

## · 药材与资源 ·

# 铁皮石斛原球茎液体悬浮培养的研究

宋经元, 郭顺星\*, 肖培根\*

(中国医学科学院 中国协和医科大学药用植物研究所, 北京 100094)

**摘要:** 目的 研究铁皮石斛 *Dendrobium candidum* 原球茎液体悬浮培养的可行性以及接种量和培养液体积对原球茎生长的影响。方法 利用完全随机实验设计和正交试验设计研究不同基本培养基、接种量和培养液体积对原球茎生长的影响。结果 无论鲜重还是干重, 铁皮石斛原球茎在液体培养基上均极显著好于固体培养基 ( $P < 0.001$ )。不同基本培养基对铁皮石斛原球茎生长影响的研究表明, 培养天数为 30 d 时, 对于鲜重: 67-V 极显著好于 B<sub>5</sub> ( $P < 0.01$ ), B<sub>5</sub> 极显著好于 1/2MS ( $P < 0.01$ ), 1/2MS 显著好于 MS ( $P < 0.05$ ); 对于干重: 67-V 与 B<sub>5</sub> 没有显著性差异 ( $P > 0.05$ ), B<sub>5</sub> 极显著好于 1/2MS ( $P < 0.01$ ), 1/2MS 极显著好于 MS ( $P < 0.01$ )。接种量和培养液体积对原球茎生长影响的研究表明, 接种量影响最大, 体积其次, 互作最小, 若不考虑互作, 对于鲜重和干重, 最佳处理为: 接种量 6.194 g/瓶+ 培养液体积 150 mL/瓶或 100 mL/瓶; 对于干重, 若考虑互作, 接种量为 6.194 g/瓶时, 应选培养液体积 150 mL/瓶或 100 mL/瓶, 接种量为 3.102 g/瓶时, 应选培养液体积 150 mL/瓶或 100 mL/瓶, 接种量为 1.693 g/瓶时, 应选 150 mL/瓶或 50 mL/瓶。结论 液体悬浮培养对铁皮石斛原球茎的生长有利, 获得了最佳基本培养基、接种量和培养液体积的最佳搭配方案, 表明通过液体悬浮培养生产铁皮石斛原球茎具有较好的开发利用前景。

**关键词:** 铁皮石斛; 原球茎; 液体悬浮培养

中图分类号: R 282.02

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2004)09-1042-05

## Suspension culture of protocorm in *Dendrobium candidum*

SON G Jing-yuan, GUO Shun-xing, XIAO Pei-gen

(Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences  
and Peking Union Medical College, Beijing 100094, China)

**Abstract: Object** To study the feasibility of suspension culture of protocorm in *Dendrobium candidum* Wall. ex Lindl. and effect of inoculum and medium volume on the growth of protocorm.

**Methods** Effect of four basic media MS, 1/2MS, 67-V, and B<sub>5</sub>, inoculum and medium volume on the growth of protocorm were studied by completely random experimental design and orthogonal test design.

**Results** The growth of *D. candidum* protocorms in liquid medium was markedly better than that in solid medium ( $P < 0.001$ ). Among four basic media MS, 1/2MS, 67-V, and B<sub>5</sub> for 30 d, the 67-V medium was better than B<sub>5</sub> ( $P < 0.01$ ), B<sub>5</sub> better than 1/2MS ( $P < 0.01$ ), 1/2MS better than MS ( $P < 0.05$ ) for the growth of protocorm in fresh weight; while there is no markedly difference between 67-V and B<sub>5</sub> ( $P > 0.05$ ), B<sub>5</sub> was much better than 1/2MS ( $P < 0.01$ ), and 1/2MS was much better than MS ( $P < 0.01$ ) in dry weight. Effect of inoculum on the growth of protocorm was the most, and effect of medium volume the second, while the interaction between inoculum and medium volume was the least. The results indicated that the treatment (inoculum 6.194 g/flask and 150 mL or 100 mL liquid medium in 250 mL flask) was the best for the growth of protocorm, when the interaction between inoculum and medium volume was not considered. If the interaction between them was considered, treatments (inoculum 6.194 g/flask and 150 mL or 100 mL liquid medium in 250 mL flask, inoculum 3.102 g/flask and 150 mL or 100 mL liquid

\* 收稿日期: 2004-04-10

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30170023); 国家杰出青年科学基金项目(30325047); 全国高等学校优秀博士学位论文作者专项基金资助项目(199950); 北京市科技新星计划资助项目(2003A61)

作者简介: 宋经元, 男, 博士。Tel: (010) 62829619

\* 通讯作者 Tel: (010) 62829619 E-mail: sxguo2006@yahoo.com.cn

medium in 250 mL flask, inoculum 1.693 g/flask and 150 mL or 50 mL liquid medium in 250 mL flask) were the best for the increase of dry weight of protocorm, respectively. **Conclusion** The growth of *D. candidum* protocorm in liquid medium is better than that in solid medium. Furthermore, the best basic medium and the best arrangement in pairs between inoculum and medium volume are obtained. *D. candidum* is a rare medicinal plant, the probable way for producing protocorms of *D. candidum* is provided by the above study.

**Key words:** *Dendrobium candidum* Wall. ex Lindl.; protocorm; suspension culture

**铁皮石斛** *Dendrobium candidum* Wall. ex Lindl. 主要分布在我国云南、贵州、广西、台湾等地, 年平均气温 12~18℃, 相对湿度在 60%~75%, 林间透光度在 60% 左右, 在无霜多雾, 年降雨量在 1 100~1 500 mm 的常绿阔叶林中附生于树干上, 以及少数上述环境的石灰岩上。野生铁皮石斛种子通过风媒或虫媒传播成活率极低, 种子从萌发到进入商品阶段需 5~7 a 才能采收。铁皮石斛特殊的生活环境和自身繁殖极为困难, 造成其产量低、生长区域小。铁皮石斛具有增强免疫力、抗肿瘤、保护嗓音的作用, 预测铁皮石斛将成为 21 世纪高级护嗓保健饮品<sup>[1]</sup>。但铁皮石斛野生资源极其有限, 已被列为濒危物种, 解决其资源满足市场需求是当务之急。

在铁皮石斛组织培养的研究中, 以铁皮石斛原球茎为材料研究试管苗分化及壮苗培养有较多报道<sup>[2~7]</sup>, 主要是为了快速繁殖铁皮石斛试管苗, 为铁皮石斛的栽培研究提供材料, 也用于铁皮石斛离体开花的研究<sup>[8,9]</sup>。在研究真菌对铁皮石斛生长的作用时<sup>[10]</sup>, 笔者发现在琼脂培养基上不接真菌时, 铁皮石斛原球茎生长良好, 在其试管苗继代培养增殖的过程中, 铁皮石斛原球茎生长十分旺盛, 通过细胞工程技术生产铁皮石斛原球茎也是解决铁皮石斛资源紧缺、栽培困难等问题的有效途径, 因此, 本实验研究不同培养基对铁皮石斛原球茎生长的作用, 以获得适于原球茎生长的合适基本培养基。筛选获得适当的基本培养基, 有利于进一步研究其他因素如接种量与培养液体积等对铁皮石斛原球茎生长的作用, 为通过液体培养大量生产铁皮石斛原球茎打下基础。

## 1 材料与方法

1.1 植物材料: 铁皮石斛 *Dendrobium candidum* Wall. ex Lindl. 来源于广西药用植物园, 由本所郭顺星研究员鉴定, 铁皮石斛原球茎继代于固体培养基 1/2MS (大量元素减半)+30 g/L 蔗糖+200 g/L 马铃薯提取汁上。

1.2 培养基: 1/2MS (大量元素减半)+30 g/L 蔗

糖+200 g/L 马铃薯提取汁, pH 5.8, 固体培养基另加琼脂粉 7 g/L, 液体培养基不加琼脂粉。B<sub>5</sub> 67-V、MS 培养基均附加 200 g/L 马铃薯提取汁和 30 g/L 蔗糖, 为液体培养基, pH 5.8。研究接种量与培养液体积对铁皮石斛原球茎生长的影响时, 采用的培养液为 67-V 培养液 [KNO<sub>3</sub> 1 600 mg/L, (NH)<sub>4</sub>SO<sub>4</sub> 300 mg/L]+30 g/L 蔗糖+200 g/L 马铃薯提取汁。

### 1.3 方法

1.3.1 不同培养基对铁皮石斛原球茎生长的影响: 1/2MS (大量元素减半)+30 g/L 蔗糖+200 g/L 马铃薯提取汁液体培养基、固体培养基各重复 10 次, 采用 250 mL 三角瓶, 每瓶加 50 mL 培养基, 平均接种量 2 410 mg/瓶鲜重, 培养 30 d 收获, 用吸水纸吸干培养物表面水分, 称取鲜重, 晾晒干, 称干重, 计算增殖倍数。比较液体培养基和固体培养基对铁皮石斛原球茎生长的作用是否有显著性差异。完全随机实验设计, 二者按成组数据处理, 用 t 检验 (两尾检验)。MS、1/2MS、67-V、B<sub>5</sub> 4 种培养液各重复 10 次, 采用 250 mL 三角瓶, 每瓶加 50 mL 培养基, 平均接种量 2 122 mg/瓶鲜重, 培养 30 d 收获, 用吸水纸吸干培养物表面水分, 称取鲜重, 晾晒干, 称干重, 完全随机实验设计, 采用方差分析和 q 检验比较不同培养液对铁皮石斛原球茎生长的作用。统计分析见参考文献<sup>[11,12]</sup>。培养条件: (24±1)℃, 漫射光下, 摆床转速 120 r/m in。

1.3.2 接种量与培养液体积对铁皮石斛原球茎生长的影响: 利用正交实验设计研究接种量(A)与培养液体积(B)对原球茎生长的影响, 每因素取 3 个水平(考虑交互作用), 见表 1。选 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) 正交表安排实验, 因为考虑没有空列作误差估计, 应作重复试验。为避免系统误差, 做 1~9 号签两份, 当实验计划编订后, 用抽签办法确定实验顺序, 根据表 1, 将数据代入即为实验方案, 见表 2。采用 250 mL 三角瓶, 培养条件: (24±1)℃, 漫射光下, 摆床转速 120 r/m in。培养 30 d 收获, 用吸水纸吸干培养物表面水分, 称取鲜重, 晾晒干, 称干重, 计算极差 R 及 K 值,

确定主要因子列及最佳组合，并进行方差分析和  $q$  检验。正交实验设计与统计分析见参考文献<sup>[13]</sup>。

## 2 结果

2.1 液体和固体培养基对铁皮石斛原球茎生长的作用：1/2 MS（大量元素减半）+ 200 g/L 马铃薯提取汁培养基（液体和固体）对铁皮石斛生长的作用为：固体培养基上原球茎较绿，芽分化明显，有些根生长较长；液体培养基中原球茎以黄色为主，略带绿色，芽分化不明显，未见根生长。收获时鲜重、干重、增殖速率见表 3。结果表明，无论鲜重还是干重，铁皮石斛原球茎在液体培养基上均极显著好于固体培养基。

表 1 因素水平表

Table 1 Factors and levels

水 平	因 素	
	A 接种量/(g·瓶 <sup>-1</sup> )	B 体积/mL
1	2	50
2	4	100
3	6	150

表 2 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) 正交试验

Table 2 Result of L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) orthogonal test

处理 编号	A	B	收获鲜重/(g·瓶 <sup>-1</sup> )		收获干重/(g·瓶 <sup>-1</sup> )	
			I	II	I	II
1	1	1	9.329	8.561	1.109	1.025
2	2	2	14.615	17.253	1.533	1.869
3	3	3	36.533	27.175	3.394	2.867
4	2	3	16.722	17.189	1.638	1.919
5	3	1	22.547	25.885	1.457	1.476
6	1	2	10.254	7.700	1.190	0.941
7	3	2	33.526	33.096	2.960	2.826
8	1	3	9.242	12.204	0.951	1.377
9	2	1	14.647	14.494	1.467	1.368

表 3 液体和固体培养基对铁皮石斛原球茎生长的作用

Table 3 Effect of liquid and solid media on growth of D. candidum protocorm

培养基	平均收获量/(mg·瓶 <sup>-1</sup> )		干鲜比	鲜重增殖速率 <sup>*</sup> %/d
	鲜重	干重		
液体(n <sub>1</sub> =10)	11 600±729 <sup>**</sup>	1 071±70 <sup>**</sup>	9.2	306
固体(n <sub>2</sub> =9)	7 520±923	553±50	7.4	170

\* 增殖速率= (收获鲜重-接种量)/培养天数(30 d)

\*\* 与固体培养基上的相比:  $P < 0.001$

\* Velocity of proliferation = (harvest fresh weight - inoculum) / 30 d

\*\*  $P < 0.001$  vs treatment on solid medium

2.2 不同基本培养基对铁皮石斛原球茎生长的作用：铁皮石斛原球茎在 4 种液体培养基中均生长良好，分化较少，67-V 和 B<sub>5</sub> 对原球茎增重更为有利，1/2 MS 和 M S 略差（图 1）。计算结果及统计分析表明，培养天数为 30 d 时，对于鲜重：67-V 极显著好

于 B<sub>5</sub> ( $P < 0.01$ )，B<sub>5</sub> 极显著好于 1/2 MS ( $P < 0.01$ )，1/2 MS 显著好于 M S ( $P < 0.05$ )；对于干重：67-V 与 B<sub>5</sub> 没有显著性差异 ( $P > 0.05$ )，B<sub>5</sub> 极显著好于 1/2 MS ( $P < 0.01$ )，1/2 MS 极显著好于 M S ( $P < 0.01$ )。因此，确定 67-V 培养液为今后研究的基本培养基，进一步研究接种量与培养液体积对铁皮石斛原球茎生长的作用。

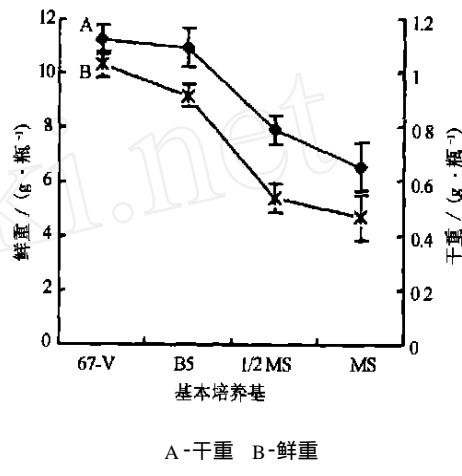


图 1 不同基本培养基对铁皮石斛原球茎生长的作用

Fig. 1 Effect of basic media on growth of D. candidum protocorm

2.3 接种量与培养液体积对铁皮石斛原球茎生长的作用：收获时所有处理的原球茎生长良好，绿色或黄白色，组织块较致密。接种量为 6.194 g/瓶时，不同培养液体积收获时各处理的鲜重和干重见表 2，I、II 为 2 个重复。不同接种量与培养液体积对铁皮石斛原球茎鲜重、干重影响的极差分析、方差分析及多重比较 ( $q$  检验) 的结果为：对鲜重进行极差分析： $R_A/R_e = 16.1$ ,  $R_B/R_e = 3.1$ ,  $R_{AB}/R_e = 2.2$ ；对干重进行极差分析，结果  $R_A/R_e = 11.7$ ,  $R_B/R_e = 5.9$ ,  $R_{AB}/R_e = 4.2$ 。对鲜重和干重多重比较 ( $q$  检验) 的结果见表 4~6。

无论是鲜重还是干重，极差分析的结果为：接种量为主要影响因素，培养液体积为第 2 主要影响因素，二者存在一定程度的互作，但互作的影响不如接种量与培养液体积的影响大。故不考虑互作最有利于鲜重、干重增加的处理组合为：接种量 6.194 g/瓶 + 培养液体积 150 mL/瓶 或 100 mL/瓶 (即 A<sub>3</sub>B<sub>3</sub> 或 A<sub>3</sub>B<sub>2</sub>)。若考虑交互作用，各接种量对应的最佳处理为：对于鲜重，A<sub>1</sub>B<sub>1</sub>、A<sub>2</sub>B<sub>1</sub>、A<sub>3</sub>B<sub>2</sub>；对于干重，A<sub>1</sub>B<sub>1</sub>、A<sub>2</sub>B<sub>1</sub>、A<sub>3</sub>B<sub>3</sub>。无论鲜重、干重，除接种量为 6.194 g/瓶与实际情况相符外，其他与实际情况均不相符，因此表明不应考虑交互作用。

表4 接种量和培养液体积影响铁皮石斛原球茎鲜重的q检验(n=3)

Table 4 Effect of different inocula and medium volumes on fresh weight of *D. candidum* protocorm by q test (n=3)

水 平	因 素							
	接种量/(g·瓶 <sup>-1</sup> )	鲜重/(g·瓶 <sup>-1</sup> )	P<0.05	P<0.01	体积/(mL·瓶 <sup>-1</sup> )	鲜重/(g·瓶 <sup>-1</sup> )	P<0.05	P<0.01
1	6.194	29.794	a	A	150	19.844	a	A
2	3.102	15.820	b	B	100	19.407	a	A
3	1.693	9.548	c	C	50	15.911	b	A

表5 接种量和培养液体积影响铁皮石斛原球茎干重的q检验(n=3)

Table 5 Effect of different inocula and medium volumes on dry weight of *D. candidum* protocorm by q test (n=3)

水 平	因 素							
	接种量/(g·瓶 <sup>-1</sup> )	干重/(g·瓶 <sup>-1</sup> )	P<0.05	P<0.01	体积/(mL·瓶 <sup>-1</sup> )	干重/(g·瓶 <sup>-1</sup> )	P<0.05	P<0.01
1	6.194	2.497	a	A	150	2.024	a	A
2	3.102	1.632	b	B	100	1.887	a	A
3	1.693	1.099	c	C	50	1.317	b	B

表6 接种量与培养液体积互作影响铁皮石斛原球茎干重的q检验(n=3)

Table 6 Effect of interaction between inocula and medium volumes on dry weight of *D. candidum* protocorm by q test (n=3)

处理 编号	接种量 (g·瓶 <sup>-1</sup> )	体积/(mL· 瓶 <sup>-1</sup> )	干重 (g·瓶 <sup>-1</sup> )	P<0.05	P<0.01
3	6.194	150	3.131	a	A
7	6.194	100	2.893	a	A
4	3.102	150	1.779	b	B
2	3.102	100	1.701	b	B
5	6.194	50	1.467	b	B
9	3.102	50	1.418	b	B
8	1.693	150	1.164	b	B
1	1.693	50	1.067	b	B
6	1.693	100	1.066	b	B

方差分析的结果为: 对于鲜重, 接种量的影响极显著( $F$ 值远大于 $F_{0.01}$ ), 体积的影响显著, 互作不显著, 故不考虑互作。最佳处理为: 接种量6.194 g/瓶+培养液体积150或100 mL/瓶(即A<sub>3</sub>B<sub>3</sub>或A<sub>3</sub>B<sub>2</sub>)。对于干重, 接种量的影响极显著( $F$ 值远大于 $F_{0.01}$ ), 体积的影响极显著( $F$ 值远大于 $F_{0.01}$ ), 互作极显著( $F > F_{0.01}$ ), 但接种量影响最大, 体积其次, 互作最小, 故不考虑互作, 最佳处理为: 接种量6.194 g/瓶+培养液体积150 mL/瓶或100 mL/瓶(即A<sub>3</sub>B<sub>3</sub>或A<sub>3</sub>B<sub>2</sub>)。若考虑交互作用, 接种量为6.194 g/瓶时, 应选培养液体积150 mL/瓶或100 mL/瓶(即A<sub>3</sub>B<sub>3</sub>或A<sub>3</sub>B<sub>2</sub>); 接种量为3.102 g/瓶时, 应选培养液体积150或100 mL/瓶(即A<sub>2</sub>B<sub>3</sub>或A<sub>2</sub>B<sub>2</sub>), 也可考虑50 mL/瓶(即A<sub>2</sub>B<sub>1</sub>); 接种量为1.693 g/瓶时, 应选150或50 mL/瓶培养液体积

(即A<sub>1</sub>B<sub>3</sub>或A<sub>1</sub>B<sub>1</sub>), 与实际情况完全一致, 与不考虑交互作用时也不矛盾, 只是增加了新的处理组合备用, 在实际情况中可根据接种量大小予以选用。

综上所述, 方差分析与极差分析的结果基本一致, 只是在方差分析中影响干重的因素分析得更为清楚明了, 将变异来源中各因素的作用进一步量化, 各处理平均值的差异大小(显著性)一目了然。在实际工作中可根据最大限度降低成本获得最大收益的原则, 选择最合适的处理组合。

### 3 讨论

张治国等<sup>[7]</sup>报道在固体培养基上6种基本培养基(1/2MS、MS、N<sub>6</sub>、B<sub>5</sub>、KC、VW)对原球茎增殖的影响明显不同, 从原球茎鲜重看, B<sub>5</sub>培养基极显著好于其他几种培养基, 但从原球茎的生长发育看, B<sub>5</sub>培养基的原球茎色绿, 且有部分分化, N<sub>6</sub>和KC培养基上的原球茎色黄, 体积小于1/2MS、VW培养基上的原球茎体积最小, 色黄而不鲜, 1/2MS和MS培养基上生长的原球茎虽然鲜重差于N<sub>6</sub>、B<sub>5</sub>、KC等3种培养基, 但原球茎色淡黄, 体积大, 无分化, 因此1/2MS培养基作为原球茎增殖的基本培养基是适宜的。

本研究的结果表明, 培养周期为30 d时, 无论鲜重还是干重, 液体培养基均明显优于固体培养基( $P<0.001$ ), 且干鲜比、增殖速率等指标, 液体悬浮培养均具有明显的优势。此外, 本研究的培养周期30 d比张治国等<sup>[7]</sup>报道的培养周期缩短15 d, 这对加快生产周期是非常有利的。通过植物组织培养进行人参、紫草等药用植物的工业化生产已经初步获得成功, 并产生了可观的经济效益和良好的社会效益。

益。尚未见以工业化生产铁皮石斛原球茎及其有效成分为目的的研究报道,但已经有人看到此类研究的巨大前景<sup>[14]</sup>。徐红等<sup>[15]</sup>发现石斛属 5 种生药及培养组织物的氯仿和甲醇提取物具有明显的清除活性氧的能力,比正常对照(Vc)要高,来自 *D. gratiosissimum* Rchb.f. 生药的氯仿提取物和来自铁皮石斛的组织培养物具有最好的清除活性氧的能力,表明石斛属植物是清除活性氧的良好的天然药物。高建平等<sup>[16]</sup>报道铁皮石斛组织培养物原球茎有升高环磷酰胺模型小鼠外周血白细胞数,增加模型鼠胸腺或脾脏指数,增强巨噬细胞的吞噬功能,促进模型鼠体内淋巴细胞转化的作用。口服给生药 54.56 g/kg,小鼠仍能耐受。上述作用与原药材相似,表明铁皮石斛组织培养物原球茎与原药材均具有提高免疫功能的作用,两者作用强度相似,最大耐受量相当于人临床用药量的 227 倍。所以液体悬浮培养对铁皮石斛原球茎生长有利,表明通过液体悬浮培养生产铁皮石斛原球茎具有较好的前景。笔者将继续报道铁皮石斛原球茎生长和有效成分的积累的影响因素的研究。

接种量与培养液体积的研究对实际工作具有较大的指导意义,在放大培养时,可以予以参考。在细胞培养的研究中此类工作尚未见报道。笔者认为主要原因在于接种量难以控制,比如,本研究的实验方案计划接种量为 2 和 4 g/瓶,而实际接种量为 1.693 和 3.102 g/瓶,二者有一定差距,这也是试验误差的最大来源。当接种量为 6.194 g/瓶,培养液体积为 100 mL/瓶时,从原球茎的生长状态看,接种量还可以继续加大。

#### References:

- [1] Fu K C, Lian S C, Feng D Q, et al. Application and development of resource of white *Dendrobium* (*Dendrobium candidum*) [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1999, 30(9): 708-711.
- [2] Jiang L, Ding P, Zheng Y D. Effects of additives on tissue culture and rapid propagation of *Dendrobium candidum* [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 2003, 26(8): 539-541.
- [3] Zeng S J, Cheng S J, Zhang J L, et al. Embryo culture and propagation of *Dendrobium* in vitro [J]. *Aeta Hortis Sin* (园艺学报), 1998, 25(1): 75-80.
- [4] Liu R J, Meng A D, Deng X Q, et al. Studies on rapid propagation of *Dendrobium candidum* in vitro [J]. *Aeta Pharm Sin* (药学学报), 1988, 23(8): 636-640.
- [5] Liu H, Zhang Z G. Studies on plantlet strengthening medium for *Dendrobium candidum* Wall. ex Lindl. of clonal propagation in vitro [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1998, 23(11): 654-656.
- [6] Zhang Z G, Wang L, Liu H, et al. Studies on culture medium for protocorm differentiation in *Dendrobium candidum* Wall. ex Lindl. [J]. *China J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 1993, 18(1): 16-19.
- [7] Zhang Z G, Liu H, Wang L, et al. Study on culture conditions of protocorm proliferation in white *Dendrobium* (*Dendrobium candidum*) [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1992, 23(8): 431-433.
- [8] Wang G Y, Liu P, Xu Z H, et al. Effects of ABA on the in vitro induction of floral buds of *Dendrobium candidum* Wall. ex Lindl. [J]. *Aeta Bot S in* (植物学报), 1995, 37(5): 374-378.
- [9] Wang G Y, Xu Z H, Cai D F, et al. In vitro flowering of *Dendrobium candidum* [J]. *Sci Sin (C)* (中国科学 C 辑), 1997, 27(3): 229-234.
- [10] Song J Y, Guo S X. Effects of fungus on the growth of *Dendrobium candidum* and *D. nobile* in vitro culture [J]. *Aeta Acad Med Sci* (中国医学科学院学报), 2001, 23(6): 547-551.
- [11] Li C X, Wang W L, Chen S L, et al. *Biological Statistics* (生物统计学) [M]. Beijing: Science Press, 1997.
- [12] Nanjing Agricultural University. *Field Experiment and Statistical Methods* (田间试验和统计方法) [M]. 2nd ed. Beijing: Agricultural Press, 1989.
- [13] Xu J M. *Application of Orthogonal Method to Medical and Pharmaceutical Research* (正交法在医药科研中的应用) [M]. Beijing: China Medico-Pharmaceutical Science and Technology Publishing House, 1987.
- [14] Huang M Q, Lu Y J. Prospect on the callus culture of *Dendrobium candidum* used as drugs [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 1998, 21(11): 543-545.
- [15] Xu H, Liu J, Wang Z T, et al. The scavenging of reactive oxygen species by crude drugs and cultured tissues of five species of *Dendrobium* Sw. [J]. *J Plant Resour Environ* (植物资源与环境学报), 2001, 10(2): 35-37.
- [16] Gao J P, Jin R M, Wu Y P, et al. Comparative study of tissue cultured *Dendrobium* protocorm with natural *Dendrobium candidum* on immunological function [J]. *J Chin Med Mater* (中药材), 2002, 25(7): 487-489.

## 欢迎订阅 2005 年《药学学报》

《药学学报》是由中国药学会主办、中国医学科学院中国协和医科大学药物研究所承办、国内外公开发行的药学综合性学术期刊。辟有栏目:述评和综述、研究论文、研究简报、学术动态。本刊自 1953 年创刊以来,一直报道药学领域原始性、创新性科研成果,旨在促进国内外学术交流。刊登研究论文内容包括药理学、合成药物化学、天然药物化学、药物分析学、药剂学、生药学等。

本刊自 2004 年 7 月已由 80 页增加至 96 页,月刊,A4 开本。每期定价 15 元,全年定价 180 元。国内邮发代号:2-233,国外代号:M 105。欢迎广大作者踊跃投稿,欢迎广大读者及时到当地邮局订阅,漏订读者可直接与本刊编辑部联系补订。编辑部地址:北京市先农坛街 1 号,邮编:100050,电话:010-63035116,传真:010-63026192,电子信箱:yxxb@imm.ac.cn