# 兜兰属植物繁殖生物学研究进展

## 武荣花,张 晓

(河南农业大学 林学院,河南 郑州 450002)

摘要: 兜兰属植物为兰科植物的珍品,具有极高的观赏价值。由于人为破坏,许多兜兰种濒临灭绝。近年来,兜兰的保育学研究兴起,特别是兜兰的大规模扩繁研究,为兜兰属植物的保护提供了理论指导。从兜兰属植物的分株繁殖、组织培养、有菌播种以及无菌播种 4 个方面综述了兜兰的繁殖生物学研究进展。

关键词: 兜兰属; 繁殖; 生物学

中图分类号: S682.31 文献标志码: A 文章编号: 1004-3268(2013)04-0006-05

# Research Advance on Reproductive Biology of Paphiopedilum

WU Rong-hua, ZHANG Xiao

(Forestry School, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China)

**Abstract**: Paphiopedilum has a highly ornamental value, being the treasure of Orehidaceae. But Paphiopedilum is threatened with extinction due to human destruction. Recently, the conservation study of Paphiopedilum is rising, especially in the study on the large-scale propagation. This paper presents the advances of the reproductive biology of Paphiopedilum, including vegetative propagation and generative propagation.

**Key words:** Paphiopedilum; reproduction; biology

兜兰属(Paphiopedilum)是兰科(Orehidaceae) 最原始的属之一,全世界约有 80 余种 $^{[1]}$ ,原产于亚洲的热带和亚热带地区,分布中心在东南亚、南洋群岛以及太平洋西南的大洋洲岛屿国家、巴布亚新几内亚等国。我国兜兰属植物资源十分丰富,近年来研究者又发现了不少原产于我国的野生兜兰种和变种,目前共计 11 个种,10 个变种,主要分布于云南、广西和贵州等地区 $^{[2]}$ 。

兜兰属植物是兰科中的珍品,有许多种是极具观赏价值的世界级花卉名品,其花期长,花色庄重素雅,花型奇特,其唇瓣状如拖鞋,故又有"拖鞋兰"之称。

但是由于近年来生态环境的破坏以及人们对其过度地采挖,兜兰现已成为世界上濒危的植物物种之一,许多种类已濒临灭绝,所有兜兰野生种均被列入《濒危野生动植物种国际贸易公约》(CITES)附录I而被禁止交易[3-4],因此,兜兰属植物的保护工作越来越受到人们的重视。近年来,众多研究者

从不同的角度研究兜兰属植物保育学。其中,兜兰的繁殖生物学为其研究的热点。鉴于此,从分株繁殖、组织培养、有菌播种以及无菌播种等方面介绍兜兰属植物繁殖生物学的研究现状与发展趋势,以期为野生兜兰的保护以及人工扩繁提供理论指导和应用参考。

#### 1 营养繁殖

营养繁殖是扩大兜兰属植物群体规模行之有效的手段之一,是兜兰保育学研究的重要领域。由于人们对兜兰属植物的认识还不够全面和深入,以及有关兜兰属植物的营养繁殖体系也不够完善,原地保护以及迁地保护仍成为兜兰属植物资源保护的主要方法[1]。随着研究的深入,兜兰属的分株繁殖技术和组织培养技术研究为兜兰的大批量扩繁提供新的思路。

#### 1.1 分株繁殖

兜兰的分株繁殖在开花后或春秋季均可进行。

收稿日期:2012-11-14

作者简介:武荣花(1964-),女,河南叶县人,副教授,博士,主要从事花卉栽培生理研究。E-mail:wuronghua06@126.com

一般野生种生长  $2\sim3$  a 就可以分株,而一些杂交种或热带种类,1 a 有 2 个生长高峰期,每年都可分株。用两手握住植株基部根状茎即可掰开。幼苗离开母体后,分别进行栽植,浇透水,置半荫处,注意保持空气湿度,以利于尽早恢复生长。15 d 后进行常规管理<sup>[5]</sup>。

在自然界中,兜兰属植物主要靠分生进行繁殖。在人工栽培条件下,兜兰分株繁殖的繁殖系数并不高<sup>63</sup>,主要是由于人们对兜兰属天然群居生存环境以及分株条件的研究不够深入,无法提供其分株繁殖所需要的适宜条件。分株繁殖是兜兰属植物批量扩繁简单而行之有效的方法,此方面的研究有待于进一步深入。

# 1.2 组织培养

利用组织培养技术进行兜兰的大规模扩繁,无疑对濒临灭绝的野生兜兰种具有重大的意义。但是,兜兰的组织培养技术难度极大<sup>[7]</sup>,如今很少有此方面成功的报道,靠组织培养技术还无法实现兜兰的商业化大规模生产。现在,兜兰属植物的组织培养研究着重于外植体的类型、不同阶段培养基的优化以及激素的选择等方面。

目前,兜兰组培研究一般以茎尖、幼根、叶片等部位作为外植体,其中茎尖最为常用,成功率较高。但是兜兰的茎极短,取材较为困难,极易受菌类污染。如今仅有少数种,如硬叶兜兰、杏黄兜兰等,其侧芽可像根状茎一样伸长,便于采芽进行茎尖培养<sup>[7]</sup>。Huang 等<sup>[8]</sup>提出可采用无菌播种的兜兰幼苗器官作为组培的外植体,如此便可以省去外植体消毒的步骤。

Huang 等[8] 以菲律宾兜兰(P. philippinense)× 苏栅棚屋(P. susan 'Booth') 无菌播种的组培苗的 茎尖作为外植体接种在附加激素的培养基上,实现 了芽增殖和生根的一步完成,每12周就可以使兜兰 数量增加 1 倍,巨瓣兜兰的杂交种(P. bellatulum 'Big apot'×P. Bellatulum 'Jo Ann's Wine')和硬 叶兜兰的杂交种(P. micranthum×P. glaucophyllum)均可通过该方法实现组培苗的增殖。杨燕萍 等[9] 以亨利兜兰的侧芽为外植体,研究了基本培养 基类型及激素浓度对继代增殖的影响,结果表明:茎 尖诱导培养基以 Heller 培养基+6-BA 2.0 mg/L+ NAA 0. 2 mg/L+活性炭 0. 5 g/L 为佳。在继代培 养中,培养基 1/2MS+6-BA 0. 2 mg/L+NAA 2. 0 mg/L+椰汁 100 mL/L+活性炭 2.0 g/L 的丛生芽 增殖效果最好,增殖倍数为 3.50。壮苗生根以 1/2 MS+NAA 1. 0 mg/L+土豆汁 100 mL/L+活性炭 2.0 g/L 培养基为优。

张晓红等 $^{[10]}$ 以杂交种兜兰 $(P.\ collosum \times P.\ maudiae$  'Los Osos')茎节为外植体,在改良 MS+0.5 mg/L  $^2$ 2,4-D+0.5 $^2$ 1.0 mg/L KT 的培养基上诱导形成了丛生型原球茎。每一外植体产生  $^2$ 10 个类原球茎,经原球茎的增殖培养,获得了兜兰的无性繁殖系。将分化形成芽的原球茎转移至附加  $^2$ 1.0 mg/L  $^2$ 2.0 mg/L  $^3$ 6-BA、0.5 mg/L  $^3$ 7 NAA 以及  $^3$ 2.0 g/L 活性炭的 MS 培养基上,可诱导生根,形成完整的小植株。

Chen 等[11]以菲律宾兜兰(P. philip pinense)的杂交种 PH59、PH60的叶片(长 1.5 cm 未切割的完整叶和长 0.5 cm 的叶片切块)为外植体,诱导出了不定芽和带根的小植株。叶片未切割时,在 1/2MS培养基上 PH59、PH60均有 25%的外植体分化出芽,添加植物生长调节剂时,1/2MS+1.0 mg/L 2,4-D+1.0 mg/L TDZ 能促进 PH59不定芽的形成,1/2MS+1.0 mg/L 2,4-D+5.0 mg/L TDZ和 1/2MS+1.0 mg/L 2,4-D+1.0 mg/L 2,4-D+5.0 mg/L TDZ 能促进 PH60不定芽的生成。而叶片切割时,PH60只在 1/2MS+1.0 mg/L 2,4-D+0.1 mg/L TDZ 上诱导出了丛生芽,而 PH59在 1/2MS+1.0 mg/L TDZ 上诱导出了丛生芽的叶片数减少,但每个叶片的平均出芽数增多。

曹受金等[12]以兜兰的幼根为外植体进行兜兰组培快繁研究,研究表明: 6-BA 对类原球茎诱导有极显著影响,且 6-BA 对兜兰幼苗的增殖效果更为显著,而 GA 和香蕉泥的合理组配是兜兰生根壮苗的关键。而 Huang 等[8]发现 TDZ 会限制茎尖的增殖以及幼苗的生根,高浓度的 6-BA 与低浓度的NAA 更有利于茎尖的增殖。蛋白胨以及椰汁等有机添加物对于兜兰的组培也有一定帮助。Ernst<sup>[13]</sup>利用紫毛兜兰、费氏兜兰、波瓣兜兰及其杂交种进行试验,探讨花梗、叶尖、根尖、雄蕊作为外植体的可行性,发现这些器官在培养基上均不生长,子房部分的胎盘虽然可以进行生长和分化,但是不能够形成愈伤组织。

目前,利用兜兰茎尖、叶片等为外植体进行组培试验还主要集中在杂交种,不同的基因型和外植体类型的再生能力差别很大。对不同兜兰野生种均需要探索高效的再生培养体系以实现快速繁殖。

#### 2 有性繁殖

罗毅波等<sup>[1]</sup>指出,兰科植物由于单个果实内具 有成千上万颗种子,利用种子进行大规模繁殖成为 兰科植物迁地保护的重要手段,特别是对兜兰属植物来说,目前组织培养等方法还未取得突破,种子繁殖就成为唯一的规模繁殖方法。兜兰种子繁殖主要分为有菌播种和无菌播种两方面。

#### 2.1 有菌播种

兜兰的种子没有胚乳,自然条件下需要与真菌 共生获得营养才能萌发。兜兰的杂交种子一般需要 在含有共生真菌的兜兰原生地土壤或播种在兜兰母 株的基质中才能萌发,但萌发率低[14]。目前,此方 面的研究还处于起步阶段,研究重点主要集中于不 同兜兰种共生真菌的分离及其对兜兰生长的影响。

李明等[15] 采用根组织切片法从杏黄兜兰根内分离到 13 株真菌,镰刀菌和组丝核菌为优势菌。将组丝核菌 JF74、JF75、JF80 制成菌剂,施入杏黄兜兰根部,对杏黄兜兰产生了一定的促进生长的效果。Nontachaiyapoom等[16] 从兜兰、蕙兰以及石斛兰的根中分离出了 27 种类丝核菌真菌,并利用形态学和分子生物学手段对其进行了鉴定。田凡等[17] 采用单菌丝团法分离硬叶兜兰菌根真菌,纯化后,用打孔法培养菌株,观察菌株形态特征并测定其生长速度,初步鉴定了 8 株

内生真菌(DJYYDL001、DJYYDL003、DJYYDL004、DJYYDL006、DJYYDL008、DJYYDL009、DJYYDL011、DJYYDL015)。朱鑫敏等<sup>[18]</sup> 从硬叶兜兰和杏黄兜兰根中分别分离得到瘤菌根菌属真菌 PM-1 和美孢胶膜菌 PA-1,并观察在不同的培养基上 2 种真菌对硬叶兜兰和杏黄兜兰生长的影响,结果表明,不同培养基养分水平能显著影响内生真菌与杏黄兜兰的共生关系,营养相对贫瘠的 DE 培养基有利于两者共生,而营养丰富的 Harvais 培养基不利于共生。

现在已经分离得到许多与兜兰共生的真菌,研究 表明这些真菌对兜兰的生长有明显的促进作用。而共 生真菌促进兜兰种子萌发的相关研究较少。如何在生 产中利用共生真菌将成为以后研究的重点。

### 2.2 无菌播种

目前无菌播种法已经成为兰科植物栽培、繁殖的一种常规方法。国内外学者对于兜兰属植物的无菌播种技术进行了深入而广泛的研究(表 1)。研究重点主要集中于果荚成熟度对种子萌发率的影响、消毒方法的优化、暗培养对种子萌发的影响以及不同阶段培养基的优化等。

			1(1			
试验材料	果英发育 时间/d	和子明友译表品	种子萌发 率/%	增殖分化培养基	生根壮苗培养基	参考文献
同色兜兰	210	1/2MS+100 mL/L <b>椰乳</b>	60	1/2MS+2 0 mg/L 6-BA+0 2 mg/L NAA+100 mL/L 香蕉汁	1/2MS+0 2 mg/L IBA+2 0 g/L <b>活性炭</b>	王莲辉等[19]
长瓣兜兰	420	1/2MS+100 mL/L <b>椰乳</b>	60	1/2MS+0 2 mg/L 6-BA+1 0 mg/L NAA+100 mL/L 椰乳	1/2MS+0 2 mg/L IBA+2 0 g/L <b>活性炭</b>	王莲辉等[20]
白花兜兰	180	1/2MS+100 mL/L <b>椰乳</b>	80	1/2MS+1 0 mg/L 6-BA+0 05 mg/L NAA+100 mL/L 椰乳	1/2MS+0 2 mg/L IBA	王莲辉等[21]
小叶兜兰	400	1/2MS+100 mL/L <b>椰乳</b>	80	1/2MS+0 2 mg/L 6-BA+1 0 mg/L NAA+100 mL/L 椰乳	1/2MS+0 2 mg/L IBA+2 0 g/L <b>活性炭</b>	王莲辉等[22]
麻栗坡兜兰	180	1/4MS+100 mL/L 椰乳 +1 0 g/L 活性炭	36	3 0 g/L 花宝 1 号+1 0 mg/L 6-BA+ 0 1 mg/L NAA+1 0 mg/L AgNO <sub>3</sub> + 100 mL/L 椰乳	3 0 g/L 花宝 1 号+10%香蕉 汁+2 0 g/L 活性炭	丁长春等[23]
胼胝兜兰	180	1/4MS+100 mL/L 椰乳 +1 0 g/L 活性炭	52	3 0 g/L 花宝 1 号+1 0 mg/L 6-BA+ 0 1 mg/L NAA+1 0 mg/L AgNO3+ 100 mL/L 椰乳	3 0 g/L 花宝 1 号+10%香蕉 汁+1 0 g/L 活性炭	丁长春 <sup>[24]</sup>
硬叶兜兰	150	1/5MS+100 mL/L 椰乳 +1 0 g/L 活性炭	37	1/5MS +Q 5 mg/L 6-BA+Q 1 mg/L NAA+1 0 mg/L AgNO <sub>3</sub> +100 mL/L 椰乳	3 0 g/L花宝 1 号+1 0 mg/L NAA+1 0 mg/L AgNO <sub>3</sub> + 10%香蕉汁+0 5 g/L活性炭	丁长春等[25]
带叶兜兰	150	RE+200 mL/L <b>椰乳</b>	50	1 5 g/L 花宝 1 号+1 5 g/L 花宝 2 号 +2 0 mg/L 6-BA+0 2 mg/L NAA+ 2 0 g/L 活性炭	1 0 g/L 花宝 l 号+1 0 g/L 花 宝 2 号+2 0 g/L 蛋白胨+1 0 mg/L NAA+2 0 g/L 活性炭 +10%香蕉汁	曾宋君等[26]
彩云兜兰	250	VW(或 1/2MS) + 100 mL/L 椰乳+1 0 g/L 活性炭		增殖: 1/2MS+0 5 g/L 活性炭+50 mL/L 椰乳+10 mg/L TDZ+0 5 mg/L NAA;分化: 1/2MS+0 1 mg/L 6-BA+10 mg/L NAA+10 g/L 活性炭	2 0 g/L 花宝 1 号 + 2 0 g/L 蛋 白胨 + 1 5 g/L 活性炭 + NAA 1 0 g/L + 50 mL/L 椰乳 + 50 g/L 香蕉汁	曾宋君等[27]
亨利兜兰	300	VW+100 mL/L 椰乳+ 1 0 g/L 活性炭	- 45	2 0 g/L 花宝 1 号+2 0 g/L 蛋白胨+ 1 0 g/L 活性炭+1 0 mg/L NAA+50 mL/L 椰乳	2 0 g/L 花宝 1 号+2 0 g/L 蛋白胨 +1 5 g/L 活性炭 +1 0 mg/L NAA+50 mL/L 椰乳+ 50 g/L 土豆汁	曾宋君等[28]

表 1 部分兜兰种无菌播种研究结果

由表 1 可知, 兜兰属不同基因型的种子最佳采 收时期有很大的差异,果荚发育时间一般不会低于 150 d,成熟度高者也在 450 d 之内。种子萌发率一 般在 50% 左右,高者(白花兜兰、小叶兜兰)可达 80%,低者(麻栗坡兜兰)只有36%。种子萌发培养 基应用较多的为 1/2MS、VW、RE、KC 等。由于兜 兰种子没有胚乳,在种子萌发培养基加入有机添加 剂特别是椰乳,可明显提高种子的萌发率。多数研 究证明,NAA 和 6-BA 组合是原球茎继代增殖与分 化的主要影响因素,两者的浓度及其配比均对原球 茎的增殖分化有重要的影响。丁长春等[25]研究表 明,添加 AgNO<sub>3</sub> 和活性炭对原球茎的分化以及幼 苗的生长起到明显的促进作用。在根诱导研究中发 现,低浓度的 IBA 有利于根的产生,而高浓度 IBA 对根的萌发有抑制作用。种子培养初期进行适当时 间的暗培养有助于种子萌发,不同的兜兰种所需要 的暗培养时间不同,一般为3周到8周不等。此外, Lee<sup>[29]</sup> 利用 6 个兜兰属植物不同种(巨瓣兜兰、紫点 兜兰、雪白兜兰、海伦兜兰、亨利兜兰、白旗兜兰)研 究了不同的种子预处理方法对种子萌发的影响,发 现用 1%NaClO 浸泡种子  $60\sim75$  min 可明显提高 种子的萌发率。Nhut 等[30] 以德氏兜兰的种子为材 料进行无菌播种研究,发现采用种子创伤与液体培 养相结合的方法,可以提高原球茎芽的分化再生能 力。王亚平等[31] 以同色兜兰与带叶兜兰正反交所 得的种子为试验材料进行了兜兰杂交种的无菌播种 研究,结果表明:同色兜兰与带叶兜兰杂交种以授粉  $120\sim160~{\rm d}$  的果荚经暗培养  $35\sim45~{\rm d}$  的萌发率较 高,通过改进浅层液体培养方法可使萌发率达到普 通播种萌发率的 7.6 倍,试验结果也显示基因型是 影响兜兰种子萌发的重要因素。

尽管兜兰的无菌播种研究取得了显著的成绩,但是仍然存在很多问题。不同基因型的果荚采收时期、种子萌发所需要的培养条件以及增殖分化生根壮苗的培养基各不相同,且差别较大。每个种还没有各自标准高效的繁殖技术体系。无菌播种各个环节还需进一步的优化以满足商业化大规模扩繁的要求。总之,无菌播种是兜兰保育学研究较为深入的一个领域,此方面的研究将为兜兰的保护与生产提供有力的指导。

# 3 展望

兜兰属植物扩繁研究主要集中于分株繁殖、组

织培养、有菌播种以及无菌播种 4 个方面。目前,这 些方面都取得了一些成果,特别是组织培养和无菌 播种。现在人工栽培的兜兰主要依靠分株进行繁 殖,但是繁殖系数很低。分株繁殖步骤简单,成本 低,比较适合生产,所以,如何提高分株繁殖的繁殖 系数将成为以后的研究重点之一。兜兰的组织培养 技术难度较大,虽然已有成功的报道,但是兜兰组培 快繁的关键问题有待于解决,还需深入研究。最近 发展了新的组织培养技术——薄层切片培养[32]和 薄层细胞培养[33],此类技术能高效地获得再生小植 株,但尚未在兜兰上应用。兜兰种子的有菌共生研 究进展缓慢,目前,此方面研究重点主要集中在不同 兜兰基因型优势菌的分离,但是兜兰的有菌共生研 究前景广阔,可为兜兰属植物的产业化提供有力的 技术支撑。兜兰的无菌播种技术国内外研究较多, 成果显著,但还是无法满足大规模扩繁的要求。以 后此方面的研究重点将集中于诱导培养基的优化以 及高效添加剂的探索。兜兰属植物扩繁研究是保育 学研究的重要内容,将为兜兰属植物的保护做出重 要贡献。

#### 参考文献:

- [1] 罗毅波,贾建生,王春玲. 初论中国兜兰属植物的保护 策略及其潜在资源优势[J]. 濒危物种科学通讯,2005, 4(2):11-20.
- [2] 陈心启,吉占和.中国兰花全书[M].北京:中国林业出版社,1997;255-256.
- [3] 卢思聪.中国兰和洋兰[M].北京:金盾出版社,1994: 85-89
- [4] 郎楷永.中国的兜兰[J].科技导报,2002(9):56.
- [5] 胡东华. 热带兰花[M]. 北京:中国林业出版社,2002:
- [6] 王贞,丛磊,刘燕. 兜兰属植物研究现状[J]. 林业科学, 2006,42(7):113-119.
- [7] 谭文澄,戴策刚.观赏植物组织培养技术[M].北京:中国林业出版社,1997:266-267.
- [8] Huang L C, Lin C J, Kuo C I, et al. Paphiopedilum cloning in vitro [J]. Scientia Horticulturea, 2001, 91:111-121
- [9] 杨燕萍,徐晓薇,姚丽娟,等.亨利兜兰茎尖诱导与离体 快繁试验[J].农业科技通讯,2011(4):53-55.
- [10] 张晓红,徐涛,谷祝平.兜兰类原球茎的诱导与植株再生[C]//生物多样性研究进展——首届全国生物多样性保护与持续利用研讨会论文集.北京:中国科学技术出版社,1994:87-89.

- [11] Chen T Y, Chen J T, ChangW C. Plant regeneration through direct shoot bud formation from leaf cultures of *Paphiopedilum orchids*[J]. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 2004, 76:11-15.
- [12] 曹受金,田英翠,潘百红,等. 兜兰组培快繁影响因素 分析[J]. 北方园艺,2005(3):79-80.
- [13] Ernst R. Studies in asymbiotic culture of orchid[J]. Amer Orchid Soc Bull, 1975, 44:419-423.
- [14] 曾宋君,田瑞雪,陈之林,等. 兜兰属植物杂交育种研究进展[J]. 热带亚热带植物学报,2010,18(2):459-468
- [15] 李明,张灼. 杏黄兜兰菌根研究与应用[J]. 生物学杂志,2001,18(6):17-18.
- [16] Nontachaiyapoom S, Sasirat S, Manoch L. Isolation and identification of Rhizoctonia-like fungi from roots of three orchid genera, *Paphiopedilum*, *Dendrobium*, and *Cymbidium*, collected in Chiang Rai and Chiang Mai provinces of Thailand[J]. Mycorrhiza, 2010, 20: 459-471.
- [17] 田凡,朱国胜,桂阳,等. 硬叶兜兰菌根真菌的分离及培养特性研究[J]. 北方园艺,2012(7):61-64.
- [18] 朱鑫敏,胡虹,李树云,等. 内生真菌与两种兜兰共培养过程中的相互作用[J]. 植物分类与资源学报, 2012,34(2):171-178.
- [19] 王莲辉,姜运力,余金勇,等. 同色兜兰的组织培养与快速繁殖[J]. 植物生理学通讯,2008,44(6):1171-1172.
- [20] 王莲辉,姜运力,余金勇,等. 长瓣兜兰的组织培养与快速繁殖[J]. 植物生理学通讯,2009,45(9);887-
- [21] 王莲辉,魏鲁明,姜运力,等.白花兜兰的组织培养与 快速繁殖[J].植物生理学通讯,2010,46(10):1071-

- 1072.
- [22] 王莲辉,魏鲁明,姜运力,等. 小叶兜兰的组织培养与快速繁殖[J]. 植物生理学通讯,2010,46(11):1169-1170.
- [23] 丁长春,夏念和. 麻栗坡兜兰的无菌播种与快速繁殖 [J]. 植物生理学通讯,2009,45(12):1201-1202.
- [24] 丁长春. 胼胝兜兰的无菌播种与快速繁殖[J]. 文山师 范高等专科学校学报,2009,22(4):108-109.
- [25] 丁长春,李蕾,夏念和.硬叶兜兰的无菌播种与试管成苗[J].北方园艺,2011(5):115-117.
- [26] 曾宋君,陈之林,段俊.带叶兜兰的无菌播种和离体快速繁殖「J].植物生理学通讯,2006,42(2);247.
- [27] 曾宋君,陈之林,吴坤林.彩云兜兰的离体快速繁殖 [J].植物生理学通讯,2009,45(10):1011-1012.
- [28] 曾宋君,陈之林,吴坤林. 亨利兜兰的离体快速繁殖 [J]. 植物生理学通讯,2010,46(5):471-472.
- [29] Lee Y I. The asymbiotic seed germination of six Paphiopedilum species in relation to the time of seed collection and seed pretreatment[J]. Acta Horticulturae, 2007, 755; 381-385.
- [30] Nhut D T, Trang P T T, Vu N H, et al. A wounding method and liquid culture in Paphiopedilum delenatii propagation[J]. Propag Ornam Plants, 2005, 5: 158-163.
- [31] 王亚平,谭志勇,王燕君,等. 兜兰无菌播种技术研究 [J]. 现代农业科技,2012(1):157-158.
- [32] 陈廷速,张军,夏宁邵,等. 香蕉横切薄片芽分化的培养技术[J]. 热带作物学报,2003,24(4):10-13.
- [33] 田增胜. 薄层细胞培养技术在植物形态分化研究中的 应用[J]. 安徽农业科学,2006,34(19):4861-4864.