

· 应用技术 ·

花榈木组织培养植株再生体系的建立

桂平^{1,2}, 韦小丽¹, 乔栋¹, 吴高殷¹

(1.贵州大学林学院, 贵阳 550025; 2.铜仁职业技术学院, 贵州 铜仁 554303)

Establishment of Plantlet Regeneration System of
Tissue Culture of *Ormosia henryi*GUI Ping^{1,2}, WEI Xiaoli¹, QIAO Dong¹, WU Gaoyin¹

摘要:为建立花榈木的组织培养体系,以花榈木籽苗茎段为外植体,分别开展了基本培养基、增殖培养基和生根培养基的筛选及试管内外生根效果对比试验。结果表明,MS为花榈木最适宜的基本培养基;最佳的增殖培养基为MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L+琼脂8 g/L+蔗糖30 g/L,增殖率为86.67%;瓶外生根方式优于瓶内生根,采用NAA 2 mg/L+IBA 1 mg/L生根液浸泡花榈木无根苗基部20 min,在石英砂:泥炭土(1:1)的基质中进行瓶外生根,效果最好,生根率达88.89%。

关键词: 花榈木; 组织培养; 基本培养基; 试管内生根; 试管外生根

DOI 编码: 10.16590/j.cnki.1001-4705.2018.11.135

中图分类号: S 792.99; Q 813.1⁺2 文献标志码: A

文章编号: 1001-4705(2018)11-0135-05

花榈木(*Ormosia henryi* Prain),又名花梨木,属蝶形花科红豆属常绿乔木,是国家二级重点保护植物^[1]。其木材结构均匀,硬度适中,耐腐朽且花纹别致,色泽紫红光亮,是高档家具、工艺雕刻品和特种装饰品的珍贵高档用材树种^[2];花榈木还是一种优良的园林绿化观赏树种和珍贵的中草药^[2]。由于花榈木种质资源稀少,自然繁殖力低下^[3]且种子采集十分不易,采用组织培养繁育种苗无疑是一种实用且高效的途径。目前关于花榈木的组织培养已取得一定的成效,高丽等^[4-5]以花榈木幼苗胚轴为外植体,诱导出愈伤组织且产生了不定芽,并开展了花榈木茎段低温胁迫培养及耐冷性试验;乔栋等对花榈木组织培养中外植体的消毒方法进行了研究^[6];姚军等^[7]以花榈木种子为外植体,初步构建了花榈木组培体系。但以花榈木茎

段为外植体的组织培养快繁体系还未建立。为此,本研究以花榈木萌发籽苗茎段为外植体,分别开展了基本培养基、丛生芽诱导培养基和生根培养基筛选、试管内外生根比较试验,以期建立完善的花榈木组织培养体系,为花榈木种质资源保存和实现工厂化育苗提供技术指导。

1 材料与方法

1.1 材料

实验材料为人工气候箱内设置温度25℃,湿度60%,光照12 h/d条件下萌发10 d的健壮籽苗。

1.2 灭菌方法

采用乔栋等^[6]的方法进行灭菌,将萌发10 d的籽苗除去根部,流水下冲洗干净,于洗涤剂溶液中浸泡15 min,用自来水冲洗30 min后转至超净工作台上备用,在超净工作台上先用70%乙醇浸泡30 s;再用0.1%升汞灭菌8 min;最后用70%乙醇浸泡30 s;期间用无菌水冲洗4~5次,即获得无菌材料。将茎段剪切为1~1.5 cm(带1~2个芽)长的外植体,待接种于灭菌好的培养基中。

1.3 基本培养基的筛选

以MS、B5、WPM为基本培养基,分别添加激素6-BA 2 mg/L+NAA 0.5 mg/L,琼脂8 g/L,蔗糖30 g/L,pH调至5.8。每处理3次重复,每重复接种20瓶,每瓶接种1~2个外植体。从第14天开始,每7天观察记录1次外植体诱导和生长情况,60 d后统计试验结果。

收稿日期:2018-06-30

基金项目:贵州高层次创新人才培养计划“百层次人才”(黔科合平台人才[2016]5661);国家自然科学基金“花榈木根瘤菌多样性及幼苗形成调控因素研究”(31460193);贵州省国际合作项目“珍贵用材树种花榈木精准化容器育苗理论与技术研究”(G字(2012)7012);贵州省林业厅重大攻关“贵州优质阔叶用材树种培育技术与示范”(黔林科合(2010)重大02号)。

作者简介:桂平(1989—),女,贵州铜仁人;讲师,研究方向:园林植物与观赏园艺;E-mail:390644166@qq.com。

通讯作者:韦小丽(1969—),女,贵州道真人;教授,博士生导师,主要从事森林培育研究;E-mail:gdwxl-69@126.com。

1.4 增殖培养基的筛选

以初代培养的芽为外植体,MS 为基本培养基,设计 6-BA(0.5, 1.0, 2.0) mg/L 和 NAA(0.5, 1.0, 2.0) mg/L 两因素三水平的全面试验,分别添加蔗糖 30 g/L,琼脂 8 g/L,pH 调至 5.8。每个处理 2 次重复,每次重复接种 20 瓶,每瓶 1~2 个材料,以筛选增殖培养基适宜的激素配比。每 10 天观察并记录 1 次外植体增殖情况,持续观察 60 d。

1.5 试管内、外生根试验

1.5.1 试管内生根及移栽

将增殖培养中高于 4 cm、基部粗度 0.2 cm 以上的健壮芽从组培瓶中取出,基部斜剪 45°切口,垂直插入生根培养基中。设计以基本培养基、NAA、IBA 和活性炭(AC)四因素三水平的正交试验(表 1),选用正交表为 $L_9(3^4)$,分别添加蔗糖 10 g/L,琼脂 8 g/L,pH 调至 6.0。每个处理 2 次重复,每次重复接种 20 瓶,每瓶 1 个外植体,每 10 天观察并记录外植体根系生长情况,持续观察 60 d。在瓶内生根的植株中选择根数 ≥ 4 条、根长 ≥ 5 cm 且叶片数 ≥ 5 片的健壮瓶苗 30 株,移至自然光下 3~4 d,再打开透气膜于 20~24 °C 常温下炼苗 3 d,随后取出植株,洗净附在根系上的培养基,移栽至已高压灭菌消毒的混合基质(泥炭土:蛭石:珍珠岩为 1:1:1)中,于遮荫率 25% 的条件下生长,定期浇水以保持基质湿度,观察记录移栽苗生长情况,45 d 后统计成活率。

表 1 试管内生根培养正交试验因素水平

水平	A 培养基	B NAA(mg/L)	C IBA(mg/L)	D AC(g/L)
1	1(MS)	1(0)	1(0)	1(0)
2	2(1/2 MS)	2(1.0)	2(1.0)	2(0.5)
3	3(1/2 WPM)	3(2.0)	3(2.0)	3(1.0)

1.5.2 试管外生根

试管外生根激素配比选用本研究得出的最适试管内生根激素条件:NAA 2 mg/L+IBA 1 mg/L。将从生芽诱导中高于 4 cm、基部粗度 0.2 cm 以上的健壮苗从组培瓶中取出,基部斜剪 45°切口,置于生根液

(NAA 2 mg/L+IBA 1 mg/L)中浸泡 20 min,取出放置 10 min 后分别垂直插入纯蛭石、纯石英砂、蛭石:泥炭土(1:1)及石英砂:泥炭土(1:1)4 种经高压灭菌的基质中,每基质扦插 30 株试管苗,于大棚内室温控制在 22~26 °C 的环境中生根,保持基质湿度,45 d 后统计生根率和根系质量。

1.6 培养条件

培养室温度保持(25±2)°C,光照强度 3 000 lx,光周期为 12 h/d。

1.7 统计分析方法

采用 PASW statistics 18.0 软件和 Excel 2016 软件共同对实验结果进行分析与统计。

2 结果与分析

2.1 不同基本培养基对茎段培养的影响

MS、WPM 和 B5 等 3 种培养基的诱导试验结果(表 2)表明,B5 培养基中的丛生芽诱导率和芽数均最高,分别达 97.15% 和 11.67 个,诱导率分别比 MS 和 WPM 高 16.73% 和 56.44%,芽数分别为 MS 和 WPM 的 1.81 倍和 2.7 倍。从芽诱导率、芽数和基部褐化程度评价最为理想的培养基应为 B5,但从后期的生长情况看,其丛生芽生长较细弱,不利于后续的增殖和生根培养。MS 培养基中开始诱导丛生芽时间相对较短,芽苗生长健壮且 1 个月以后已逐渐具备转瓶生根或继代培养的条件,为花榈木初代培养最适宜的基本培养基。方差分析结果表明,不同基本培养基间丛生芽诱导率和芽数均存在极显著差异($p < 0.01$)。

同列不同大、小写字母分别表示差异极显著($p < 0.01$)和差异显著($p < 0.05$)。下同。

2.2 不同激素比对茎段丛生芽诱导率的影响

试验结果(表 3)表明:随着 6-BA 浓度的增加,平均增殖率逐渐升高,到 2 mg/L 时,平均增殖率为 58.64%,比 0.5 mg/L 和 1 mg/L 水平分别高 16.42% 和 40.86%;而随着 NAA 浓度的增高,平均增殖率逐渐下降,到 2 mg/L 时,平均增殖率仅 14.19%,比 0.5 mg/L 和 1.0 mg/L 水平分别下降 50.25% 和 25.8%。方差分析

表 2 不同基本培养基对花榈木茎段初代培养的影响

培养基	芽诱导率 (%)	芽数 (个)	14 d 生长状况	28 d 生长状况	61 d 生长状况	基部褐化程度
MS	80.42±3.38 bB	6.43±0.45 bB	出现丛生芽点	丛生芽生长迅速	丛生芽多,芽生长健壮	++
WPM	40.71±5.29 cC	4.33±0.23 cC	无明显变化	无明显变化	丛生芽较少	++++
B5	97.15±2.48 aA	11.67±0.29 aA	无明显变化	大量丛生芽点	丛生芽最多,芽较细弱	---

注:“++”表示愈伤组织的褐化程度,“++++”表示褐化极严重,“---”表示基本无褐化;同列不同小写字母表示差异显著($p < 0.05$),同列不同大写字母表示差异显著($p < 0.01$)。

(表3)表明,培养基中不同浓度的6-BA和NAA对增殖率的影响极显著($p < 0.01$)。因此可得,高浓度的6-BA与低浓度的NAA组合对花榈木丛生芽的增殖效果较理想,即MS+6-BA 2 mg/L+NAA 0.5 mg/L为增殖培养最适宜的培养基。

表3 6-BA和NAA不同浓度组合对增殖培养的结果

试验号	6-BA (mg/L)	NAA (mg/L)	增殖率 (%)
1	0.5	0.5	33.33±9.43
2	0.5	1	13.33±0.00
3	0.5	2	6.67±0.00
4	1	0.5	73.33±9.43
5	1	1	40.00±0.00
6	1	2	13.33±0.00
7	2	0.5	86.67±14.14
8	2	1	66.67±4.71
9	2	2	22.58±4.56

2.3 不同生根方式对花榈木试管苗生根效果的影响

2.3.1 试管内生根

花榈木试管苗试管内生根的结果(表5,图1A、B)表明,在MS培养基中,试管苗存在少量生根或几乎不

能生根,已生根的少量试管苗还存在叶片掉落现象;1/2 MS中虽都能诱导根系生成,但诱导率相对较低且根系质量差;在1/2 WPM培养基中,开始生根时间、平均生根率、根数、根长均优于其他培养基。激素NAA和IBA单独使用和搭配使用均能诱导生根,但搭配使用时效果较好,单独使用时,NAA生根效果优于IBA。从观察记录中发现,花榈木瓶内生根开始时间较晚且生长较慢,在17 d后才开始产生根突,45 d后根系生长才相对较快,60 d后趋于稳定,可见,花榈木瓶内生根培养1周期至少需要60 d。

表4 增殖培养试验方差分析结果

变差来源	离差平方和	自由度	均方	F值
A	2 255.86	2	1 127.93	25.19**
B	3 323.62	2	1 661.81	37.12**
e	582	13	44.77	
总和	6 161.48	17		

注: $F_{0.05}(2,13)=3.81, F_{0.01}(2,13)=6.7$

对试管苗瓶内生根率、根数进行直观分析,结果(表6)表明,四因素对生根率影响的主次关系为:基本培养基>IBA>NAA>AC,对根数影响的主次关系



注:A为瓶内生根;B为瓶内生根60 d根系;C为瓶外生根;D为瓶外生根45 d根系

图1 瓶内外生根植株

表5 花榈木试管苗生根培养试验结果

处理	A 基本培养基	B NAA(mg/L)	C IBA(mg/L)	D AC(mg/L)	开始生根时间(d)	生根率 (%)	根数 (条)	根长 (cm)
1	MS	0	0	0	0±0	0.00±0.00	0.0±0.0	0.0±0.0
2	MS	1	1	0.5	0±0	0.00±0.00	0.0±0.0	0.0±0.0
3	MS	2	2	1	17±4	57.15±0.00	4.1±0.1	0.8±0.2
4	1/2 MS	0	1	1	43±4	50.00±10.11	4.0±0.6	2.4±0.6
5	1/2 MS	1	2	0	33±4	64.29±10.10	3.3±0.4	3.2±0.3
6	1/2 MS	2	0	0.5	55±7	14.28±3.22	2.5±0.4	0.2±0.0
7	1/2 WPM	0	2	0.5	23±4	85.72±20.2	3.4±0.3	1.1±0.1
8	1/2 WPM	1	0	1	19±2	85.71±0.00	5.4±0.5	2.3±0.4
9	1/2 WPM	2	1	0	18±3	92.86±10.10	5.9±0.4	2.6±0.1

为:基本培养基>AC>NAA>IBA,最优组合均为 A 3 B 3 C 3 D 3,即 1/2 WPM+NAA 2.0 mg/L+IBA 2 mg/L+AC 1 g/L。为此,采用最佳理论组合 A 3 B 3 C 3 D 3 进行生根培养验证,设计 2 次重复试验,每次重复接种 20 个材料,结果得出 A 3 B 3 C 3 D 3 组合生根率为(67.50±10.61)%,平均根数为(3.8±1.0)个,生根效果不及实际试验得出的 9 号好,从试验总体观察中得到,幼芽在没有添加活性炭的培养基中的生长势优于有活性炭的培养基,可能是由于活性炭的吸附性,吸附了培养基中的营养物质所致。所以生根培养最佳的培养基应为 9 号,即 1/2 WPM+NAA 2.0 mg/L+IBA 1.0 mg/L。方差分析(表 7)表明,4 因素对根数都有极显著影响($p<0.01$),对生根率的影响,除 NAA 不显著外($p>0.05$),其余 3 因素均有显著影响($p<0.05$)。

表 6 增殖培养的极差分析

生根指标	因素	水平 1 均值 k1	水平 2 均值 k2	水平 3 均值 k3	极差 R 绝对值	最优方案
生根率	基本培养基	32.74	80.36	147.02	114.28	3 水平
	NAA	79.23	80.79	100.10	20.87	3 水平
	IBA	59.95	82.60	117.57	57.62	3 水平
	AC	88.20	63.99	107.93	19.74	3 水平
根数	基本培养基	2.7	6.5	9.8	7.1	3 水平
	NAA	4.9	5.8	8.3	3.4	3 水平
	IBA	5.3	6.6	7.2	1.9	3 水平
	AC	6.1	3.9	9.0	5.1	3 水平

表 7 花榈木试管苗生根培养方差分析结果

因变量	变差来源	离差平方和	自由度	均方	F 值
诱导率	基本培养基	9 885.57	2	4 942.79	52.57**
	NAA	405.24	2	202.62	2.16
	IBA	2 527.77	2	1 263.88	13.44**
	AC	1 453.26	2	726.63	7.73*
	误差	846.20	9	94.02	
	总和	15 118.03	17		
根数	基本培养基	37.80	2	18.90	137.89**
	NAA	9.29	2	4.64	33.87**
	IBA	2.93	2	1.46	10.68**
	AC	19.37	2	9.69	70.67**
	误差	1.23	9	0.14	
	总和	70.62	17		

注: $F_{0.05}(2,9)=4.26, F_{0.01}(2,9)=8.02$ 。

将试管内生根健壮苗移栽至(泥炭土:珍珠岩:蛭石为1:1:1)基质生长 45 d,结果表明,大部分植株已长出 2~3 片新叶,叶片颜色嫩绿,除 3 株植株前期萎焉已经死亡外,其余植株长势均较好,成活率高达 90%。

2.3.2 试管外生根

采用单一基质和混合基质共 4 种方式进行试管外

生根 45 d 试验,结果(表 8,图 1 C、D)表明,与单一基质相比,混合基质更适宜花榈木瓶外生根。混合基质中平均生根率比单一基质高 25.77%,平均根数是单一基质的 2.77 倍,其中以石英砂:泥炭土(1:1)基质生根率和生根数最为理想,分别达 88.89%和 4.7 条,是花榈木试管苗瓶外生根的理想基质。从观察中发现,试管外生根 16 d 可见根突发生且根系生长相对较快,45 d 即可长出完好根系且根系质量较好,有大量须根产生,相比瓶内生根,可节约生根时间 15 d。方差分析结果表明,不同基质对瓶外生根率和根数均存在极显著影响($p<0.01$)。

表 8 不同基质对试管外生根的影响

基质	生根率(%)	根数(条)
纯蛭石	64.44±3.85 cB	1.6±0.2 cC
纯石英砂	53.33±6.67 dB	1.4±0.1 cC
蛭石:泥炭土1:1	80.42±7.22 bA	3.6±0.4 bB
石英砂:泥炭土1:1	88.89±3.86 aA	4.7±0.4 aA

3 瓶内外生根成本模拟与效益比较

由试验得出,花榈木试管苗生长较缓慢,生产一批花榈木组培苗从接种、生根到炼苗移栽,以最短时间计算,试管内生根需要 225 d(诱导 60 d,增殖 60 d,生根 60 d,炼苗移栽 45 d),试管外生根需要 165 d(诱导 60 d,增殖 60 d,生根 45 d),采用试管外生根可节约 60 d。

瓶内生根比瓶外生根多出的成本主要为培养基成本、人工成本和用电成本^[8]。以提供 1 万株增殖无根苗为例,分别做试管内外生根,最终以效益产出作比较(表 9)。其中试管无根苗按照试验中最佳的增殖方案培养所得,即在 MS+6-BA 2.0+NAA 0.5+蔗糖 30 g/L+琼脂 8 g/L 中进行 2 次增殖培养获得,每培养瓶接种 2 个材料,中途替换 1 次培养基,则共需 MS 培养基 55 L,试管内生根需 1/2 WPM 培养基 250 L。

按照市场价,花榈木苗 10 元/株,试管内生根率按 92.86%,移栽成活率按 90%,试管外生根率按 88.89%计算,人工费 150 元/d、水费 2 元/t、电费 0.6 元/度,营养杯、基质和药品试剂均按市场价计算,以提供 1 万株花榈木试管无根苗,通过试管内生根及炼苗移栽最终可获得 8 358 株组培苗,试管外生根最终可获得 8 889 株组培苗,通过简易核算,前期成本约 1 240.69 元,瓶内生根成本约 12 360.8 元,瓶外生根成本约 6 540.00 元,则生产 1 株组培苗瓶内生根的成本是瓶外生根成本的 2.34 倍(瓶内生根方式约 1.36 元,瓶内生根方式约 0.58 元)。相比瓶内生根,瓶外生根可节约成本 5 820.80 元,提高收益 18.7%。

表9 花榈木试管苗瓶内外生根成本计算

项目名称	前期成本(元)	试管内生根及移栽管理成本(元)	试管外生根及管理成本(元)
药品试剂费	263.45	812.30	
人工费	900.00	7 050.00	1 500.00
电费	69.24	418.50	
水费	8.00	80.00	40.00
营养杯		2 000.00	2 000.00
基质		2 000.00	3 000.00
小计	1 240.69	12 360.80	6 540.00

4 结论与讨论

4.1 结论

MS为花榈木初代培养最适宜的基本培养基,初代培养的芽在培养基MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L+琼脂 8 g/L+蔗糖 30 g/L中进行增殖培养效果最好,增殖率达86.67%;瓶内生根最佳的培养基为1/2 WPM+NAA 2.0 mg/L+IBA 1.0 mg/L+琼脂 8 g/L+蔗糖 10 g/L,生根率达92.86%,平均根数达5.7根,将瓶内生根苗移栽至泥炭土:蛭石:珍珠岩(1:1:1)混合基质中,成活率达90%;瓶外生根采用NAA 2 mg/L+IBA 1 mg/L生根液浸泡试管无根苗基部20 min,在基质石英砂:泥炭土(1:1)进行试管外生根效果最好,生根率达88.89%;模拟计算结果得出,与试管内生根相比,瓶外生根可节约成本5 820.80元/10 000株,提高收益18.7%。

4.2 讨论

选择适宜的基本培养基是组织培养成功的关键^[9],通常高盐浓度的培养基利于启动和增殖培养,低盐浓度的培养基利于生根培养^[10]。试验得出,花榈木组织培养所适宜的基本培养基与大多数植物类似,初代适宜为MS,生根培养阶段适宜为1/2 WPM。在初代培养诱导阶段,虽然MS为最佳的基本培养基选择,但存在一定的褐化现象,这可能与培养基中含有较高的无机盐浓度有关,通过降低培养基的pH值、缩短转瓶周期或在培养基中加入防褐化剂如PVP(聚乙烯吡咯烷酮)、Vc(抗坏血酸)、CA(柠檬酸)和AgNO₃(硝酸银)等可有效防止褐化现象发生^[11-12]。

培养基的种类对花榈木试管无根苗生根效果影响显著,这与邹英宁等和王军娥^[13-14]的研究结果类似。花榈木试管无根苗在1/2 WPM+IBA 1.0 mg/L+NAA 2.0 mg/L的生根效果最佳,生根率达92.86%,研究结果表明,NAA与IBA单独或搭配使用都能诱导花榈木试管无根苗产生根系,但以搭配使用效果最好,这与何碧珠等^[15]的研究结果一致。

试管苗瓶外生根把生根与驯化有机地结合起来,有效缩短了育苗周期,节约生产成本,相对于瓶内生根的组培苗来说,提高了移栽成活率,加速了种苗繁殖的进程,是一项在组培工厂化育苗中值得应用与推广的技术^[16],大量试验证明,瓶外生根的生根率比瓶内生根率低^[17],本试验得出,花榈木瓶外生根率比瓶内生根率低3.97%,瓶内生根的苗要适应外界环境,需进行炼苗移栽驯化,花榈木炼苗移栽后存在10%的死亡率,因此,通过对瓶内外生根成本的模拟核算得知,瓶外生根可节约时间成本、经济成本和提高经济效益,应为花榈木组织培养最适宜的生根方式。

参考文献:

- [1]于永福.中国野生植物保护工作的里程碑——《国家重点保护野生植物名录(第一批)》出台[J].植物杂志,1999(5):3.
- [2]姚军.“材貌双绝”花榈木[J].园林,2007(3):18-19.
- [3]邓兆,韦小丽,孟宪帅,等.花榈木种子休眠和萌发的初步研究[J].贵州农业科学,2011(5):69-72.
- [4]高丽,李洪林,杨波.花榈木胚轴愈伤组织的诱导及植株再生[J].安徽农业科学,2009(33):16 271-16 273.
- [5]高丽,杨波,李洪林.花榈木组培苗茎段低温胁迫培养及耐冷性诱导[J].亚热带植物科学,2009,38(2):19-21,25.
- [6]乔栋,韦小丽,李群.珍稀树种花榈木组培不同外植体的无菌繁殖体系构建[J].西南农业学报,2016(7):1 719-1 723.
- [7]姚军,李洪林,杨波.花榈木的组织培养和快速繁殖[J].植物生理学通讯,2007(1):123-124.
- [8]施琼,胡峰,黄烈健.马大杂种相思瓶内和瓶外生根技术研究[J].植物研究,2015,35(6):891-897.
- [9]王育选,任建宏,王鹏丽,等.五台山野生迎红杜鹃组织培养技术研究[J].种子,2017,36(3):122-125.
- [10]马燕,韩瑞超,臧德奎,等.木本观赏植物组织培养研究进展[J].安徽农业科学,2012,40(4):1 956-1 958.
- [11]杨寻,张洋,洪香香.山茱萸科植物组织培养研究进展[J].种子,2016,35(8):50-54,59.
- [12]谢志亮,吴振旺.木本植物组培褐化研究进展[J].中国南方果树,2013,42(5):42-46.
- [13]王进茂,杨敏生,杜克久,等.欧洲白桦优良无性系试管苗生根与移栽的研究[J].西北林学院学报,2005(4):67-71,75.
- [14]邹英宁,吴强盛.基本培养基对海湾红宝石李增殖和生根的影响[J].河南农业科学,2009(4):104-106.
- [15]何碧珠,郝祥雄,彭东辉,等.鄂西红豆离体培养及植株再生研究[J].西北农林科技大学学报(自然科学版),2015(12):49-57.
- [16]黄卓忠,严华兵.试管苗瓶外生根技术[J].广西农业科学,2007(2):124-126.
- [17]徐振华,王学勇,李敬川,等.试管苗瓶外生根的研究进展[J].中国农学通报,2002(4):84-86,89.