

不同组合功能性寡糖对稻草在锦江黄牛瘤胃降解率的影响

闵力, 瞿明仁*, 戈婷婷, 钟志勇, 刘立恒

(江西农业大学 江西省高校动物营养与饲料重点实验室, 江西 南昌 330045)

摘要: 本试验旨在研究不同组合功能性寡糖对稻草在锦江黄牛瘤胃降解率的影响。试验选择 3 头体质量(300±20) kg, 安装有永久性瘤胃瘘管锦江黄牛。采用尼龙袋和自身对照方法, 分为 3 期试验, 第 1 期为对照期, 不添加寡糖, 第 2 期和第 3 期分别为添加功能性寡糖组合 GT1 和组合 GT2, 测定稻草在锦江黄牛瘤胃中 DM、OM、CP、NDF 和 ADF 的 72 h 降解率, 并进行相关性分析。结果表明: 与对照期相比, 添加功能性寡糖 GT1 和 GT2 组合均能够极显著提高 DM、OM、NDF、ADF 降解率 ($P<0.01$), GT1 和 GT2 组合之间差异不显著 ($P>0.05$)。不同组合功能性寡糖对 CP 降解率无显著影响 ($P>0.05$), 稻草的 OM 与 DM、NDF、ADF 在锦江黄牛瘤胃 72 h 降解率之间呈强相关, 稻草的有机物与粗蛋白降解率之间相关性不高。

关键词: 功能性寡糖; 稻草; 锦江黄牛; 瘤胃降解率

中图分类号: S816.11; S823 文献标志码: A 文章编号: 1000-2286 (2012) 03-0550-06

Effects of Different Combinations of Functional Oligosaccharides on Rumen Degradability of Rice Straw in Jinjiang Cattle

MIN Li, QU Ming-ren*, GE Ting-ting, ZHONG Zhi-yong, LIU Li-heng

(Key Laboratory of Animal Nutrition and Feed Science of Universities and Colleges in Jiangxi Province, JXAU, Nanchang 330045, China)

Abstract: This experiment was conducted to study the Effects of different combinations of functional oligosaccharides on rumen degradability of rice straw in Jinjiang cattle. (Method) Three healthy Jinjiang cattle with permanent rumen cannula and weight of (300±20) kg were selected. By self-contrasted method and the nylon bag method, the test was divided into three phases, the first phase: the control period, basal diet was fed without any oligosaccharides, the second period, fed with the basal diet added with GT1 combination of functional oligosaccharides, the third period, fed with the basal diet added with GT2 combination of functional oligosaccharides, the experiment lasted 14 days for every period. The rumen degradability of DM, OM, CP, NDF, ADF of 72 h for rice straw was determined, and the correlation analysed. The results showed that: compared with the control period, GT1 and GT2 combinations of functional oligosaccharides very significantly improved, the rumen degradability of DM, OM, NDF, ADF for rice straw ($P<0.01$), and the difference between the GT1 and GT2 combinations was not significant ($P>0.05$); the difference in CP was not significant ($P>0.05$) among the control, GT1 and GT2 ($P>0.05$). The correlations of rumen degradability for 72 h between DM, NDF, ADF and OM in Jinjiang cattle were strong, the rumen degradability of CP was not closely related to OM.

Keywords: functional oligosaccharides; rice straw; Jinjiang cattle; rumen degradability

收稿日期: 2012-03-06 修回日期: 2012-03-29

基金项目: 国家现代肉牛牦牛产业技术体系项目 (CARS-38)、国家自然科学基金项目 (30960254) 和江西省教育厅项目 (GJJ10405、2009GJJ10409)

作者简介: 闵力 (1988—), 男, 硕士生, 主要从事反刍动物营养研究, E-mail: min1988317@yahoo.com.cn, *通讯作者: 瞿明仁, 教授, 博士, E-mail: qumingren@sina.com。

功能性寡糖作为新型绿色添加剂,具有无毒、无残留、无耐药性、安全、环保、稳定性强等特点。江西农业大学动物营养实验室在寡糖对反刍动物瘤胃发酵进行了长期研究。本实验室研究发现,在日粮中添加功能性寡糖对反刍动物瘤胃发酵功能具有正面作用^[1]。那么,饲喂功能性寡糖对稻草在瘤胃降解率的影响如何,目前尚无报道。为此,本试验采用尼龙袋技术,以锦江黄牛为对象,研究添加不同组合功能性寡糖对稻草瘤胃降解率的影响,为其在畜牧生产中合理利用提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验动物及饲养管理

试验动物为编号 A、B、C 3 头锦江黄牛,体质量(300±20) kg,安装有永久性瘤胃瘘管。其日粮由精粗饲料组成, $m(\text{精料}):m(\text{粗料})=2:8$ 。基础日粮为玉米-麦麸-稻草型,精料购于江西华达牧业有限公司,精料的配方组成为玉米、麦麸、豆粕、棉粕、碳酸钙、磷酸氢钙、食盐、维生素(A、D₃、E、烟酸)、微量元素(CuSO₄、FeSO₄、ZnSO₄、MnSO₄、NaSeO₃、KI、CoCl₂)及防霉剂等。基础日粮组成及营养水平见表1。试验牛栓系饲养,每天分别在 08:00 和 20:00 以先粗后精顺序饲喂 2 次,每天饲喂精料 1.2 kg,粗料 4.8 kg,自由饮水。

表1 基础日粮组成及营养水平
Tab.1 Composition and nutrient levels of the basal diet

日粮组成 Ingredient	比例/% Percentage	营养水平 Nutrient levels	含量 Content
稻草 Straw	80.0	干物质 DM (%)	90.15
玉米 Corn	10.2	综合净能 NE/(MJ·kg ⁻¹ ,DM)	3.13
麦麸 Wheat bran	1.4	粗蛋白 CP (%DM)	7.67
豆粕 Soybean meal	3.6	Ca (%DM)	0.64
棉籽粕 Cottonseed	3.4	P (%DM)	0.31
磷酸氢钙 CaHPO ₄	0.1		
石粉 Limestone	0.3		
食盐 NaCl	0.5		
预混料 Premix	0.5		

每 kg 预混料含:维生素 A 500 kIU; 维生素 D 380 kIU; 维生素 E 2 000 IU; 烟酸 80 g; 铜 2 g; 铁 10 g; 锰 8 g; 锌 6 g; 硒 0.02 g; 碘 0.1 g; 钴 0.02 g。

Containing of per kg of premix: VA 500 kIU; VD 80 kIU; VE 2 000 IU; nicotinic acid 80 g; Cu 2g; Fe 10 g; Mn 8 g; Zn 6 g; Se 0.02 g; I 0.1 g; Co 0.02 g.

1.2 试验设计

1.2.1 功能性寡糖组合的确定 根据江西农业大学动物营养实验室采用体外批次培养法研究结果,初步得出了 2 个理想组合^[2]。其组成见表 2,添加量是以饲料中干物质为基础来确定。

表2 功能性寡糖组合构成
Tab.2 Composed of functional oligosaccharides combination

组合 Combination	甘露寡糖 MOS	果寡糖 FOS	大豆寡糖 SBOS
GT1	0.8%	1.0%	0.8%
GT2	0.8%	1.2%	1.0%

1.2.2 试验分期及添加量 试验采用自身对照方法,分为 3 期试验,第 1 期为对照期,不添加寡糖,第 2 期和第 3 期分别为添加功能性寡糖组合 GT1 期和组合 GT2 期。

根据表 2 和每天试验牛饲料饲喂量进行计算,各期每头试验牛每天寡糖饲喂量如下:

第 1 期:对照期,饲喂基础日粮,不添加任何寡糖。

第 2 期:添加组合 GT1 期,即每日将甘露寡糖 48 g+果寡糖 60 g+大豆寡糖 48 g 和每日所需饲喂的精料混匀,于 08:00 和 20:00 各饲喂一半,连续饲喂 14 d。

第 3 期:添加组合 GT2 期,即每日将甘露寡糖 48 g+果寡糖 72 g+大豆寡糖 60 g 和每日所需饲喂的精料混匀,于 08:00 和 20:00 各饲喂一半,连续添加 14 d。

每期为 14 d,中间过渡 14 d,中间过渡期饲喂对照期日粮。

1.3 试验材料

甘露寡糖购自北京奥特奇生物制品有限公司,其有效成分含量大于90%。果寡糖购自河南天顺食品有限公司,其有效成分含量大于92%。大豆寡糖购自陕西森弗生物技术有限公司,其有效成分含量为98%。试验稻草,购自南昌当地,将稻草粉碎,过18目孔径的网筛,制备成待测样品装入样品自封袋中备用。本试验待测样品为稻草,稻草样品的常规成分分析结果见表3。

表3 稻草样品的常规成分分析

	Tab.3 Conventional components analysis of rice straw samples					%
	干物 DM	粗灰分 CAs	粗蛋白 CP	中性洗涤纤维 NDF	酸性洗涤纤维 ADF	
稻草 Rice straw	94.14	10.21	5.89	64.91	44.85	

1.4 尼龙袋的制作

选择孔径为300目的尼龙布,袋裁成17 cm×13 cm的长方块。散边用铁烫或蜡烛火燎以去除线头,用油性笔标号,烘至绝干、恒质量。

1.5 尼龙袋在瘤胃放置时间及方法

根据英国 AFRC^[3]制定了瘤胃尼龙袋法的标准方案和我国冯仰廉^[4]提出的方案,装有稻草的尼龙袋在瘤胃中放置时间为72 h。

准确称量3.0 g 稻草样品,装入尼龙袋中。每头牛每期设2个重复。于每一期最后3 d的12:00将装有稻草的尼龙袋放入瘤胃腹囊中,并用尼龙绳挂在瘘管塞上。72 h后取出,取出的尼龙袋立即在冷水下冲洗,以冲洗水变洁净为止。冲洗过程中不可用手人为挤压袋内样品,以免增大消失率。水洗后的尼龙袋置于65℃烘箱中烘至恒质量,转入样品自封袋中,备用。同时,试验设空白对照样品,为消除系统误差,空白对照样品也同样进行冲洗处理。

1.6 测定指标及和方法

分析对照样品和尼龙袋降解样品残渣留的干物质(DM),粗蛋白(CP),中性洗涤纤维(NDF),酸性洗涤纤维(ADF)等指标,其测定方法按照第二版《饲料分析及饲料质量检测技术》^[5]进行。其中:

$$\text{有机物(OM)} = \text{干物质(DM)} - \text{灰分(Ash)} \quad (1)$$

$$\text{稻草各成分降解率} = \frac{\text{降解前袋内的含量} - \text{降解后袋内含量}}{\text{降解前袋内的含量}} \times 100\% \quad (2)$$

1.7 数据统计分析

试验数据利用SPSS17.0统计分析软件的One-Way ANOVA进行方差分析,并利用Duncan程序进行均值的多重比较。

2 结果与分析

2.1 稻草干物质(DM)瘤胃72 h降解率

由表4可知,A、B、C3头试验牛稻草平均干物质(DM)在瘤胃中72 h降解率,GT1、GT2期均极显著高于对照期($P < 0.01$);GT2期略高于GT1期,但两者之间差异不显著($P > 0.05$)。

表4 各试验期稻草干物质(DM)降解率(72 h)

	Tab.4 72 hours degradability of rice straw dry matter of each test period (DM)				%
试验期	A牛	B牛	C牛	平均	
Experimental period	Cattle A	Cattle B	Cattle C	Average	
对照期 Control period	42.00	40.69	43.44	42.03±1.37 ^B	
GT1期 GT1 period	51.02	53.85	52.77	52.55±1.43 ^A	
GT2期 GT2 period	53.70	51.44	55.85	53.66±2.20 ^A	

平均数右肩标不同大写字母表示差异极显著($P < 0.01$),同列数据右肩标相同字母表示差异不显著($P > 0.01$)。

Mean within the same column with different capital letter superscripts were extremely different ($P < 0.01$),with the same superscript letter were not extremely different($P > 0.01$).

2.2 稻草有机物质(OM)瘤胃72 h降解率

由表5可知,A、B、C3头试验牛稻草平均有机物质(OM)在瘤胃中72 h降解率,GT1、GT2期均极显著高于对照期($P < 0.01$);GT2期略高于GT1期,但两者之间差异不显著($P > 0.05$)。

表5 各试验期稻草有机物(OM)降解率(72 h)

Tab.5 72 hours degradability of OM of rice straw of each test period

试验期	A牛	B牛	C牛	平均
Experimental period	Cattle A	Cattle B	Cattle C	Average
对照期 Control period	43.93	44.18	46.15	44.75±1.21 ^B
GT1期 GT1 period	53.63	56.21	55.05	54.96±1.29 ^A
GT2期 GT2 period	55.94	54.29	58.27	56.16±2.00 ^A

平均数右肩标不同大写字母表示差异极显著($P<0.01$), 同列数据右肩标相同字母表示差异不显著($P>0.01$)。

Mean within the same column with different capital letter superscripts were extremely different ($P<0.01$), with the same superscript letter were not extremely different ($P>0.01$).

2.3 稻草粗蛋白(CP)瘤胃72 h降解率

由表6可知, A、B、C 3头试验牛稻草平均粗蛋白(CP)72 h瘤胃降解率而言, 对照期、GT1期和GT2期之间差异均不显著($P>0.05$)。

表6 各试验期稻草粗蛋白(CP)降解率(72 h)

Tab.6 72 hours degradability of CP of rice straw of each test period

试验期	A牛	B牛	C牛	平均
Experimental period	Cattle A	Cattle B	Cattle C	Average
对照期 Control period	30.48	30.11	31.44	31.57±1.17 ^a
GT1期 GT1 period	32.81	32.00	33.29	30.59±1.23 ^a
GT2期 GT2 period	31.44	29.68	34.49	33.07±1.53 ^a

同列数值右肩标不同小写字母表示差异显著($P<0.05$), 相同字母表示差异不显著($P>0.05$)。

Mean within the same column with different small letter superscripts were significantly different ($P<0.05$), with the same superscript letter were not significantly different ($P>0.01$).

2.4 稻草中性洗涤纤维(NDF)瘤胃72 h降解率

由表7可知, A、B、C 3头试验牛稻草平均中性洗涤纤维(NDF)在瘤胃中72 h降解率, GT1、GT2期均极显著高于对照期($P<0.01$); GT2期略高于GT1期, 但两者之间差异不显著($P>0.05$)。

表7 各试验期稻草中性洗涤纤维(NDF)降解率(72 h)

Tab.7 72 hours degradability of NDF of rice straw of each test period

试验期	A牛	B牛	C牛	平均
Experimental period	Cattle A	Cattle B	Cattle C	Average
对照期 Control period	48.62	48.59	47.70	48.30±0.52 ^B
GT1期 GT1 period	56.80	61.33	59.07	59.07±2.26 ^A
GT2期 GT2 period	59.16	57.71	62.77	59.88±2.60 ^A

平均数右肩标不同大写字母表示差异极显著($P<0.01$), 相同字母表示差异不显著($P>0.01$)。

Mean within the same column with different capital letter superscripts were extremely different ($P<0.01$), with the same superscript letter were not extremely different ($P>0.01$).

2.5 稻草酸性洗涤纤维(ADF)瘤胃72小时降解率

由表8可知, A、B、C 3头试验牛稻草平均酸性洗涤纤维(ADF)在瘤胃中72 h降解率, GT1、GT2期均极显著高于对照期($P<0.01$); GT1期略高于GT2期, 但两者之间差异不显著($P>0.05$)。

表8 各试验期稻草酸性洗涤纤维(ADF)降解率(72 h)

Tab.8 72 hours degradability of ADF of rice straw of each test period

试验期	A牛	B牛	C牛	平均
Experimental period	Cattle A	Cattle B	Cattle C	Average
对照期 Control period	37.42	33.84	37.43	36.23±2.06 ^B
GT1期 GT1 period	49.63	49.73	49.35	49.57±0.20 ^A
GT2期 GT2 period	45.73	45.43	49.71	46.96±2.38 ^A

平均数右肩标不同大写字母表示差异极显著($P<0.01$), 相同字母表示差异不显著($P>0.01$)。

Mean within the same column with different capital letter superscripts were extremely different ($P<0.01$), with the same superscript letter were not extremely different ($P>0.01$).

2.6 稻草有机物质(OM)与其他成分72 h瘤胃降解率的相关性分析

根据上述测定结果, 对稻草有机物质(OM)72 h瘤胃降解率与其他成分进行相关性分析, 得出如下回归方程:

(1) 稻草干物质和有机物的降解率回归关系是: $Y=1.0246X-3.8225$, (Y 为干物质降解率, X 为有机物降解率, $R^2=0.9945$)。

(2) 稻草粗蛋白和有机物的降解率的回归关系是: $Y=0.1742X+22.7$, (Y 为粗蛋白降解率, X 为有机物降解率, $R^2=0.3825$)。

(3) 稻草 NDF 和有机物回归关系是: $Y=1.0305X+2.2023$, (Y 为 NDF 降解率, X 为有机物降解率, $R^2=0.9667$)。

(4) 稻草 ADF 和有机物的降解率回归关系是: $Y=1.0653X-11.101$, (Y 为 ADF 降解率, X 为有机物降解率, $R^2=0.8877$)。

从上述回归方程可见, 稻草干物质、NDF、ADF 和有机物之间降解率呈强相关关系, 相关系数 R^2 分别到达 0.9945、0.9667 和 0.8877, 而粗蛋白和有机物的降解率的相关系数不高, 为 0.3825。

3 讨论

3.1 不同组合功能性寡糖对稻草在瘤胃中 DM、OM、NDF 和 ADF 降解率的影响

瘤胃作为反刍动物营养成分消化的起始部位, 在营养物质消化吸收过程中发挥着至关重要的作用, 84%有机物、92%纤维素以及 89%半纤维素在瘤胃中消化^[6]。饲料瘤胃降解率代表着该饲料被微生物转化和利用的能力, 也是影响干物质采食量的一个主要因素, 降解率越高, 动物利用的也可能就越好。研究表明, 在日粮中添加功能性寡糖对反刍动物具有正面作用。张学峰等^[7,8]给绵羊瘤胃灌注占干物质采食量 0.6%和 1.2%水平的大豆寡糖, 发现其能有效提高瘤胃纤维分解菌的数量, 改善绵羊瘤胃微生物区系, 提高了 DM、OM、ADF、NDF 在整个消化道的消化率和 CP 在小肠中的消化率。

本试验测定结果表明: 与对照期相比, 添加功能性寡糖 GT1 和 GT2 组合均能够极显著提高 DM、OM、NDF、ADF 降解率 ($P<0.01$), GT1 期和 GT2 期之间差异不显著 ($P>0.05$)。由此可见, 添加不同功能性寡糖组合有利于稻草在锦江黄牛瘤胃中干物质的降解。Gibson 等^[9]和 Marcel 等^[10]研究表明: 功能性寡糖是动物肠道内有益菌的营养物质, 可促进其大量繁殖, 抑制有害菌的生长繁殖, 起到了有益菌增殖因子的作用, 提高了动物防病抗病能力。郭勇庆^[11]研究表明: 添加功能性寡糖组合能够极显著提高稻草 NDF 和 ADF 降解率, 这可能是因为功能性寡糖进入瘤胃后, 受到瘤胃微生物的强烈降解作用, 增加了丙酸和总 VFA 的产量, 增加了纤维分解菌的数量, 使得日粮中的 NDF 和 ADF 降解率升高。路易斯安娜州立大学的一项试验也得出了同样的结论。狗口服甘露寡糖后纤维素的消化率从 61.5%提高到 72.9%, 对各种纤维素的试验结果均一致。本试验添加功能性寡糖组合有助于提高稻草的有机物降解率, 这可能是因为功能性寡糖促进了包括纤维分解菌在内的有益菌的繁殖, 提高了有益菌对稻草 DM、OM、NDF、ADF 的在锦江黄牛瘤胃 72 h 降解率。

然而, Mwenya 等^[12]的体外试验表明, 添加半乳寡糖(GOS)对营养物质的表观降解率没有影响。这可能是与功能性寡糖品种、组合及反刍动物品种有关。本研究采用甘露寡糖、果寡糖、大豆寡糖不同组合, 可能存在组合效应, 能更好地改善瘤胃微生物区系, 有利于稻草在锦江黄牛瘤胃中的降解。

3.2 不同组合功能性寡糖对稻草在瘤胃中粗蛋白降解率的影响

饲料粗蛋白在瘤胃中的降解率是反刍动物蛋白质新体系的基本参数, 并已逐渐被用到生产实践中, 饲养标准已将瘤胃可降解蛋白质作为饲料的一个参数提供给用户。然而本试验中添加不同组合功能性寡糖对粗蛋白降解率无显著影响 ($P>0.05$), 这可能是因为功能性寡糖仅促进了纤维分解菌的生长繁殖, 而对蛋白质分解菌影响不大, 具体原因或机理有待进一步研究。

3.3 稻草有机物质 (OM) 与其他成分 72 h 瘤胃降解率的相关性分析

根据稻草各营养物质 72 小时降解率的相关性分析, 有机物与干物质、NDF、ADF 之间降解率均呈强相关。刁其玉^[13]对饲料营养成分在瘤胃降解规律的研究表明, 饲料中有机物和干物质在瘤胃内的降解率呈强相关, 此结论与本试验的结果一致。然而, 本试验中稻草有机物降解率与粗蛋白降解率相关性不高, R^2 仅为 0.3825。

4 结论

添加功能性寡糖组合 GT1 和 GT2 均能极显著提高稻草的干物质、有机物、NDF、ADF 降解率,两种功能性寡糖之间差异不显著;添加功能性寡糖组合对稻草粗蛋白降解率无显著影响,稻草的有机物与干物质、NDF、ADF 降解率之间呈强相关。稻草的有机物与粗蛋白降解率之间相关性不高。

参考文献:

- [1] 瞿明仁,凌宝明,卢德勋,等.灌注果寡糖对生长绵羊瘤胃发酵功能的影响[J].畜牧兽医学报,2006,37(8):779-784.
- [2] 戈婷婷.不同组合的功能性寡糖(NDOs)对锦江黄牛体外发酵的影响[D].南昌:江西农业大学,2011.
- [3] AFRC. Agricultural and food research council. Report No.9[M]//Nutritive Requirements of Ruminant Animal: Protein.CAB International, 1992:1-48.
- [4] 冯仰廉.反刍动物营养学[M].北京:中国农业出版社,2004:305-308
- [5] 张丽英.饲料分析及饲料质量检测技术[M].2版.北京:中国农业出版社,2003:42-54.
- [6] 崔利宏.牧草收割期和日粮精粗比对绵羊瘤胃内营养物质降解的影响[D].呼和浩特:内蒙古农业大学,2008.
- [7] 张学峰,瞿明仁,王立阁,等.大豆寡糖对瘤胃微生物区系的影响[J].动物营养学报,2008,20(3):355-359.
- [8] 刘兵,瞿明仁,张学峰,等.瘤胃灌注大豆寡糖对绵羊消化道内营养物质流通与消化的影响[J].畜牧兽医学报,2008,39(7):915-922.
- [9] Gibson G R,Roberfroid B M. Dietary modulation of the human colonic microbiota introducing the concept of prebiotics[J].Nutrition, 2004,17(2): 259-275.
- [10] Roberfroid M B.Chicory fructo-oligosaccharides and the gastrointestinal tract[J].Nutrition,2000,16:677-679
- [11] 郭勇庆.牛蒡果寡糖对绵羊生产性能、营养物质消化代谢影响研究[D].河北:河北农业大学,2010.
- [12] Mwenya B, Zhou X, Santoso B, et al.Effects of a probiotic vitacogen and β , 1-4 Galacto- oligosaccharides supplementation on methanogenesis and energy and nitrogen utilization in dairy cows[J].Asian-Aust J Anim Sci,2004,17(3):349-354.
- [13] 刁其玉.饲料营养成分在瘤胃和小肠降解规律的研究[D].北京:中国农业科学院,2000.

(上接第 536 页)

参考文献:

- [1] 郑志新,李昆.云南龙陵齿瓣石斛化学成分分析测定及栽培方式选择[J].安徽农业科学,2008,36(4):1426-1427.
- [2] 孙永玉,李恒安.齿瓣石斛的无菌播种和组织培养[J].植物生理学通讯,2009,45(10):1017-1018.
- [3] Peterson R L,Uetake Y,Zelmer C. Fungal symbioses with orchid procoms[J].Symbiosis,1998,25:29-55.
- [4] Vladmir V,St-arnaud M,DEN IS B,et al. Viability testing of orchid seed and the promotion of colouration and germination[J].Annals of Botany,2000,86:79-86.
- [5] Pritchard H W.Determination of orchid seed viability using fluorescein diacetate[J].Plant Cell and Environment,1985,8:727-730.
- [6] FAST European terrestrial orchids (symbiotic and asymbiotic methods)[G].ARDITTIJ Orchid biology: Reviews and perspectives II .Ithaca, N Y:Comstock Publishing Associates,1982:326-329.
- [7] 吴应祥.中国兰花[M].2版.北京:中国林业出版社,1994.
- [8] 丁峰.蝴蝶兰无菌播种快繁技术[J].江苏农业科学,2005,33(4):79-80.
- [9] 卜朝阳,蒋慧萍,满若君.蝴蝶兰花梗离体培养及叶片诱导类原球茎研究[J].江苏农业科学,2008,36(3):147-150.
- [10] 祝鹏芳,陈长卿.中国兰的无菌播种与茎尖培养[J].北方园艺,1997,21(1):47-48.
- [11] 伍建榕,韩素芬,朱有勇,等.地生兰组培快繁技术研究[J].北方园艺,2008,32(5):202-205.
- [12] Hanako S, Yasunori K. Microp ropagation of *Cypripedium acranthos* var. *rebutense* through protocorm- like bodies derived from mature seeds[J].Plant Cell, Tissue and Organ Culture,2004,78:273-276.
- [13] 曾宋君.石斛兰无菌播种与组织培养[J].花卉园地,2005,22(11):9-11.
- [14] 杨宁生,杨柏云,钟青萍.蕙兰(*Cymbidium faberi rolfe*)种子无菌培养的研究[J].江西科学,1994,12(2):80-84.