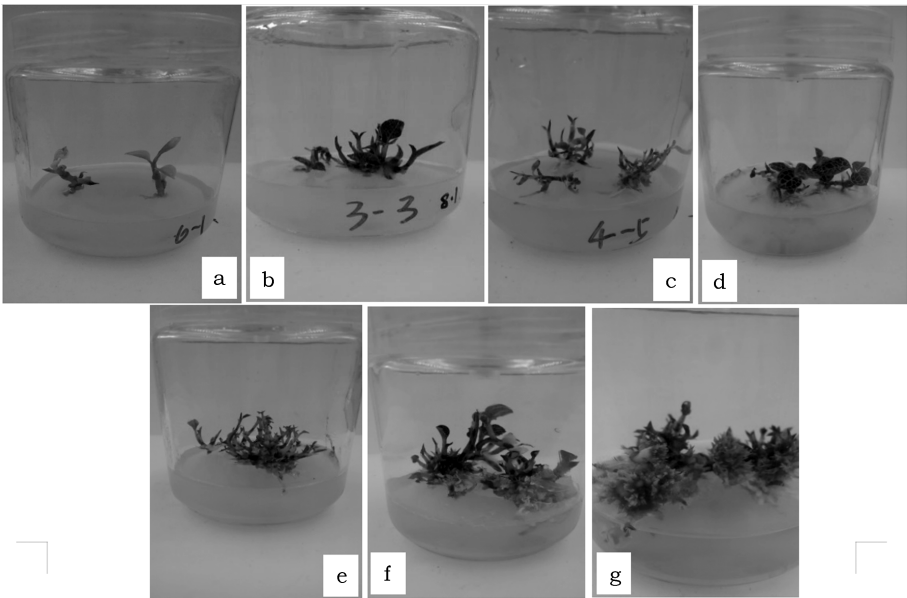
Table 6 Analysis of variance on proliferation of resuscitated seedlings

方差来源	平方和	F 值	自由度	均方	显著性
Z	356.238 3	1.012 5	6	59.654 2	*
H	17 993.475 2	54.244 4	6	3 084.759 2	* * *

表 7 各因素不同浓度之间复壮苗增殖情况方差分析

Table 7 Analysis of variance on proliferation of resuscitated seedlings between different concentrations of various factors

方差来源	水平	增殖率/%	方差来源	水平	增殖率/%
	3	24.0±24.8 aA		1	60.5±24.1 aA
	2	23.8±21.1 a A		5	36.1±19.4 bB
	4	23.3±21.4 aA		7	33.1±4.5 bB
Z	1	23.4±24.0aA	H	3	8.0±5.1 cC
	5	21.7±24.5 aA		4	6.5±3.3 cC
	6	17.4±21.2 aA		6	4.4±2.1 cC
	7	17.2±21.2 aA		2	3.2±2.0 cC



a 玻璃化苗; b 玻璃化复壮; c 苗小叶片未展开; d 苗小部分叶片展开;
e 产生大量新芽芽细小; f 产生大量新芽芽粗壮叶片展开; g 产生大量原球茎

图 1 金线莲玻璃化苗恢复情况

Fig.1 Restoration of vitrified seedling of *Anoectochilus auriculata*

3 讨论

植物玻璃化是植物组织培养中常见的现象,易导致试验材料的浪费及试验进度的缓慢.已有文献指出,玻璃化苗随着培养基和培养环境的改变其变化是可逆的^[8,13-15].目前已知的玻璃化苗复壮的方法包括增强通风^[7]、适度的低温处理^[16]、改变 pH^[17]、激素配比^[18]和加入活性炭^[19]等.本试验从激素配比方面进行研究,探讨不同的生长素和细胞分类素配

比对玻璃化苗复壮的影响,结果显示,不同的激素配比对玻璃化苗复壮有着显著的影响,其中 MS+2.0 mg/L 6-BA+1.0 mg/L NAA 的组合效果最佳,玻璃化苗复壮率达 88.9%,玻璃化苗对 6-BA 更加敏感,复壮率随 6-BA 浓度的变化,波动较大,高浓度的 NAA、6-BA 均不利于玻璃化苗的复壮.

本试验在玻璃化苗复壮的基础上取得了较好的再增殖效果.不同的激素配比组合中金线莲原球茎增殖 40 倍~50 倍,其中 MS+2.0 mg/L 6-BA+0.01 mg/L NAA 试验组增殖率达到 59.8%.6-BA 对

金线莲的增殖影响较大,NAA的影响较弱,金线莲增殖率随6-BA浓度变化波动较大,王雅英等^[14]通过正交试验也认为6-BA、NAA、KT三种激素对金线莲增殖系数影响大小为6-BA>NAA>KT.当然也有其他的研究者提出不同的增殖或诱导的配方,如王健勤等^[20]提出的改良MS+2.0 mg/L 6-BA+0.2 mg/L NAA+0.5 mg/L ZT+1.0 mg/L KT原球茎诱导配方,陈兆贵^[21]提出的MS+2.0 mg/L~3.0 mg/L 6-BA+0.2 mg/L~0.5 mg/L NAA增殖配方.

4 结论

MS+2.0 mg/L 6-BA+1.0 mg/L NAA是最佳的金线莲玻璃化苗的复壮培养基,玻璃化苗复壮率达88.9%.复壮后的玻璃化苗最佳增殖培养基是MS+2.0 mg/L 6-BA+0.01 mg/L NAA,接种在该培养基中的金线莲苗产生原球茎,增殖率达到59.8%.本试验在玻璃化苗复壮的基础上获得了较高的增殖率,增殖效果好,对金线莲的快速繁殖具有重要参考价值.

参考文献:

- [1] 范子南,肖华山,范晓红,等.金线莲的组织培养研究[J].福建师范大学学报(自然科学版),1997,13(2):82-87.
FAN Z N, XIAO H S, FAN X H, et al. Study on tissue culture of *Anoectochilus roxburghii* [J]. Journal of Fujian Teachers University (Natural Science), 1997, 13(2): 82-87.
- [2] 郭慧慧,蒋元斌,林丛发,等.金线莲研究进展[J].福建农业科技,2016(3):55-59.
GUO H H, JIANG Y B, LIN C F, et al. Research progress in *Anoectochilus roxburghii* [J]. Fujian Agricultural Science and Technology, 2016(3): 55-59.
- [3] 王勇,陈硕,卢端萍,等.金线莲化学成分的研究[J].中草药,2017,48(13):2619-2624.
WANG Y, CHEN S, LU D P, et al. Chemical constituents of *Anoectochilus roxburghii* [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2017, 48(13): 2619-2624.
- [4] 许文江,陈裕,林坤瑞.药用野生金线莲植物资源的研究[J].福建热作科技,2000,25(4):9-10.
XU W J, CHEN Y, LIN K R. Study on the plant resources of medicinal wild *Anoectochilus roxburghii* [J]. Fujian Science & Technology of Tropical Crops, 2000, 25(4): 9-10.
- [5] 张铁.金线莲组织培养研究进展[J].文山学院学报,2013,26(6):11-13,30.
ZHANG T. Research progress of tissue culture of *Anoectochilus roxburghii* [J]. Journal of Wenshan University, 2013, 26(6): 11-13, 30.
- [6] 邵清松,叶申怡,周爱存,等.金线莲种苗繁育及栽培模式研究现状与展望[J].中国中药杂志,2016,41(2):160-166.
SHAO Q S, YE S Y, ZHOU A C, et al. Current researches and prospects of seedling propagation and cultivation modes of *Jinxianlian* [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2016, 41(2): 160-166.
- [7] 陈兵先,黄宝灵,吕成群,等.植物组织培养试管苗玻璃化现象研究进展[J].林业工程学报,2011,25(1):1-5.
CHEN B X, HUANG B L, LÜ C Q, et al. Research progress on vitrification of plantlets in vitro in plant tissue culture [J]. Journal of Forestry Engineering, 2011, 25(1): 1-5.
- [8] 蔡祖国,符树根,黄宝祥,等.植物组织培养中玻璃化现象的研究进展[J].江西林业科技,2005(2):35-38.
CAI Z G, FU S G, HUANG B X, et al. Advance of studies on vitrification in plant tissue culture [J]. Jiangxi Forestry Science and Technology, 2005(2): 35-38.
- [9] 李胜,李唯,杨德龙,等.植物试管苗玻璃化现象研究进展[J].甘肃农业大学学报,2003,38(1):1-16.
LI S, LI W, YANG D L, et al. Advance of research vitrification in plant test-tube plantlets [J]. Journal of Gansu Agricultural University, 2003, 38(1): 1-16.
- [10] 丰锋,陈厝边.草莓离体培养中玻璃化的发生及克服措施研究[J].西南大学学报(自然科学版),2007,29(4):78-82.
FENG F, CHEN C B. Vitrification in in vitro culture of strawberry and its prevention [J]. Journal of Southwest University (Natural Science Edition), 2007, 29(4): 78-82.
- [11] 陈瑞芳.马蓝组织培养技术及玻璃化防治措施研究[D].福州:福建农林大学,2013.
CHEN R F. Research on tissue culture technology and vitrification prevention measure for *Strobilanthes cusia* (Nees) Ktze [D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2013.
- [12] 热娜古丽·吐鲁洪,惠浩亮,刘甜甜,等.植物组织培养中褐变和玻璃化及污染的治理研究[J].黑龙江农业科学,2019(11):154-157.
RENAGULI T L H, HUI H L, LIU T T, et al. Study on the control of browning, vitrification and pollution in plant tissue culture [J]. Heilongjiang Agricultural Sciences, 2019(11): 154-157.
- [13] 张天翔,林宗铿,蔡坤秀,等.芦笋组织培养中玻璃化苗逆转的初步研究[J].中国农学通报,2013,29(25):93-96.
ZHANG T X, LIN Z K, CAI K X, et al. Preliminary study on

- reversion of vitrification in tissue culture of *Asparagus officinalis* L.[J].Chinese Agricultural Science Bulletin,2013,29(25):93-96.
- [14] 郑黎文,吴红娟,于晓南,等.芍药‘种生粉’离体芽培养及玻璃化苗复壮研究[J].林业科学研究,2011,24(3):379-384.
- ZHENG L W, WU H J, YU X N, et al. Studies on the micro-propagation and rejuvenation of the hyperhydric plantlets of *Paeonia lactiflora* ‘Zhong Sheng Fen’ [J]. Forest Research, 2011, 24(3): 379-384.
- [15] 李琼洁,贾茸.洋桔梗玻璃化苗恢复研究[J].中国园艺文摘,2017(9):37-38,63.
- LI J Q, JIA R. Study on vitrified seedling recovery of *Eustoma grandiflorum* [J]. Chinese Horticulture Abstracts, 2017(9): 37-38, 63.
- [16] 高红兵,亓鑫,王欢,等.酸樱桃组培过程中产生玻璃化苗的影响因子[J].安徽农业科学,2007,35(1):31-32,51.
- GAO H B, QI X, WANG H, et al. Factors affecting vitrification of *Prunus cerasus* cultured in vitro [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2007, 35(1): 31-32, 51.
- [17] 赵鑫闻,梁德军.甜杨离体再生中玻璃化苗的发生与防治[J].中国农学通报,2017,33(15):71-75.
- ZHAO X W, LIANG D J. The occurrence and control of vitrification shoots of *Populus suaveolens* in vitro regenerative culture [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2017, 33(15): 71-75.
- [18] 胡颖.草莓玻璃化苗的分析[J].吉林农业,2016(15):91.
- HU Y. Analysis of vitrified strawberry seedlings [J]. Agriculture of Jilin, 2016(15): 91.
- [19] 王雅英,林荣耀,杨忠耿,等.金线莲快速繁殖及促根壮苗试验[J].亚热带植物科学,2005,34(3):40-42.
- WANG Y Y, LIN R Y, YANG Z G, et al. Rapid propagation of *Anoetochilus roxburghii* [J]. Subtropical Plant Science, 2005, 34(3): 40-42.
- [20] 王建勤,林兰英,陈钢.金线莲原球茎的诱导与植株再生[J].植物学通报,1996,13(1):54-55.
- WANG J Q, LIN L Y, CHEN G. Protocorm initiation and plantlet regeneration of *Anoetochilus roxburghii* [J]. Chinese Bulletin of Botany, 1996, 13(1): 54-55.
- [21] 陈兆贵.金线莲组织培养和移栽技术研究[J].惠州学院学报,2007,27(6):14-17.
- CHEN Z G. Study on tissue culture and transplanting techniques of *Anoetochilus roxburghii* [J]. Journal of Huizhou University, 2007, 27(6): 14-17.

责任编辑:付美云
英文校对:王芬