

异军突起之石斛兰的研究进展

徐 雨, 王四清

(北京林业大学园林学院, 北京 100083)

摘要: 介绍了洋兰新品——石斛兰(*Dendrobium*)的生物学特性, 在系统查阅国内外近 20 年来的有关文献的基础上, 简要回顾了近年来对其栽培、组培和生物技术三方面的研究进展情况; 着重介绍了石斛兰的常规养护方法, 组培过程中胚培养、茎尖培养、原球茎的增殖、幼苗分化及壮苗这几个关键步骤的培养基的配方, 以及生物技术方面基因工程的研究进展情况。认为在试管苗的移栽、菌根技术以及组培过程中次生代谢产物的变化等方面有待于深入研究。石斛兰发展的前景还是非常广阔的。

关键词: 石斛兰; 常规栽培; 组织培养; 基因工程

中图分类号: S682.311; S682.314 文献标识码: A 文章编号: 1000-7091(2005) 专辑-0152-06

Advances of *Dendrobium*

XU Yu, WANG Si-qing

(Department of Landscape Architecture Beijing Forestry University, Beijing 100083, China)

Abstract: Advances of *Dendrobium* including routine culture, tissue culture and genetic engineering were reviewed, based on the literature cited during two decade years. The new ornamental orchid, was reviewed in this article for its production and research.

Key words: *Dendrobium*; Routine culture; In vitro propagation; Genetic engineering

石斛兰 *Dendrobium* 是兰科中的第二大属, 有 1500~1600 个原生种, 主要分布于亚洲的热带、亚热带地区和大洋洲。我国有 76 种, 主要分布于西南和华南地区^[1]。石斛是著名的中药材, 目前供药用的有 39 种^[2], 具有滋阴清热、生津益胃、润肺止咳、明目强身等功效, 还具有抗肿瘤、抗衰老、增强机体免疫力、扩张血管及抗血小板凝集等作用^[3], 因此, 被广泛应用。著名的有金钗石斛(*D. nobile* L. indl.), 铁皮石斛 (*D. officinale* K. imura et Migo), 霍山石斛 (*D. huoshanense* C. Z. Tang et S. J. Cheng) 等。石斛兰也是一种观赏价值极高的花卉, 由于花姿优雅、花色鲜艳、花形优美、花期长, 被喻为“四大观赏洋兰”之一, 许多国家还将其定为“父亲节之花”。2005 年 2 月 19~27 日在日本京都举行的世界兰展上, 石斛 *Dendrobium cuthbertsonii* 'Gold Mountain' 一举夺得金奖, 极大地推动了石斛的生产与贸易^[4]。

1 生物学特征

石斛兰为兰属附生兰类, 株高 30~100cm, 根圆柱状, 呈线形, 肉质粗壮, 多呈灰白色。在根组织内

和根际周围生长着根菌。石斛兰为复茎性洋兰, 茎具根状茎和假鳞茎, 每年从根状茎上长出新芽, 到生长季节结束时成熟, 假鳞茎细长条状, 基部较细、中上部粗壮肥大, 一般从基部 3~4 节开始变粗。叶为长披针形、椭圆形至矩圆形, 肥厚革质, 有光泽。花多为总状花序, 一个花芽可形成 1~3 个花梗, 花色丰富, 有红、白、黄、橙、绿、蓝、复色等, 花期长达 35~56d, 有些有香味, 花径多为 6~8cm, 也有直径 10cm 以上的大花。依据花期可将常见石斛分为春石斛和秋石斛两类, 春石斛多为落叶类, 自然花期在 2~4 月份, 花序 2~5 个, 着生在假鳞茎中上部的各节处, 开过花的节位第二年将不再形成花芽; 秋石斛花期在秋季, 花序只是在顶部及附近的节位抽出, 多为常绿类, 有时可连续数年开花^[5-7]。

2 栽培要点

2.1 温度

石斛兰原产热带、亚热带地区, 喜温暖湿润、半荫环境, 不耐寒。适宜的生长温度为 18~30℃, 白天温度超过 30℃ 对石斛兰生长影响不大, 冬季温度

收稿日期: 2005-10-20

作者简介: 徐 雨 (1980-), 女, 河南许昌人, 北京林业大学硕士研究生, 主要研究方向为春石斛的栽培、繁殖、育种。

不宜低于 10℃, 幼苗在 10℃ 以下容易受冻。春石斛花芽分化期间, 夜温维持在 10~13℃, 白天的温度保持在 25℃, 温差在 10~15℃, 14~28d 促使花芽分化。花芽萌发后, 保持适宜的室温, 白天 20~25℃, 夜间 15℃ 左右, 过高或者过低会引起花蕾脱落。花芽形成后, 夜间温度保持在 18~20℃, 42~56d 可以开花^[6, 8-14]。

2.2 光照

石斛兰为典型的长日照喜光植物, 生长期光照充足利于植株健壮, 但是在 7 月中旬至 9 月中旬高温光照强烈时, 应进行遮光处理, 防止叶灼。一般植株遮光 70%, 小苗遮光 80%。其余季节要充分见光, 保持在 20000~25000Lx 的范围最佳。秋季气温渐凉, 假鳞茎开始膨大成熟, 日照足, 茎部增粗块, 呈现亮黄色。光照不足时, 叶软下垂, 假鳞茎生长纤细、软弱、易感病, 对后期形成花芽不利。光照过强时, 叶片枯黄^[6, 8-14]。

2.3 水分

石斛兰为洋兰中抗旱性较强的种类, 但也不可过分干燥。一般来讲, 以基质表面变干、颜色发白为度。石斛兰喜微酸性水, 若北方用自来水浇灌需并用硫酸亚铁或其他有机酸进行处理。夏季生长旺季, 除保证充足水分外, 还要进行空中喷雾和地面洒水来增加湿度。植株终止叶长出后, 适当控水并配合夜间 10℃ 低温有利于花芽分化。花苞形成初期, 减少浇水或不浇水, 现蕾期也要保持不干不湿的微润状态, 冬季稍干燥, 不影响生长^[6, 8-14]。

2.4 通风

通风良好的环境是兰花必要的生长条件之一, 另外, 通风亦可降低高温, 在酷热的环境中生长的假鳞茎细瘦而不充实, 容易得病, 形成花芽较少或根本不形成花芽^[9]。

2.5 肥料

在春夏季节里可施用 N:P:K=2:1:2 稀释 1000 倍的液肥, 7~10d 喷施 1 次, 连续喷施到 7 月为止。或者在 3~5 月初每盆施 5g 左右长效肥。9~10 月份期间, 终止叶出现, 假鳞茎充实期, 每 7d 喷施 N:P:K=15:30:15 的复合肥, 连续喷施 3~5 次, 有效增加花朵数, 延长花期。冬季开花期则应停止施肥^[6, 8-14]。

2.6 立支柱

假鳞茎长到 15~20cm 时, 需要用支柱支撑, 用托盘或者台架固定盆器, 防止出现头重脚轻的现象^[6, 10]。

2.7 病虫害防治

石斛兰不易发生病虫害, 然而在不当的环境下, 仍会受到害虫的袭击, 如红蜘蛛、蚜虫及其他吮吸性虫类等, 还有专门啃食花朵、茎节、根尖的蛱蛄和蜗牛。常见的病害有炭疽病、灰霉病、叶斑病等。平时应注意通风, 保持环境的清洁, 避免低温高湿, 定期适当的药剂防治, 维持兰株良好的生长环境, 采用综合的方法进行防治^[6, 9-13]。

3 组织培养技术研究进展

1960 年法国人 Gmorel^[15]利用茎尖组织培养无病毒植株, 创立石斛无性繁殖技术。1967 年 Sagawa 和 Shoji^[16]报导了通过培养分生组织无性繁殖石斛兰的技术, 继后, Kim, Kunisaki 和 Sagawa^[17]在加有椰子汁的 Vacin 和 Went 培养基上成功诱导了石斛兰的芽分生组织产生原球茎。从 20 世纪 70 年代后期, 我国才开始研究石斛的野生资源和其药用观赏的特性。1984 年, 徐云鹃^[18]等首次报道获得霍山石斛 (*D.houshanense*) 试管苗。此后又利用铁皮石斛 (*D.officinale*)、束花石斛 (*D.chrysanthum*)、兜唇石斛 (*D.aphyllum*) 的茎尖、叶尖或种胚获得了再生植株。下面从胚培养、茎尖培养、原球茎增值、幼苗分化与壮苗几个重要步骤介绍我国近年的研究进展。

3.1 胚培养

石斛一个果实内种子量大, 细小, 无胚乳, 自然条件下必须有共同菌存在才能萌发, 萌发率很低, 在规模化生产中, 通过种子胚培养, 可在短期内获得大量幼苗, 是现阶段经济有效的繁殖方法。

赵天榜^[19]在铁皮石斛和曲茎石斛的胚培养中, 试验了 14 种培养基, 认为 N6 培养基对胚培养和种胚苗生长最佳。采用 BA 和 NAA 各种配比的外源激素则抑制了胚萌发^[20]。铁皮石斛种子萌发不需要添加椰乳或香蕉提取液^[21]。

曾宋君等^[22]对 5 种野生石斛进行胚培养, 选用改良的 N6 培养基 (N6 培养基中 KNO₃、(NH₄)₂SO₄ 的含量分别改为 3000mg/L、200mg/L, NAA0.2mg/L, 椰乳 10%, 糖浓度 20g/L) 效果最佳, 同时认为低浓度 (0.2~0.5mg/L) 的 NAA 对幼胚的萌发和成苗均起促进作用, 过高则抑制。在幼胚萌发中添加椰乳效果最好。

毛秀华等^[23]将环草石斛 (*D.loddigesii*) 种子播种在培养基上, 无论在黑暗或光照条件下, 种胚均能萌发产生原球茎, 既可直接成苗, 又能继续增值, 诱

导产生完整的植株。

叶秀麟^[24]取铁皮石斛 2~6 个月种龄的胚进行离体培养发现, 种龄愈长, 其胚细胞愈多, 萌发形成原球茎的频率就越高, 但 4、5、6 月种龄的胚相差不多, 7、8 月采的种胚比成熟种子小得多, 不能在培养基上继续发育, 9 月取的种胚呈绿色, 经黑暗培养 22d 后在弱光下培养可以正常萌发生长。

3.2 茎尖培养

在石斛快速繁殖中, 由于腋芽来源方便、广泛, 再生能力强, 可利用带芽的茎切段为外植体培养。取茎基部的分蘖芽或茎的顶芽均可, 前者好于后者。比较适宜的培养基有 MS、B₅、N₆、1/2MS、KC (Knudson)、W (White)、VW (Vacin and Went); 激素种类常用 NAA、BA; 附加物用马铃薯汁、椰乳、香蕉汁等。

接种块的大小在 0.2~0.3cm³ 较适宜, 过大会增加污染^[27]。带 1~2 个叶原基的茎圆锥成活率高^[26]。材料选择优良单株的嫩芽(5cm 以下), 用 0.1% 升汞进行 2 次消毒, 成活率可达 80% 以上^[27]。毛碧增^[28]研究, 春石斛 'White Christmas' 茎段以 0.1% 升汞 6min 对外植体消毒, 嫩茎成活率最高, 而对老茎则 8min 成活率最高, 在无菌条件下, 将无菌茎段切成 0.3~0.5cm 长的单芽小段, 插入 1/2MS+BA1.0mg/L+NAA0.5mg/L 培养基中, 诱导不定芽为好。

高培元^[29]研究, 金钗石斛 (*D. nobile*) 2 年生茎段培养于 1/2MS+NAA0.1mg/L+BA1mg/L+50% 香蕉汁 100mg/L+蔗糖 25mg/L+活性炭 0.5mg/L 的培养基中腋芽萌发较好; 附加 BA0.5mg/L 和蔗糖 25g/L 利于诱导丛生芽。茎尖培养的最佳培养基为 MS+BA4.0mg/L+NAA1.0mg/L+KT1.0mg/L。杨其光^[30]取 0.1~0.2cm 长的茎尖, 接种于 KC+NAA0.1mg/L+BA0.5mg/L 培养基上, 培养约 2 个月长成 1~2cm 长的新枝。

3.3 原球茎增殖

通过原球茎的诱导和增殖, 是石斛大量繁殖的最快最好的方法。原球茎分化出叶就切成片, 在培养基中培养, 增值形成新的原球茎。原球茎分化出茎和叶后, 可以用叶、茎来增殖。当侧芽长成半球型时, 切去鳞片状叶, 把芽培养在培养基中, 诱导侧芽分化原球茎。

王春^[31]认为在 MS+BA2.0mg/L+NAA0.5mg/L+CH1.0g/L 中, 石斛兰的原球茎 (PLB) 易保持原形态增殖, 加入 NAA 时对 PLB 分化有促进作用。王光

远^[32]以铁皮石斛种子进行离体培养, 在 MS 培养基上添加 NAA0.5mg/L, 暗处培养 7d 后产生大量的愈伤组织。转入光照培养后, 原球茎大量发生。高培元^[29]试验发现金钗石斛在 MS 培养基附加 BA0.5mg/L、NAA0.2mg/L 诱导分化最佳, 附加 BA3.0mg/L、NAA0.5mg/L 增殖最适。

查学强^[33]对霍山石斛原球茎继代增殖培养中, 发现石斛原球茎生长的基本培养基为 SH、1/2MS, 适宜蔗糖浓度为 30g/L, 较低或较高浓度都不利于原球茎生长。张治国^[20]认为铁皮石斛原球茎增殖的适宜条件为 1/2MS, 添加 3% 蔗糖、0.8% 的琼脂。

3.4 幼苗分化、壮苗

王春^[31]研究表明, MS+BA0.5mg/L+NAA0.5mg/L+CH1.0g/L 利于春石斛的原球茎分化成幼苗, 1/2MS+IBA0.3mg/L+活性炭可促进根的生成和生长。当苗长 2~3cm 时, 接种到 1/2MS+IBA0.2mg/L 生根培养基中, 生根后移栽。麦小燕认为 1/2MS+IBA2mg/L+香蕉泥 100g/L 生根效果最好。李任珠等^[34]降低培养基离子浓度, 去掉分裂素类激素, 并降低生长素类浓度利于幼苗分化, 壮苗培养基中加入 5%~10% 马铃薯提取液和 5%~10% 香蕉汁较适宜。张玲^[20]认为 N₆ 培养基对铁皮石斛幼苗的生长适宜。

张治国^[20]认为铁皮石斛壮苗的适宜条件为: 1/2MS 培养基+10% 香蕉提取液+NAA0.2mg/L, 蔗糖浓度为 2%。赵天榜^[19]在铁皮石斛和曲茎石斛的胚培养试验中, 认为 N₆、MS 分化生根较好; 在 1/2N₆ 培养基上, 添加 NAA1mg/L+BA0.25mg/L+香蕉汁 150mg/L 生长效果最好。

刘骅^[35]认为铁皮石斛壮苗以 B₅ 或 1/2MS 添加 NAA2mg/L 和 10% 香蕉水提取液为好。高培元^[29]认为 MS+IBA0.3mg/L+NAA0.1mg/L 对金钗石斛生根最适, 成苗以 MS+NAA0.1mg/L+BA1mg/L 最好。

为了简化程序和降低成本, 采用 1mg/L 的兰花专用肥 20 20 20 或 21 21 21 培养基, 来培养石斛的幼苗, 使培养基的制备更加方便^[37]。苏振喜^[38]采用工业用的 20 20 20 的肥料作为培养基的大量元素, 同时添加医用复合维生素胶囊 1 粒/L, 可用于杂交种的商品化生产。组培过程中蔗糖可用食用白糖代替, 蒸馏水用冷开水来代替, 对杂交石斛兰试管苗的生长无明显影响^[34]。

4 基因工程方面研究进展

进入 20 世纪 90 年代, 有关石斛的研究扩展到

分子生物学领域,即利用基因工程手段在石斛中进行转基因研究^[39-41],国内外石斛花药培养,原生质培养等尚未见报道。

Yu 等^[42]采用 mRNA 差异显示法从石斛(*D. madame Thong-In*)中分离和鉴定 1 种兰花同源性基因 DOH1^[42]和 3 种兰花同源性基因 DOMADS1, DOMADS2 和 DOMADS3^[43]。并对转录起始位点上游的 DOMADS1 启动子片断进行了分离和测序。Yang 等^[45, 46]从杂种石斛(*D. sonia*)分离出 1 种新的细胞分裂素氧化酶基因 DSCKX1,并对其启动子进行测序和功能分析。

4.1 基因枪法

基因枪法获得石斛转基因植物也已实现。Kuchnle 等^[48]采用微粒轰击法将 Nos NPT 基因和番木瓜病毒膜蛋白基因(PRVCp)导入杂种石斛的原球茎,在附加 2%葡萄糖和 50~100mg/L 硫酸卡那霉素的 1/2MS 培养基上检验,PCR 分析表明,有 2 次杂交得到了 13 株卡那霉素耐受性植株带有 Nos NPT 基因。Chia 等^[49]成功将荧光素酶基因(Luc)通过钨粒子微弹射击导入石斛类原球茎,从转化的石斛兰组织中获得植株再生。Yu 等^[50]以潮霉素磷酸酶基因 HPT 代替卡那霉素,发展了一个高频再生、高效而稳定表达的转化体系。研究表明:以原球茎为转化子,获得的转基因植株遗传特性可以稳定表达,这给转基因技术应用于兰花育种提供了可能。

4.2 根癌农杆菌介导法

Nan 等^[52]在石斛组织培养中发现类原球茎发育早期有大量的松柏醇产生,可诱导毒性基因的表达。将暗处培养的原球茎转入光照条件下培养,其含量增加了 6 倍,这使通过农杆菌介导法可获得转基因植物成为可能。关键在于与根癌农杆菌(*Agrobacterium tumefaciens*)共培养。Yu 等^[52]首先将经薄层切片处理的类原球茎与农杆菌在无抗生素的培养基上共培养 3d,光照 16h/d。此后在添加 50mg/L 羧苄青霉素的培养基上继续培养 21~28d。结果表明第 2 阶段最佳培养时间为 28d,200mg/L 卡拉霉素比较适用,培养 42~56d 后得到转基因植株。

Men 等^[54]则以 HPT 为选择基因,GUS 为报告基因,构建了二元载体 pCAMBIA1301。根癌农杆菌在含 100 μ mol/L 乙酰丁香醇(Acetosyringone)培养基上预培养 2~3d 后,与金钗石斛类原球茎共培养;当观察到根癌农杆菌时,转入含有 30mg/L 潮霉素

和 250mg/L 头孢氨苄唑(Cefotaxime)的培养剂中进行筛选;增殖的类原球茎需进行多次潮霉素抗性筛选。Southern 杂交和组织化学分析表明,外源基因已整合并获得表达,其转化率达 18%。

5 小结与展望

5.1 根菌技术和试管苗移栽

潘超美等^[54]从野生建兰和墨兰根中分离、纯化培养收获 4 种菌株,发现其真菌诱导子对铁皮石斛组织培养物(愈伤组织、拟原球茎以及不定芽)的生长均有不同程度的促进作用。

郭顺星等^[55]从野生铁皮石斛和金钗石斛根中分离获得内生真菌 25 种,其中 5 种真菌可促进铁皮石斛种子萌发;7 种真菌可与铁皮石斛和金钗石斛幼苗形成共生关系。因此,分离和筛选促进石斛生长发育的适宜菌根真菌,可能是提高试管苗移栽成活率、解决石斛生产的关键所在。

5.2 发展新的技术和方法,推动石斛产业发展

组织培养已在兰花生产中广泛使用,并且不断有改进的技术和新方法推出。与薄层切片培养 TCS 相同,薄层细胞培养(Thin Cell Layer, TCL)为另一种高频、快速增殖再生植株的技术,该方法同样适用于兰科植物的许多属种,但尚未在石斛上应用^[56]。

5.3 加强组织培养次生代谢产物研究

直接以组织培养物替代使用原药材或者生产活性成分也是解决石斛资源短缺的方法之一,但目前涉及到该方面的研究还很少^[57-60]。深入了解次生代谢产物的产生及积累动态,通过调控培养条件、添加前体化合物、真菌诱导子等方法提高活性成分的产量,以探讨组织培养物代替药材使用的可能性;建立有效的生物反应器,直接生产活性成分。

5.4 开展石斛遗传育种研究

兰花种子无菌萌发育苗技术使得兰花品种间、种间及属间的杂交育种成为可能。离体培养中高浓度的激素可诱导组织发生变异。试管开花技术如能诱导转化组织再生的转基因植株开花结实或提供获利较高的花粉,这将极大地缩短育种进程,为培育新品种提供了高效、安全的育种途径。

5.5 展望

石斛为世界四大热带兰之一,不同种或品种之间,其观赏价值可能有很大区别。离体扩繁技术为石斛种质资源有效的保存和持续利用提供了可能;而通过遗传转化,导入花色、花期、株型等目的基

因,一方面可以提高和改善石斛兰的观赏价值,另一方面可以创造新品种,为石斛兰提供了丰富的育种资源。市场前景是相当广阔的。

参考文献:

- [1] 刘金.兰花[M].北京:中国农业出版社.1998.
- [2] 中国农业百科全书编辑部.中国农业百科全书(观赏园艺卷)[M].北京:农业出版社,1996.254-258.
- [3] 陈晓梅,郭顺星.石斛属植物化学成分和药理作用的研究进展[J].天然产物研究与开发,2001,13(1):70-75.
- [4] *Dendrobium.cuthbertsonii* 'Gold Mountain' . [EB/DL].Http://www.jgpweb.com/database/grandprix/index.html.2005-02-17.
- [5] 卢思聪.中国兰与洋兰[M].北京:金盾出版社,1994.
- [6] 曾宋君,胡松华.石斛兰[M].广州:广东科技出版社.2004.
- [7] 陈心启,吉占和.中国兰花全书[M].北京:中国林业出版社.1998.222-223.
- [8] 卢思聪.春石斛——冬春季盆栽洋兰佳品[J].中国花卉盆景.2002,(3):4-5.
- [9] 乔佳伟.春石斛栽培要点[J].中国花卉园艺,2005,(8):18-20.
- [10] 乔家伟.兰花新秀——春石斛[J].中华园艺,2004,(11):78-80.
- [11] 李振坚,王雁.春石斛的花期调控[J].中国花卉园艺,2005,(8):20-23.
- [12] 唐树梅,漆智平.石斛兰营养特性及施肥技术初探[J].园艺学报,1999,26(3):184-187.
- [13] 王康正,范磊,高文远,等.药用石斛栽培的研究概况[J].中国中药杂志,1998,23(6):340-343.
- [14] 陈仕江,张明,等.金钗石斛生长的最适光温研究[J].中国中药杂志,2002,27(7):509-510.
- [15] More G M.Producing virus free Cymbidiums [J].Am Orchid Soc Bull, 1960,29:495-497.
- [16] Sagawa Y and Shoji T.Clonal Propagation of *Dendrobium* through Shoot Meristem Culture [J].Amer Orchid Soc Bull, 1967, (36):856-859.
- [17] Kim k k, kunisaki J T and Sagawa Y. Shoof- tip Culture of *Dendrobium*[J]. Amer Orchid Soc Bull, 1970, (39): 1077-1080.
- [18] 徐云鹃,等.霍山石斛种子的萌发和试管苗的培养[J].安徽农学院学报,1984,(1):48-52.
- [19] 赵天榜,陈志秀,陈占宽,等.石斛组织培养与栽培技术的研究[J].河南农业大学学报,1994,28(2):128-130.
- [20] 张玲,张治国.铁皮石斛种子试管苗适宜培养基研究[J].浙江省医学科学院学报,1997,8(1):4-6.
- [21] 邢福桑,冯锦东,刘凌峰,等.铁皮石斛栽培技术的研究概况[J].时珍国医国药,2002,13(9):559.
- [22] 曾宋君,程式君,张京丽,等.五种石斛兰的胚培养及其快速繁殖研究[J].园艺学报,1998,25(1):75-80.
- [23] 毛秀华,金家兴.环草石斛种子萌发培养的研究[J].贵州农业科学,2004,32(3):13-19.
- [24] 叶秀麟,程式君.黑节草未成熟种子的形态发育及其在离体培养时的表现 [J]. 云南植物研究,1988,10(30):285.
- [25] 罗岚,关仕港,刘建昌,等.秋石斛离体快速繁殖研究[J].佛山科学技术学院学报(自然科学版),2004,22(2):69-71.
- [26] 黄萍萍,潘伟彬,张永柏,等.石斛兰组培快繁研究初探[J].闽西职业大学学报,2003,8(3):85-86.
- [27] 黄志明,林庆良,余惠敏,等.蝴蝶石斛组培快繁研究初探[J].闽西职业大学学报,2003,9(3):22-26.
- [28] 毛碧增,李凤玉,王春,等.春石斛组织培养技术研究[J].浙江大学学报(理学版),2003,(2):580-583.
- [29] 高培元,陈建妙.金钗石斛的茎段组织培养与植株再生[J].中草药,2002,(11):1031-1033.
- [30] 杨其光,王立安.霍山石斛未成熟种胚的离体培养研究[J].中国中药杂志,1989,(3):19-20.
- [31] 王春.石斛兰组织培养及快繁技术研究[J].浙江林业科技,2002,22(2):39-40.
- [32] 王光远,蔡南海,许智宏,等.石斛离体培养中ABA对诱导花芽形成的影响[J].植物学报.1995,37(5):374-378.
- [33] 查学强,罗建平.霍山石斛原球茎液体培养的营养调节[J].合肥工业大学学报,2004,(1):53-57.
- [34] 李任珠,刘国民,潘学峰,等.杂种石斛兰组织培养的研究[J].海南大学学报(自然科学版),1995,13(4):315-318.
- [35] 刘骅,张治国.叠鞘石斛的种子萌发和试管苗形成[J].现代应用药学,1989,6(5):8-9.
- [36] 徐红,刘峻,王峥涛,等.鼓槌石斛组织培养研究[J].中国中药杂志,2001,6(6):378-381.
- [37] 王军利,陈己任,李建国,等.石斛兰(*Dendrobium formosum*) 幼苗培养基研究[J].中国农学通报,2004,20(4):209-210,271.
- [38] 苏振喜,ChitrapanPiluek.石斛兰试管苗分化及育苗的简易培养基研究[J].西南农业大学学报,2003,16(2):120-122.
- [39] Kuehnle A R,Sugii N.Transformation of *Dendrobium* orchid using particle bombardment of protocorms [J]. Plant Cell Rep, 1992, 11(9):484-488.
- [40] Chia T F, Chan Y S, Chua N H. The firefly luciferase gene as a non -invasive reporter for *Dendrobium* transformation[J]. Plant J, 1994, 6(3):441-446.
- [41] Nan G L, Tang C S, Kuehnle A R, et al. *Dendrobium* orchids contain an inducer of *Agrobacterium* virulence

- genes[J].Physiol Mol Plant Pathol, 1997, 51(6): 391-399.
- [42] Yu H,Goh C J.Differential Gene expression during floral transition in an orchid hybrid *Dendrobium madame* Thong- In[J].Plant cell Rep,2000,19,926- 931.
- [43] Yu H,Yang S H,Goh C J.DOH1 a class 1 know gene,is required for maintenance of the basic plant architecture and floral transition [J].The Plant cell,2000,12,2143- 2159.
- [44] Yang S H,Goh C J.Identification and characterization of three orchid MADS -box genes of the AP1/AGL9 subfamily during floral transition [J].Plant Physiol,2000, 123:1325- 1336.
- [45] Yu H,Yang S H,Goh C J.Spatial and tempotal expression of the orchid floral homeotic gene DOMADS1 is mediated by its upstream regulatory regions [J].Plant Molecular Biology,2002,49:225- 237.
- [46] Yu H,Yang S H,Goh C J.Isolation and characterization of the orchid cytokinin oxidase DSKX1 promoter [J]. Journal of Experimental Botany,2002,53:1899- 1907.
- [47] Yu H,Yang S H,Goh C J.Functional characterisation of a cytokinin gene DSKX1 in *Dendrobium* orchid[J].Plant Molecular Biology,2003,51:237- 248.
- [48] Kuchnle A R.Transformation of *Dendrobium* orchid using particle bombardment of protocorm[J].Plant Cell Reports, 1992,11(9):484- 488.
- [49] Chia T F,Chan Y S,Chua N H.The firefly gene as a no-invasive reporter for *Dendrobium* transformation[J].Plant Journal,1994,6(3):441- 446.
- [50] Yu Z H,Chen M Y,Nie L.Recovery of transgenic orchid plants with hygromycin selection by particle bombardment to protocorms [J].Plant Cell Tissue and Organ Culture,1999,58:87- 92.
- [51] Nan G L,Tang C S,Kuehnle A R,Kado C I. *Dendrobium* orchids contain inducer of *Agrobacterium* virulence genes [J].Physiological and Molecular Plant Pathology,1997,51 (6):391- 399.
- [52] Yu H,Yang S H,Goh C J. *Agrobacterium*- mediated transformation of a *Dendrobium* orchid with the class 1 knox gene DOH1 [J].Plant Cell Reports,2001,20:301- 305.
- [53] Men S Z,Ming X T,Liu R W. *Agrobacterium*- mediated genetic transformation of a *Dendrobium* orchid[J].Plant Cell,Tissue and Organ Culture,2003,75:63- 71.
- [54] 潘超美,贺 红,林群英,等.真菌诱导子对铁皮石斛组培物生长的影响[J].中医药学报,2004, 22(1): 54- 55.
- [55] 郭顺星,曹文岑,高微微.铁皮石斛及金钗石斛菌根真菌的分离及其生物活性测定[J].中国中药杂志,2000, 25(6): 338- 341.
- [56] Van Le,B Anh Hong,LT Thanh Van.High frequency shoot regeneration from *Rhynchostylis gigantea*(Orchidaceae) using thin cell layers [J].Plant Growth Regulation,1999, 28(3):179- 185.
- [57] 黄民权,卢应京.石斛愈伤组织培养物的药用前景探讨 [J].中药材,1998,21(11): 543- 545.
- [58] 陈连庆,裴致达,韩宁林,等.三种石斛菌根形态结构及元素构成的研究[J].林业科学研究,2002, 15(1): 96- 100.
- [59] 顾慧芳,忻晓君,周文婷,等.铁皮石斛试管苗快速生长与栽培研究及多糖含量测定[J].中成药,1999, 21(12): 658- 659.
- [60] 徐 红,刘 俊,王峥涛,等.5种石斛及其组织培养物对活性氧的清除作用[J].中国野生植物资源,2001, 10(1): 35- 37.
- [61] 罗天相.花卉设施栽培中的水分因素[J].内蒙古农业科技,2003, (4): 25, 43.
- [62] 符国红.浅谈观赏花花期控制的几种方法[J].内蒙古农业科技,2005, (5): 61.
- [63] 苏 慧,等.长寿花快繁体系的建立[J].内蒙古农业科技,2005, (2): 23- 25.
- [64] 张树军,等.矮牵牛的组织培养与快繁[J].内蒙古农业科技,2001, (4): 5- 6.
- [65] 贾利敏,等.玉米组织培养和植株再生的研究现状[J].内蒙古农业科技,2002, (3): 10- 13.
- [66] 曹丽霞,应答非生物胁迫的植物转录因子[J].内蒙古农业科技,2005, (5): 10- 14.
- [67] 张淑琴.转基因植物在现代农业生产中的应用[J].内蒙古农业科技,2000, (增刊): 173- 174.
- [68] 滕文星,等.利用生物技术进行玉米育种的探讨[J].内蒙古农业科技,2002, (3): 13- 14.
- [69] 赵士杰,等.VA 菌根真菌抗旱菌株筛选[J].内蒙古农业科技,2001, (6): 35, 47.