

DOI: 10.13324/j.cnki.jfcf.2019.03.009

珍珠彩桂的快速繁殖技术

孙红英^{1,2}, 辛全伟¹, 兰思仁²

(1. 福建农林大学国家菌草工程技术研究中心, 福建 福州 350002;

2. 福建农林大学林学博士后科研流动站, 福建 福州 350002)

摘要: 以珍珠彩桂半木质化枝条为外植体, 采用丛生芽诱导途径, 建立组培快繁体系。结果表明: 最佳启动培养基为木本植物培养基(WPM)+2.0 mg·L⁻¹6-苄氨基腺嘌呤(6-BA)+0.5 mg·L⁻¹赤霉素(GA₃)+6.5 g·L⁻¹琼脂+30 g·L⁻¹蔗糖, 启动率高达 86.4%; 最佳增殖培养基为 WPM+4.0 mg·L⁻¹6-BA+2.0 mg·L⁻¹6-糖基氨基嘌呤(KT)+0.5 mg·L⁻¹GA₃+6.5 g·L⁻¹琼脂+30 g·L⁻¹蔗糖, 继代周期 25 d, 增殖系数高达 5.8; 最佳生根培养基为 1/2WPM+3.0 mg·L⁻¹3-吲哚丁酸(IBA)+6.5 g·L⁻¹琼脂+30 g·L⁻¹蔗糖, 培养 30 d 后生根, 生根率达 89.5%。炼苗后, 移栽到珍珠岩: 蛭石: 泥炭土体积比为 1:1:1 的混合基质中, 成活率达到 90% 以上。

关键词: 珍珠彩桂; 半木质化茎; 组织培养

中图分类号: S687.9

文献标识码: A

文章编号: 2096-0018(2019)03-0287-05

Study on rapid propagation technology of

Osmanthus fragrans var. *latifolius* Makino subvar. *Zhenzhu Caigui*

SUN Hongying^{1,2}, XIN Quanwei¹, LAN Siren²

(1. National Engineering Research Center of Juncao, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, Fujian 350002, China;

2. Forestry Post-doctoral Station, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, Fujian 350002, China)

Abstract: The explants were obtained from the late and semi-lignified stems containing shoots of selected adult trees. A very effective and economic technology for rapid propagation of *Osmanthus fragrans* var. *latifolius* Makino subvar. *Zhenzhu Caigui* was established through the proliferation of multiple-shoots. The result showed that the optimal starting medium was modified to woody plant medium(WPM)+2.0 mg·L⁻¹6-benzylaminopurine(6-BA)+0.5 mg·L⁻¹ gibberellin A₃(GA₃)+30 g·L⁻¹sucrose+6.5 g·L⁻¹ gelatin. The establishment rate was 86.4%. The optimal multiplication medium was modified to WPM+4.0 mg·L⁻¹6-BA+2.0 mg·L⁻¹6-glycosaminopurine, kinetin(KT)+0.5 mg·L⁻¹GA₃+30 g·L⁻¹sucrose+6.5 g·L⁻¹ gelatin. The subculture cycle was of 25 d, the highest multiplication rate was 5.8, and the optimal rooting medium was 1/2 WPM+3.0 mg·L⁻¹IBA+30 g·L⁻¹sucrose+6.5 g·L⁻¹ gelatin. The rate of rooting reached 89.5% within 30 d. The transplant matrices were perlite, vermiculite, and peat(1:1:1, V/V/V), and the corresponding transplant survival rate was >90%.

Key words: *Osmanthus fragrans* var. *latifolius* Makino subvar. *Zhenzhu Caigui*; semi-lignified stem; tissue culture

桂花 [*Osmanthus fragrans*(Thunb.) Lour.] 又名木犀, 是木犀科(Oleaceae) 木犀属(*Osmanthus*) 植物, 为传统的名贵香花, 在我国已有 2 000 a 以上的栽培历史, 既可观赏, 又可食用, 是绿化、美化、香化环境兼具的优良常绿园林树种和经济树种, 在南方地区大量栽培, 深受历代人民的喜爱^[1-3]。珍珠彩桂 (*Osmanthus fragrans* var. *latifolius* Makino subvar. *Zhenzhu Caigui*) 是银桂(*Osmanthus fragrans* var. *latifolius* Makino) 的变异品种, 原产地台湾, 后被引种到大陆。其叶片可以随着季节的变化而不断变换颜色, 初春嫩芽为紫红色, 后转为暗红, 进而转为桔黄、浅桔黄、黄白色、珍珠白, 接近成熟的叶片为灰绿色, 成熟叶片则变为绿色, 极具观赏价值和市场推广前景^[4]。至今, 有关桂花组织培养已有大量研究^[5-6], 但针对珍珠彩桂组培的研究还未见报道。本研究通过珍珠彩桂外植体消毒、启动培养、增殖培养、生根培养、炼苗移栽的研究, 建立珍珠彩桂高效组培快繁体系, 为优质种苗的培育提供技术支撑。

收稿日期: 2018-08-03 修回日期: 2018-10-09

基金项目: 国家自然科学基金项目(31500265); 福建农林大学第三批科技创新专项基金。

第一作者简介: 孙红英(1983-), 女, 助理研究员, 博士, 从事生物多样性与生态系统功能、植物生理生态、植物组织培养技术的研究。Email: shy198319@126.com。通信作者: 兰思仁(1963-), 男, 教授, 博士, 从事风景园林、林业、水土保持、园林植物与观赏园艺、森林公园建设和城市景观设计。Email: lsr9636@163.com。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

供试材料来源于广西桂林荔浦新林桂花苗木场。从健壮、无病虫害、生长良好的母株上选取芽点饱满、1 年生、半木质化的枝条作为外植体材料，保湿处理带回组培室。

1.2 试验方法

1.2.1 外植体消毒 将枝条切成 0.5~1.5 cm，去掉叶片和叶柄，在流水中冲洗 30 min，用柔软的牙刷清洗外植体表面，在 2%的 NaClO 溶液中浸泡 2 min，再用 75%的酒精处理 35、50 s 两个梯度，最后用 0.1%的 HgCl₂消毒 5、8 和 11 min，无菌水冲洗 4~5 遍后用无菌滤纸吸去外植体表面的水分，装入无菌瓶中备用。每个消毒处理 3 次重复，各 85 个茎段，共接种 1 530 个茎段。比较不同消毒时间的灭菌效果，30 d 后统计污染率和成活率。培养条件：温度(25±3) °C，光照时间 12 h·d⁻¹，光照强度 3 500 lx。以下均同。

1.2.2 启动培养 采用以下 6 种培养基进行启动培养：(1) 木本植物培养基(woody plant medium, WPM)+1.0 mg·L⁻¹6-苄氨基腺嘌呤(6-benzylaminopurine, 6-BA)+0.1 mg·L⁻¹赤霉素(gibberellin A₃, GA₃)；(2) WPM+2.0 mg·L⁻¹6-BA+0.1 mg·L⁻¹GA₃；(3) WPM+3.0 mg·L⁻¹6-BA+0.1 mg·L⁻¹GA₃；(4) WPM+1.0 mg·L⁻¹6-BA+0.5 mg·L⁻¹GA₃；(5) WPM+2.0 mg·L⁻¹6-BA+0.5 mg·L⁻¹GA₃；(6) WPM+3.0 mg·L⁻¹6-BA+0.5 mg·L⁻¹GA₃。以上各培养基均添加 30 g·L⁻¹蔗糖和 6.5 g·L⁻¹琼脂，pH 值为 5.8。每瓶接种 1 个外植体，每个处理 50 瓶。观察腋芽的生长情况，25 d 后，统计启动率。

1.2.3 增殖培养 采用 L₉(3⁴) 正交试验设计(表 1)。接种 25 d 后统计增殖系数。

1.2.4 生根培养 将株高 2 cm 左右，带有 2 对以上叶片的无根壮苗，转接到以 1/2WPM 为基本培养基，并分别添加 0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 和 3.0 mg·L⁻¹3-吲哚丁酸(3-indolebutyric acid, IBA) 的生根培养基上。每种培养基接种 20 瓶，每瓶 5 株，进行生根培养，30 d 后统计生根率。

1.2.5 炼苗移栽 将组培室培养 30 d 后的生根苗放到自然环境条件下，放置 3~5 d，拧开组培瓶瓶盖，放置 2 d，定时进行叶片喷水保湿，保证叶片伸展无卷叶、焦叶，促使组培苗适应自然环境条件。将组培苗从瓶中取出，在自来水中洗掉培养基，放到 5‰的高锰酸钾溶液中消毒 5 min，最后，用自来水清洗干净，移栽到珍珠岩:蛭石:泥炭土体积比为 1:1:1 的基质中，定时喷淋，30 d 后统计移栽成活率。

1.3 数据处理与分析

外植体污染率/%=污染个数/接种个数×100；成活率/%=成活个数/接种个数×100；启动率/%=茎段萌芽数/接种后无菌茎段总数×100；增殖系数/%=诱导后不定芽总数/原接种茎段总数×100；生根率/%=生根个数/接种个数×100；移栽成活率/%=存活苗数/移栽苗数×100。试验数据采用 SPSS 16.0 和 Excel 软件进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 外植体消毒

珍珠彩桂外植体消毒采用 75%的酒精和 0.1%HgCl₂组合处理，随着消毒时间的延长，污染率逐渐下降(表 2)。当 0.1%HgCl₂灭菌时间 5 min 时，处理 1 和处理 4 的污染率均高于 20%。使用 75%的酒精消毒 35 s 或 50 s、0.1%HgCl₂消毒 8 min，污染率分别是 16%和 17%，成活率是 68.3%和 73.3%，这两个处理污染率较低，成活率较高，且这两个处理间无显著差异，都可以作为珍珠彩桂外植体消毒的方法。珍珠彩桂最佳的消毒处理方法为：流水中冲洗 30 min→2%NaClO 溶液中浸泡 2 min→无菌水冲洗 3 遍→75%的酒精处理 35 s 或 50 s→无菌水冲洗 3 遍→0.1%的 HgCl₂消毒 8 min→无菌水冲洗 4~5 遍→无菌滤纸吸去外植体表面的水分。

表 1 增殖培养的因素及水平设置

Table 1 Factors and levels of proliferation culture (mg·L⁻¹)

水平 Level	因素 Factor		
	6-BA	KT	GA ₃
1	3.0	1.0	0.1
2	4.0	2.0	0.3
3	5.0	3.0	0.5

注：KT 为 6-糖基氨基嘌呤。Note: KT is kinetin.

表2 不同灭菌处理对外植体灭菌效果的影响

Table 2 Effects of different sterilizing on explants sterilization

处理编号 Treatment number	处理方法 Treatment	接种数 Inoculation number	污染率 Contamination rate/%	成活率 Survival rate/%
1	75%酒精 35 s+0.1%HgCl ₂ 5 min	85	25±4.0a	61.3±3.2b
	75% Ethanol 35 s+0.1%HgCl ₂ 5 min			
2	75%酒精 35 s+0.1%HgCl ₂ 8 min	85	16±2.0bc	68.3±4.9ab
	75% Ethanol 35 s+0.1%HgCl ₂ 8 min			
3	75%酒精 35 s+0.1%HgCl ₂ 11 min	85	19±2.6abc	62.0±2.6b
	75% Ethanol 35 s+0.1%HgCl ₂ 11 min			
4	75%酒精 50 s+0.1%HgCl ₂ 5 min	85	23±2.6ab	64.0±6.1ab
	75% Ethanol 50 s+0.1%HgCl ₂ 5 min			
5	75%酒精 50 s+0.1%HgCl ₂ 8 min	85	17±2.0bc	73.3±1.5a
	75% Ethanol 50 s+0.1%HgCl ₂ 8 min			
6	75%酒精 50 s+0.1%HgCl ₂ 11 min	85	14±3.6c	63.0±2.6ab
	75% Ethanol 50 s+0.1%HgCl ₂ 11 min			

注: 表中污染率和成活率为平均值±标准差; 同列数据后不同字母表示差异达 0.05 显著水平。Note: contamination rate and survival rate are the mean±standard deviation; different letters indicate difference of 0.05 significant level.

2.2 启动培养

不同培养基类型对珍珠彩桂外植体启动率的影响见表 3。培养基中添加 1.0 mg·L⁻¹6-BA, 虽然对珍珠彩桂有启动效果, 但启动率较低, 芽生长较慢, 长势弱。当培养基中添加 3.0 mg·L⁻¹6-BA 时, 芽虽然生长较快, 但叶片生长不正常, 且基部生长较大的愈伤组织较大。培养基中添加 2.0 mg·L⁻¹6-BA 和 0.1 mg·L⁻¹GA₃, 虽有较高的启动率, 但茎段较细, 长势一般。因此, 根据芽的生长状况筛选出最佳的腋芽诱导培养基为 WPM+2.0 mg·L⁻¹6-BA+0.5 mg·L⁻¹GA₃+6.5 g·L⁻¹琼脂+30 g·L⁻¹蔗糖, 启动率为 86.4%, 珍珠彩叶桂外植体在此培养基上芽生长较快, 叶片伸展, 浓绿, 腋芽较粗。[HJ* 8]

表3 培养基类型对珍珠彩桂外植体启动率的影响

Table 3 Effects of medium types on explant initiation rate of *Osmanthus fragrans* var. *latifolius* subvar. *Zhenzhu Caigui*

处理编号 Number of treatment	6-BA 质量 浓度 6-BA concentration /(mg·L ⁻¹)	GA ₃ 质量 浓度 GA ₃ concentration /(mg·L ⁻¹)	接种后无菌 外植体数 Number of sterile explants	萌芽数 Number of germination	启动率 Initiation rate/%	启动情况 Initiation situation
1	1.0	0.1	38	11	28.9	芽生长较慢, 叶片泛黄, 长势较弱 The buds grow slowly and the leaves are yellow and weak
2	2.0	0.1	42	32	76.2	芽生长快, 茎段细, 长势一般 The buds grow fast, the stem section is fine, and grows as usual
3	3.0	0.1	34	25	73.5	芽生长较快, 基部愈伤组织较大, 叶片卷曲 The buds grow faster, the callus at the base is larger, and the leaves are curled
4	1.0	0.5	39	15	38.5	芽生长慢, 茎段较细, 长势弱 The buds grow slowly and the stem section is fine and weak
5	2.0	0.5	44	37	86.4	芽生长快, 叶片伸展, 浓绿, 腋芽较粗 The buds grow fast, the leaves extends, and are thick green; axillary buds are thicker
6	3.0	0.5	33	23	69.7	芽生长较快, 基部愈伤组织较大, 新芽水渍状, 出现玻璃化 The buds grow faster, the callus at the base is larger; the new buds are water stained and vitrified

2.3 增殖培养

不同激素对珍珠彩桂增殖的影响见表 4。不同激素对珍珠彩桂的增殖都有较大影响, 3 种激素对增殖作用由大到小的顺序为: 6-BA>KT>GA₃。6-BA 在珍珠彩桂的继代培养中作用最大, 其 R 值为 2.7。6-BA 的 3 个浓度梯度的 K 值分别为 2.1、4.8 和 3.8。可见, 珍珠彩桂的增殖系数并不是随着 6-BA 的增加而增加。不同处理都有不同程度的增殖, 其增殖系数最大的是 5 号培养基, 增殖系数为 5.8。珍珠彩桂增殖最佳培养基为: WPM+4.0 mg·L⁻¹6-BA+2.0 mg·L⁻¹KT+0.5 mg·L⁻¹GA₃+6.5 g·L⁻¹琼脂+30 g·L⁻¹蔗糖。

表 4 不同激素对珍珠彩桂增殖的影响

Table 4 Effects of different hormone combination on the proliferation of *Osmanthus fragrans* var. *latifolius* subvar. *Zhenzhu Caigui*

处理编号 Number of treatment	6-BA 质量浓度 6-BA concentration /(mg · L ⁻¹)	KT 质量浓度 KT concentration /(mg · L ⁻¹)	GA ₃ 质量浓度 GA ₃ concentration /(mg · L ⁻¹)	增殖系数 Proliferation coefficient
1	3.0	1.0	0.1	1.5
2	3.0	2.0	0.3	2.1
3	3.0	3.0	0.5	2.7
4	4.0	1.0	0.3	3.9
5	4.0	2.0	0.5	5.8
6	4.0	3.0	0.1	4.6
7	5.0	1.0	0.5	3.7
8	5.0	2.0	0.1	4.2
9	5.0	3.0	0.3	3.5
K1	2.1	3.0	3.4	
K2	4.8	4.0	3.2	
K3	3.8	3.6	4.1	
R	2.7	1.0	0.9	

从方差分析(表 5)中可看出,在珍珠彩桂继代过程中,6-BA 对增殖系数影响最大($F = 307.562$),在 0.01 水平达到显著;其次为 KT($F = 42.437$),在 0.05 水平达到显著;再次为 GA₃($F = 36.062$),在 0.05 水平显著。结果与极差分析一致。

2.4 生根培养

将继代培养 1 个周期(25 d),高度为 2 cm 左右的单株接种到添加有不同质量浓度 IBA 的生根培养基中。10 d 左右根基部凸起,根原基形成,15 d 从根原基上长出嫩根,30 d 根长至 3 cm 左右。从表 6 可以看出,当 IBA 质量浓度为 1.0~3.0 mg · L⁻¹ 时,随着 IBA 质量浓度的升高,平均根长逐渐升高,平均根数逐渐增加。当 IBA 质量浓度为 3.0~4.0 mg · L⁻¹ 时,平均根长、平均根数和生根率逐渐下降,而当 IBA 质量浓度为 3.0 mg · L⁻¹ 时,生根较快,根系较粗,生根时间短,生根率较高。当生根培养基为 1/2WPM+3.0 mg · L⁻¹ IBA,生根率达 89.5%。

表 5 不同激素组合对珍珠彩桂增殖影响的方差分析

Table 5 The variance analysis of on the proliferation of *Osmanthus fragrans* var. *latifolius* subvar. *Zhenzhu Caigui*

变异来源 Sources of variation	平方和 Sum of square	自由度 Degree of freedom	均方 Mean square	F 值 F value	P 值 P value
6-BA	10.936	2	5.468	307.562	0.003
KT	1.509	2	0.754	42.437	0.023
GA ₃	1.282	2	0.641	36.062	0.027
误差	0.036	2	0.018		
总和	13.762	8			

表 6 不同质量浓度 IBA 对珍珠彩桂生根的影响

Table 6 Effects of different concentrations of IBA on rooting of *Osmanthus fragrans* var. *latifolius* subvar. *Zhenzhu Caigui*

IBA 质量浓度 IBA concentration /(mg · L ⁻¹)	平均根长 Average length of root/cm	平均根数 Average number of roots	生根率 Rooting rate/%	生长状况 Growth status
1.0	1.32±0.14d	1.52±0.31c	32.5±7.10d	生长慢,根细长,根部无愈伤组织形成 Slow growth, slender roots, no callus formation in the root
2.0	1.85±0.48cd	2.23±0.38bc	44.6±11.48cd	生长慢,根细长,生根时间长,形成颗粒状愈伤组织 Slow growth, slender roots, long rooting time, granular callus formed
2.5	2.24±0.12bc	3.36±0.21a	61.3±9.70bc	生长慢,根变粗,生根时间长,根部皮层愈伤组织凸起 Slow growth, roots thickening, long rooting time, root cortex callus bulged
3.0	3.15±0.13a	3.78±0.14a	89.5±6.21a	生长快,根变粗,生根时间短,根原基凸起 Fast growth, roots thickening, short rooting time, root primordium raised
3.5	2.81±0.10ab	3.12±0.35ab	77.4±11.25ab	生长快,根粗壮,根短,根部愈伤组织较大 Fast growth, strong roots, short rooting and large callus
4.0	2.46±0.04b	2.85±0.56ab	65.2±13.55abc	生长快,根粗壮,生根短,根部表面爆裂,愈伤组织大 Fast growth, strong roots, short roots, root surface burst, large callus

注:表中数据为平均值±标准差;同列数据后不同字母表示差异达 0.05 显著水平。Note: data in the table is the mean±standard deviation; different letters indicate difference of 0.05 significant level.

2.5 炼苗移栽

移栽 30 d 后,统计珍珠彩桂组培苗的成活率,成活率达到 90% 以上。移栽 50 d,珍珠彩桂组培苗叶片舒展变大,叶片深绿色,顶芽有新叶长出。

3 讨论与结论

木本植物组织培养首先要确保所有材料无菌状态,常用外植体消毒剂有次氯酸钠、乙醇、过氧化乙酸、苯酚、升汞等^[7]。在珍珠彩桂消毒过程中,使用 75% 酒精和 0.1% 升汞处理外植体达到较好的消毒效果,最终优选出珍珠彩桂外植体消毒方式为:流水中冲洗 30 min→2% 的 NaClO 溶液中浸泡 2 min→无菌水冲洗 3 遍→75% 的酒精处理 35 s 或 50 s→无菌水冲洗 3 遍→0.1% 的 HgCl₂ 消毒 8 min→无菌水冲洗 4~5 遍→无菌滤纸吸去外植体表面的水分。75% 酒精和 0.1% 升汞处理组合,随着消毒时间的增加外植体成活率增加,达到最优消毒处理组合后,随着时间的增加,成活率呈下降趋势,经分析,0.1% 升汞在消毒过程中消毒时间较长时会毒害外植体,导致成活率下降。王莹等^[8]在不同消毒剂不同浓度激素对鹿耳草外植体诱导研究的研究中也有类似的报道。

继代增殖是组织培养的关键,找到适合的增殖培养基配方才能达到组培快繁的目的^[9]。在珍珠彩桂继代培养过程中,6-BA、KT 和 GA₃ 对珍珠彩桂组培苗均有显著影响,但 6-BA 增殖作用最大,在一定范围内,随着使用浓度增加增殖系数在逐渐升高,当达到一定浓度时,随着 6-BA 浓度增加增殖系数逐渐降低,与姜傲芳等^[10]对薜荔组织培养的研究结果一致。最终筛选出最适珍珠彩桂增殖的培养基为:WPM+4.0 mg·L⁻¹6-BA+2.0 mg·L⁻¹KT+0.5 mg·L⁻¹GA₃+6.5 g·L⁻¹琼脂+30 g·L⁻¹蔗糖,增殖系数为 5.8。

在植物快速繁殖中,培养基中添加一定质量浓度的生长素有利于诱导生根^[11]。在生根培养过程中发现,随着 IBA 的使用浓度的增加,平均根长和平均生根率均随之增加,但达到一定浓度范围,继续增加 IBA 的使用浓度,反而平均根长和平均生根率均随之下降,这与激素的两重性作用相一致,低浓度促进生根,高浓度抑制生根。最终筛选出珍珠彩桂最佳的生根培养基为 1/2WPM+3.0 mg·L⁻¹IBA,生根率可达 89.5%。

WPM 广泛用于木本植物离体培养,其无机盐总含量远低于 MS 培养基,WPM 中 N 的含量仅相当于 1/4MS,而 K 的含量略低于 3/4MS,Ca、P 和 Mg 的含量与 MS 相同^[12]。本研究使用 WPM 培养基不仅获得了珍珠彩桂组培苗较高的增殖系数且得到了较高的生根率,因此,WPM 是适合珍珠彩桂组培快繁的基本培养基。综上所述,本研究成功建立了珍珠彩桂成熟的快繁体系,较高的增殖系数、生根率、移栽成活率可以降低组培生产成本,为珍珠彩桂工厂化快速育苗提供了理论基础和技术支撑,为当前珍珠彩桂供不应求的市场提供了一条快速繁殖的技术体系,具有重要的现实意义。

参考文献

- [1] 杨康民,朱文江. 桂花[M]. 上海:上海科学技术出版社,2000.
- [2] 陈俊愉,程绪珂. 中国花经[M]. 上海:上海文化出版社,1990.
- [3] 常炳华. 桂花品种整理及其景观应用研究[D]. 上海:华东师范大学,2007.
- [4] 曾慧杰,王小明,李永欣,等. ‘珍珠彩桂’高位嫁接技术研究[J]. 湖南林业科技,2015,42(3): 6-11.
- [5] 李林,韩远记,袁王俊,等. 桂花组织培养快繁体系的建立[J]. 河南大学学报(自然科学版),2013,43(6): 667-671.
- [6] 胡甜甜,王亚莉,杨秀莲,等. 桂花花梗与叶片的愈伤组织诱导研究[J]. 北方园艺,2015(19): 95-101.
- [7] 王利民,周毅,陈龙友,等. 植物组织培养中消毒剂的运用[J]. 贵州师范大学学报(自然科学版),2002,20(1): 15-17.
- [8] 张玉,王继丰,倪红伟,等. 腋囊苔草组织培养外植体消毒方法研究[J]. 国土与自然资源研究,2018(4): 80-82.
- [9] 李秋玲,李青,刘燕,等. 春石斛继代培养主要影响因素[J]. 东北林业大学学报,2014,42(7): 69-73.
- [10] 姜傲芳,田大伦,谭晓风,等. 薜荔茎段的组织培养与植株再生技术[J]. 中南林业科技大学学报,2007,27(3): 10-13.
- [11] HUANG L C, MURASHIGE T. Tissue culture investigation of bamboo I: callus culture of *Bambusa*, *Phyllostachys* and *Sasa* [J]. Botanical Bulletin Academia Sinica, 1983, 24: 31-52.
- [12] 付姝颖,潘超美,刘良婷,等. 药用植物猴耳环的组织培养与快速繁殖[J]. 植物生理学报,2015,51(12): 2 195-2 200.