

赵 垚,曹小勇,杨国鹏,等. 白芨种子在 3 种介质上萌发及生长比较[J]. 江苏农业科学,2021,49(4):87-92.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2021.04.017

白芨种子在 3 种介质上萌发及生长比较

赵 垚,曹小勇,杨国鹏,胡选萍,蒋景龙,秦公伟

(陕西理工大学生物科学与工程学院/陕西省资源生物重点实验室,陕西汉中 723000)

摘要:以 MS 固体培养基、液体培养基和泥炭基质为培养介质,利用体视显微镜观察并拍照比较白芨种子在 3 种介质上萌发及生长发育的差异。结果表明:(1)种子在固体培养基和泥炭基质上萌发过程相似,顺次形成绿色原球茎-叶片-不定根;在泥炭基质上不定根及假鳞茎发生均迟于固体培养基,但叶片生长较快,当不定根在茎节基部发生时原球茎基本消失;(2)在液体培养基中种子萌发后,原球茎膨大形成类似假鳞茎的储藏性结构;播种 15 d 后统计发现,白芨种子在固体培养基中萌发率为 80.67%,液体培养基中为 89.33%,泥炭基质中为 62.67%。结果表明,3 种不同培养基质的发育模式存在差异,白芨原球茎是一种类似胚胎的结构,在后续发育中可以消失,也可以形成储藏性结构;MS 液体培养基培养在不转接情况下可得到大量原球茎,MS 固体培养基和泥炭基质培养均可得到白芨幼苗,泥炭基质培育过程简单,可大量繁殖。

关键词:白芨;原球茎;泥炭;真根;假鳞茎;MS 培养基;泥炭基质

中图分类号:S567.23⁺9.01 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2021)04-0087-06

白芨 [*Bletilla striata* (Thunb.) Reichb. f.] 为兰科白芨属多年生宿根草本植物,其花大色艳,且有

肥厚肉质的可供药用的块茎,具有收敛止血,消肿生肌等功效,用于治疗咯血、吐血、外伤出血、疮疡肿毒、皮肤皲裂等症状^[1]。白芨不仅药用价值高,观赏价值也高^[2],也是我国现代医药工业^[3]和化妆品工业的重要原材料^[4]。目前白芨种苗繁殖有 3 种方式:(1)分株繁殖,这是种植户采用的主要繁殖方式,利用无性繁殖方式逐步积累种苗,该方式存在繁殖速度慢、繁殖系数低、耗种量大,还与用药争

收稿日期:2020-06-03

基金项目:陕西省教育厅重点实验室科研计划(编号:18JS017)。

作者简介:赵 垚(1994—),女,陕西汉中,人,硕士研究生,主要从事植物生物技术研究。E-mail: 752601809@qq.com。

通信作者:曹小勇,硕士,教授,硕士生导师,主要从事植物生物技术研究。E-mail: caoxiong@163.com

[6]索风梅,丁万隆,陈士林. 基于 TCMGIS-I 的金莲花数值区划研究[J]. 世界科学技术(中医药现代化),2011,13(1):109-112.

[7]卢有媛,郭 盛,严 辉,等. 金莲花生态适宜性区划研究[J]. 中国中药杂志,2018,43(18):3658-3661.

[8]陈陆丹,胡 苑,李单琦,等. 珍稀濒危植物野生莲的适生分布区预测[J]. 植物科学学报,2019,37(6):731-740.

[9]徐 军,曹 博,白成科. 基于 MaxEnt 濒危植物独叶草的中国潜在适生分布区预测[J]. 生态学杂志,2015,34(12):3354-3359.

[10]马松梅,张明理,张宏祥,等. 利用最大熵模型和规则集遗传算法模型预测孑遗植物裸果木的潜在地理分布及格局[J]. 植物生态学报,2010,34(11):1327-1335.

[11]Phillips S J, Miroslav D. Modeling of species distributions with Maxent: new extensions and a comprehensive evaluation [J]. Ecography,2008,31(2):161-175.

[12]Stockwell D. The GARP modelling system: problems and solutions to automated spatial prediction [J]. International Journal of Geographical Information Science,1999,13(2):143-158.

[13]张佳琦,徐振朋,宛 涛,等. 未来气候条件下裸果木在中国的潜在分布区研究[J]. 植物资源与环境学报,2019,28(3):51-57.

[14]阿尔曼·解思斯,努尔巴依·阿布都沙力克,迈迪娜·吐尔逊,等. 基于最大熵模型(Maxent)预测沙生怪柳潜在地理分布及格局[J]. 江苏农业科学,2019,47(2):91-94.

[15]刘瑞斌,姜小龙,戴锡玲,等. 铁橡栎的潜在分布区及其对气候变化的响应[J]. 植物资源与环境学报,2019,28(1):85-95.

[16]厉静文,郭 浩,王雨生,等. 基于 MaxEnt 模型的胡杨潜在适生区预测[J]. 林业科学,2019,55(12):133-139.

[17]王运生,谢丙炎,万方浩. ROC 曲线分析在评价入侵物种分布模型中的应用[J]. 生物多样性,2007,15(4):365-372.

[18]赵 力,朱耿平,李 敏,等. 入侵害虫西部喙缘蝽和红肩美姬缘蝽在中国的潜在分布[J]. 天津师范大学学报(自然科学版),2015,35(1):75-78.

[19]李永宁,程 旭,于 泊,等. 冀北山地金莲花生境类型与分布特征研究[J]. 河北林果研究,2009,24(1):51-52.

[20]吴能表,谈 锋,肖文娟,等. 光强因子对少花桂幼苗形态和生理指标及精油含量的影响[J]. 生态学报,2005,25(5):1159-1164.

[21]黄璐琦,苏钢强,张小波,等. 中药材产业扶贫重点优先区域划分和推荐种植中药材名录整理[J]. 中国中药杂志,2017,42(22):4319-4328.

夺原料等问题,长期无性繁殖引起病原体积累、种质退化^[5]; (2) 植物组织培养,主要以种子在固体培养基上无菌萌发形成幼苗^[6],或先利用液体悬浮培养得到大量原球茎,再转移至固体培养基培养,形成幼苗^[7-8]; (3) 种子繁殖,白芨种子非常细小且数量巨大,但成苗时间长,影响因素多,稳定性差,成苗率低^[9],因此在自然条件下白芨种子繁殖较少^[10]。

目前,袁宁等对白芨种子在固体培养基上的无菌萌发进行了报道,利用白芨种子在固体培养基中的萌发得到白芨试管苗,经炼苗、移栽得到白芨幼苗^[6,11-14]。王楷等对白芨种子在液体培养基中的萌发过程也进行了报道,主要利用白芨种子在液体培养基中萌发得到原球茎,再转接至相应的固体培养基中成苗,最后进行炼苗、移栽,形成白芨幼苗,但未对原球茎后续发育进行观察^[7-8]。另外白芨种子在泥炭中萌发生长变化的过程未见报道。鉴于此,本研究在建立白芨种子离体培养(包括 MS 固体、液体培养)的基础上,与泥炭中白芨种子的萌发过程进行比较观察,以了解白芨种子在不同培养基中发育模式的差异,探讨白芨种子适宜的播种基质,为进一步了解兰科植物种子萌发生物学特性积累资料。

1 材料与方法

1.1 材料

本研究所用白芨蒴果于 2018 年 9 月采自陕西省汉中市留坝县(33°37.516'N,106°54.958'E),海拔(972.2±6.2) m 的白芨栽培基地,采摘后放入牛皮纸袋,5℃冷藏待用。

1.2 种子在 3 种培养介质中培养及观察

本试验于 2019 年 5 月在陕西理工大学生物科学与工程学院组织培养室进行,选取白芨未开裂蒴

果用 75% 乙醇处理 60 s,10% NaClO 溶液处理 20 min 后,用无菌水冲洗 3 次。本试验采用的基本培养基为 MS 培养基,加入 25 g/L 蔗糖(固体培养基加 7 g/L 琼脂),pH 值 5.8~6.0。无菌条件下将约 100 粒种子分别接入 MS 固体培养基和液体培养基中,每个处理重复 4 次,液体培养基进行静置培养;泥炭基质是在 20 cm×20 cm 的塑料盆中均匀铺 1 层厚约 1.5 cm 的丹麦 Pindstrup 泥炭土(直径 0~10 mm),将约 300 粒种子均匀散布在泥炭表面,喷水,用保鲜膜封住塑料盆口。所有处理的培养温度为(25±2)℃,光照度为(2 500~3 000) lx,光照时间为 12 h/d。在培养 7、15、30、45、60、120、150 d 时用 Leica M205C 体视显微镜观察并拍照记录发育过程。15 d 统计白芨种子萌发率,取约 50 粒种子进行测量统计萌发变绿的种子数量,各重复 3 次;计算公式:萌发率=(萌发种子数/50)×100%;15 d 后测量不同处理原球茎大小、叶片长度及真根长度,每个处理每次取样 30 个,重复 3 次。

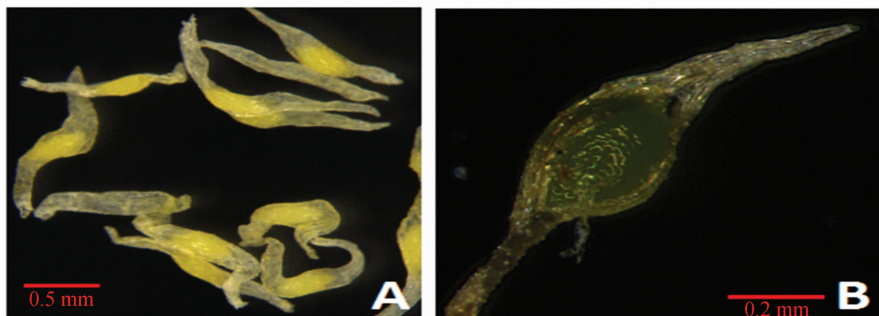
1.3 数据处理

试验结果用 Digimizer 进行数据测量,使用 SPSS 21.0 进行数据统计分析。

2 结果与分析

2.1 白芨种子在 3 种介质上的萌发生长

种子在 3 种介质上萌发初期的发育过程相近,白芨种子细小呈纺锤形,种胚呈淡黄色,处于原胚阶段,培养 3 d 后种胚转变为淡绿色(图 1-A),7 d 后绝大多数种胚变绿、突破种皮并在原球茎基部出现假根(图 1-B);15 d 时原球茎顶端生长锥逐步发育形成叶原基,平均长度 0.4 mm,其长度约是原球茎直径的 1/2。



A—培养 3 d 时种胚吸水膨胀呈淡绿色; B—培养 7 d 时种皮破裂,胚体整体变绿

图 1 白芨种子在 MS 液体培养基中光照下萌发

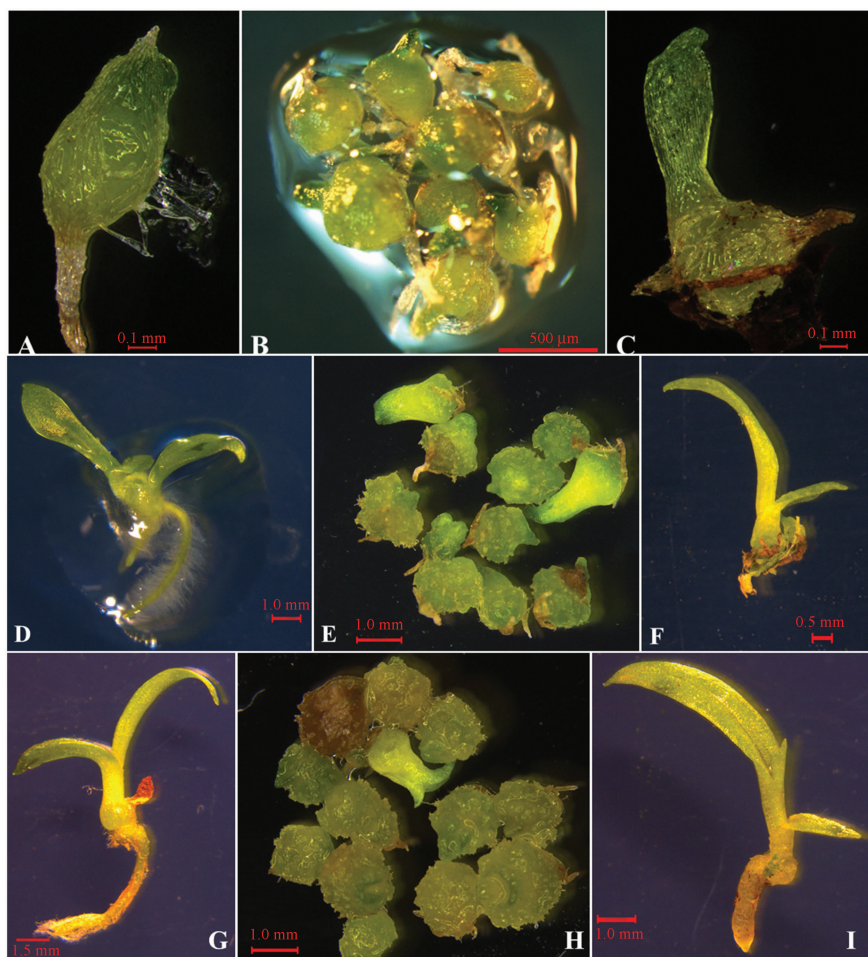
2.2 白芨种子在 3 种培养基中发育过程比较

白芨种子在 3 种培养基中的发育过程见图

2、表 1,白芨种子接种 15 d,3 种培养基中的种子均已发育成原球茎,并且长出叶原基(图 2-A、图

2-B、图 2-C), 液体培养基中原球茎及叶片均明显小于固体培养基和泥炭基质; 此时, 统计白芨种子萌发率: 固体培养基为 $(80.67 \pm 3.06)\%$, 液体培养基为 $(89.33 \pm 6.43)\%$, 泥炭基质为 $(62.67 \pm 5.03)\%$; 接种后 30 d, 原球茎快速增大, 叶片增长, 其中液体培养基原球茎增幅最大, 达到 242%, 原球茎直径已超过固体培养基和泥炭基质; 泥炭基质中叶片生长最快, 增幅达 496%, 显著高于 MS 培养基 ($P < 0.05$); 接种后 45 d, 3 种介质中原球茎大小相近; 叶片生长差异较大, 与接种 30 d 相比, 叶片在泥炭基质中生长最快, 其次是固体培养基, 液体培养基中生长最慢, 仅增长了 22%; 同时, 固体培养基和

泥炭基质中白芨均发育出真根(图 2-D、图 2-F), 但在固体培养基中真根长度和数量均大于在泥炭基质中, 而液体培养基中没有真根出现(图 2-E); 接种后 60 d, MS 液体培养基原球茎持续增大(图 2-H), 而泥炭基质中原球茎逐渐消失(图 2-I); 液体培养基中叶片比固体培养基和泥炭基质中明显较短(图 2-H); 真根在固体培养基中生长迅速, 与 45 d 相比, 增长了 1.6 倍, 生根率达到 84.2%(图 2-G), 泥炭基质中真根生长缓慢, 生根率仅 21.4%, 后期统计发现, 80 d 时泥炭基质中生根率达到 81.1%, 液体培养基中没有典型真根出现(图 2-H)。



A~C—固体、液体、泥炭培养 15 d; D~F—固体、液体、泥炭培养 45 d;
G~I—固体、液体、泥炭培养 60 d

图2 3种培养基中白芨种子发育比较

2.3 白芨种子在 3 种培养基中后期生长状态

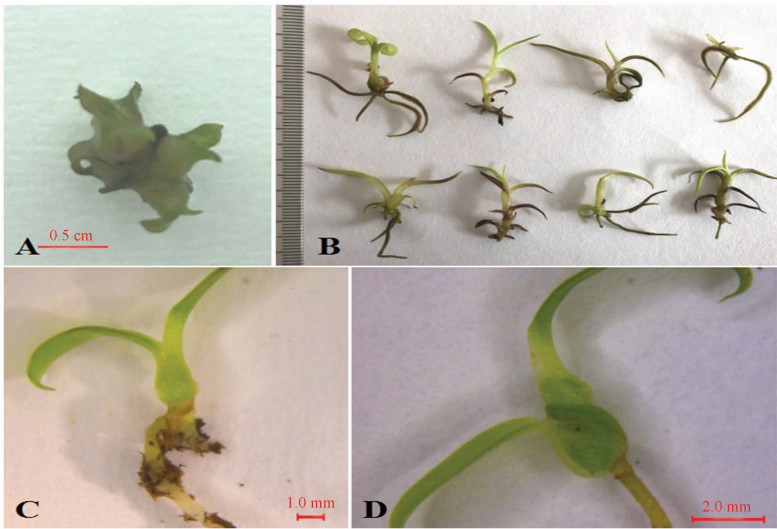
观察白芨种子培养后期发育过程, 种子在液体培养基中叶片生长受限, 不定根很少发生, 原球茎及叶片持续膨大, 形成肉质、半透明状态; 一些形成增殖(图 3-A), 类似分蘖现象; 在液体培养基中偶

然会出现少数个体, 形成叶片及不定根(图 3-B), 这种情况推测是在培养早期种子贴附在培养容器壁上, 改变了个体发育模式造成的。如图 3-C、图 3-D 所示, 泥炭基质培养 150 d 时开始出现二级生长点, 二级生长点的出现伴随早期叶片的衰老死

表 1 白芨种子在 3 种培养基中发育比较

项目	培养时间 (d)	MS 固体培养基	MS 液体培养基	泥炭基质
原球茎直径 (cm)	15	0.050 ± 0.013a	0.033 ± 0.011b	0.048 ± 0.013a
	30	0.102 ± 0.022a	0.113 ± 0.032b	0.109 ± 0.024ab
	45	0.134 ± 0.027a	0.125 ± 0.035a	0.133 ± 0.120a
	60	0.183 ± 0.038a	0.166 ± 0.041a	*
叶片长度 (cm)	15	0.024 ± 0.012a	0.011 ± 0.009b	0.029 ± 0.007a
	30	0.073 ± 0.023a	0.069 ± 0.033a	0.173 ± 0.060b
	45	0.224 ± 0.114a	0.084 ± 0.041b	0.555 ± 0.171c
	60	0.694 ± 0.221a	0.213 ± 0.094b	0.756 ± 0.141a
真根长度 (cm)	45	0.236 ± 0.049a	/	0.070 ± 0.026b
	60	0.620 ± 0.269a	/	0.086 ± 0.033b
生根率 (%)	45	16.7	/	7.9
	60	84.2	/	21.4

注：* 表示基部没有典型的原球茎；/ 表示没有典型的真根。同行数字后不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。



A—液体培养 120 d；B—液体培养 150 d；C—泥炭培养 120 d；D—泥炭培养 150 d

图3 白芨种子培养后期发育状态

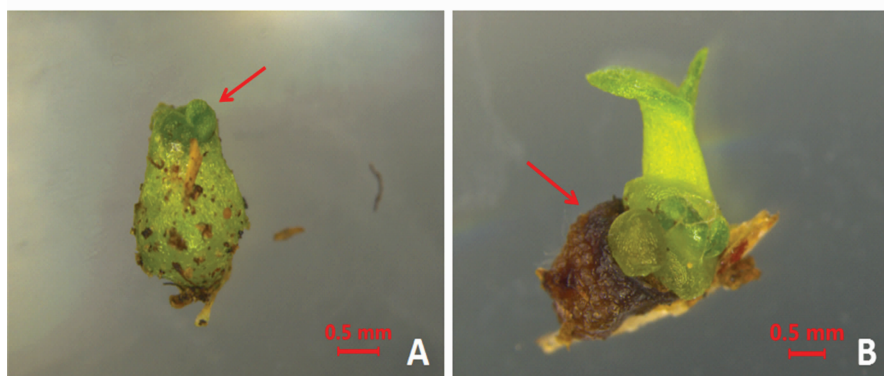
亡,原球茎上最早形成的叶片最先开始衰老,接着是第 2 片叶,以此类推,此时假鳞茎出现率超过 90%;白芨种子在固体培养基中培养 120 d 时三角瓶中的固体培养基即将耗完,部分白芨幼苗基部原球茎消失,但多数存在,无假鳞茎出现。

将液体培养呈膨大状原球茎播种到泥炭基质上时,在其顶部形成一个或多个新的子代原球茎(图 4 - A),伴随子代原球茎生长,原来膨大状母原球茎整体衰老死亡(图 4 - B)。白芨种子泥炭培养后期,生长良好。

3 结论与讨论

MS 培养基营养丰富,能够在植物胚、原球茎等

培养中取得较好效果^[15],液体培养基适用于植物细胞悬浮培养^[16-17],泥炭土含有丰富的有机质,可以作为细小种子萌发的基质。利用 MS 固体培养基培养白芨种子的报道很多,张燕等研究发现,白芨种子萌发时首先种胚吸水膨大,颜色转绿,进而突破种皮形成原球茎,原球茎长出叶片和根,部分原球茎转变为根状茎,最后成苗^[11,18]。聂宁等通过细胞组织学观察白芨种子的萌发过程,提出白芨种子的发育过程要经过种胚、原球茎、根状茎和假鳞茎 4 个阶段^[19]。本研究观察了白芨种子在不加激素的培养介质中发育的过程发现,首先白芨种子种胚吸水膨胀,接着种胚转绿并且突破种皮形成原球茎,叶原基形成并逐渐长出叶片,15 d 时萌发率达 80.67%,



A—新的原球茎在膨大的母原球茎顶部发生(箭头);
B—随着新原球茎生长, 母原球茎整体衰老(箭头)

图4 液体培养基培养 60 d 形成的膨大原球茎, 转移到泥炭上生长 45 d

未能 100% 萌发, 可能原因是消毒过程中氯化汞对部分种子毒害较大, 少数种子未能接触到培养基表面, 吸收营养不够。原球茎增长迅速, 当 45 d 左右长出 2 张叶, 同时出现真根, 60 d 时生根率达到 84.2%; 在固体培养基上由于培养基提供额外营养, 白芨种子不定根和假鳞茎发生时间早于泥炭基质上的, 不定根发生时原球茎尚未完全消失; 而在泥炭上叶片生长速度较在固体培养基上的快; 在泥炭上当幼苗形成第 3 张叶片、原球茎基本消失时, 根在茎节基部发生; 原球茎消失, 意味着原来储藏其中的营养物质已经全部转移。王楷等利用液体培养得到白芨原球茎, 进而转接到不同的固体培养基中进行培养, 最后得到白芨幼苗, 因液体培养可以大量得到白芨原球茎, 所以此方法可以快速得到较多白芨幼苗^[7-8]。本研究发现, 在液体培养基中白芨种子萌发后叶片生长受阻, 不定根未发生, 原球茎及叶片持续膨大形成肉质、半透明状态; 当播种到泥炭上时, 顶部形成新的原球茎, 随着其生长, 原来的母原球茎衰老, 这个现象显示, 液体中生长形成的膨大状原球茎整体上转变成成为储藏性组织, 呈现为假鳞茎状态。结果显示原球茎作为兰科植物种子萌发形成幼苗的一个中间形态, 其留存时间与个体营养状态有关, 也与生长环境相关。

原球茎最早由 Treub 提出, 用于描述石松 (club-moss) 胚萌发形成下侧具毛的块茎状结构, Balfour 将此概念用于表示兰科植物种子萌发形成的小的、球形、块茎状的结构^[20-21]。原球茎后续发育形成幼苗有 2 个途径, 一是直接形成幼苗, 如附生型兰属植物冬凤兰 (*Cymbidium dayanum*); 二是转变成根状茎, 然后由根状茎发育形成幼苗, 如建兰 (*C.*

ensifolium)、春兰 (*C. goeringii*)、墨兰 (*C. sinense*)、纹瓣兰 (*C. aloifolium*)^[22]。相关研究者对于原球茎是属于幼苗还是胚仍然存在不同看法, 大多数研究者认为是幼苗, 如 Batygina 等也有认为是胚的, 郭顺星等也认为是^[23]。依据笔者所在课题组对白芨种子萌发的观察, 固体培养基及泥炭基质上, 叶片直接发育, 而在液体培养基中叶片发育成储藏性结构, 类似胚的子叶功能, 因此可以认为, 原球茎是一种过渡性结构, 原球茎更接近胚的状态。它反映的是植物发育模式的一个重要特征, 即具有更加高的可塑性以应对环境改变。

白芨在生长过程中可以产生大量种子, 但种子极微小, 结构简单, 无胚乳, 一般认为不具备自然萌发所需的养分, 种子繁殖较困难^[24]; 张建霞等研究发现, 白芨种子胚细胞中富含淀粉及大量贮藏物质, 这些物质作为种子萌发所需的营养被分解代谢, 在种子结构简化, 无胚乳的兰科植物种子中, 白芨种子是常规条件下容易萌发的类型^[25]。李青凤对白芨原生地萌发研究发现, 白芨种子在室外通过覆土、覆草可与共生菌作用得到白芨幼苗^[26]。牛俊峰等选择树皮粉、腐殖质、营养土、鸡粪和草炭土按体积比为 15 : 20 : 8 : 1 : 5 配成的育苗基质, 控制空气温度 20 ~ 35 ℃、湿度为 60% ~ 80%, 定期喷洒营养液, 白芨种子萌发率可达到 69.7%, 其所用草炭土就是本研究中的泥炭土^[27]。本研究利用泥炭基质进行白芨种子萌发试验, 取得良好效果, 种子萌发率可达 62.67%, 略低于牛俊峰等报道的萌发率, 但成本更低, 过程更加简单。培养 30 d 可形成 2 张叶, 60 d 叶片平均长度是固体培养基的 1.09 倍。45 d 左右真根开始生长, 到 80 d 真根率达到 80%

以上。泥炭中营养物质对比 MS 培养基较为匮乏,白芨种子萌发变绿后营养来源主要是光合作用,其根的生长速度在一定程度上和叶片生长相关,在出现第 2 张叶时真根开始生长。泥炭中白芨幼苗在后期继续培养中,120 d 出现假鳞茎,150 d 假鳞茎表面出现新的生长点,此生长点发育为另一假鳞茎。1 个老的假鳞茎后期可能长出 1~3 个新的假鳞茎,在其上重新开始分化出叶片和根。同时营养物质偏向于运输至新的分生组织,造成原有的叶从第 1 张开始衰老死亡。说明白芨种子在泥炭中直接播种可以得到大量白芨幼苗,且不需要像常规离体培养一样进行转接、炼苗,省时省力,简单可行。

综上所述,白芨种子在 MS 固体培养基中培养,可得试管苗,及时炼苗、移栽可形成白芨幼苗,固体培养基表面干燥,种子吸水较为困难,萌发速度稍慢,流水浸泡 3 d 可使种子种胚吸水膨大,缩短萌发时间。在 MS 液体培养基中种子吸收营养水分速度最快,具胚种子基本全部可以萌发,接种量大,可在短时间内得到大量原球茎,及时将大量原球茎分装至固体培养基可得试管苗,经炼苗、移栽最终形成大量白芨幼苗,但操作较为繁杂,成本较高。在白芨液体培养成苗技术的研究过程中发现,液体培养最终形成原球茎抑或试管苗与液体培养基深浅有关,本研究所采用的较深液体培养基静置培养,可得大量原球茎,而不能直接得到白芨试管苗;在泥炭基质中白芨种子亦可萌发,萌发率低于 MS 培养基,培养过程需控制湿度及温度,较 MS 培养基培养更为简单,且可直接得到大量白芨幼苗,省去炼苗、移栽过程,因白芨果实中含有大量种子,通过提高接种量可增大白芨种苗的得率,即可以通过此法进行白芨种苗的规模化繁殖。

参考文献:

- [1] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2010.
- [2] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志(第十八卷)[M]. 北京:科学出版社,1999.
- [3] 任华忠,何毓敏,杨丽. 白芨化学成分其药理活性研究进展[J]. 亚太传统医药,2009,5(2):134-140.
- [4] 刘光斌,黄忠,黄长干,等. 天然植物白芨胶的功能及在化妆品中的应用[J]. 日用化学品科学,2005,28(8):22-24.
- [5] 管常东,叶静,郑晓君,等. 白芨组织快繁育苗技术研究进展[J]. 云南大学学报(自然科学版),2010,32(S1):416-421.
- [6] 袁宁. 白芨组织培养技术体系研究[D]. 成都:西南交通大学,2008.
- [7] 王楷,李玥,张云峰,等. 白芨种子的高效萌发及其无性繁殖体系的构建[J]. 云南师范大学学报(自然科学版),2014,34(4):71-78.
- [8] 张宇思,姚正颖,刘金香,等. 基于原球茎液体培养的白芨快速繁殖研究[J]. 江苏农业科学,2015,43(10):59-62,331.
- [9] 陈晓芳,刘准,陶刚,等. 兰科菌根真菌对黄芩白芨种子萌发率的影响[J]. 西南农业学报,2012,25(4):1393-1397.
- [10] 黄春球,宋天顺,李明静,等. 外界条件对白芨组织培养的影响[J]. 安徽农学通报(上半月刊),2010,16(21):42-43,45.
- [11] 张燕,黎斌,李思锋. 不同培养基上白芨的种子萌发与幼苗形态发生[J]. 西北植物学报,2009,29(8):1584-1589.
- [12] 付志惠,张建霞,李洪林,等. 白芨种子萌发与快速繁殖技术的研究[J]. 武汉植物学研究,2006,24(1):80-82.
- [13] Hsu C C, Lee Y I. Seed development of *Cypripedium debile* Rehb. f. in relation to asymbiotic germination[J]. Hortence: a publication of the American Society for Horticultural ence, 2012, 47(10): 1495-1498.
- [14] 李雨晴,杨嘉伟,王康才,等. 白芨种子无菌萌发特性[J]. 江苏农业科学,2015,43(4):253-255.
- [15] Asrandina S S, Tashimbayeva A, Mamutova A, et al. Micropropagation of *Stevia rebaudiana* Bertoni in Kazakhstan[J]. Current Opinion in Biotechnology, 2013, 24(S1):125.
- [16] 张玉琼,陈娜,周建辉,等. 石蒜悬浮细胞系的建立及其生物碱累积的研究[J]. 中草药,2013,44(24):3540-3545.
- [17] Lee P L, Chen J T. Plant regeneration via callus culture and subsequent *in vitro* flowering of *Dendrobium huoshanense*[J]. Acta Physiologiae Plantarum, 2014, 36(10):2619-2625.
- [18] 崔瑞勤,陈科力,徐雷. 基于组培快繁技术的白芨种子萌发和幼苗形态观察[J]. 江苏农业科学,2015,43(2):238-240.
- [19] 聂宁,朱艳,田梅,等. 白芨种子萌发及原球茎发育过程的细胞组织学观察[J]. 中国中药杂志,2016,41(8):1446-1449.
- [20] Yam T W, Arditti J. Micropropagation of orchids appendix four: light[M]. New Jersey: John Wiley & Sons, Ltd, 2017.
- [21] Batygina B T. Embryology of flowering plants: terminology and concepts[J]. New Hampshire: Science Publishers, 2009, 5(4): 244-248.
- [22] Chung M Y, Chung M G. Pollination biology and breeding systems in the terrestrial orchid *Bletilla striata*[J]. Plant Systematics and Evolution, 2005, 252(1/2):1-9.
- [23] 郭顺星,徐锦堂. 白芨种子萌发和幼苗生长与紫萁小茹等 4 种真菌的关系[J]. 中国医学科学院学报, 1992, 14(1):51-54.
- [24] 李伟平,何良艳,丁志山. 白芨的应用及资源现状[J]. 中华中医药学刊, 2012, 30(1):158-160.
- [25] 张建霞,付志惠,李洪林,等. 白芨胚发育与种子萌发的关系[J]. 亚热带植物科学, 2005(4):34-37.
- [26] 李青凤. 白芨原生地萌发特性及组培苗炼苗技术研究[D]. 重庆:西南大学, 2014.
- [27] 牛俊峰,王喆之. 白芨种子直播繁育新方法[J]. 陕西师范大学学报(自然科学版), 2016, 44(4):83-86.