

小果冬青组织培养和瓶外生根关键因子研究

黄婧,周鹏,李飞,陈亚辉,张敏*

(江苏省林业科学研究院,江苏南京 211153)

摘要:为建立小果冬青组织培养高效繁育技术体系,该研究分析了诸多因子对组织培养苗增殖及其瓶外生根情况的影响。通过正交试验,研究生长调节剂种类、质量浓度和蔗糖含量对小果冬青苗增殖系数的影响以及生根剂种类、质量浓度、处理时间和基质类型对小果冬青组织培养苗瓶外生根的影响。结果表明:影响小果冬青茎段芽增殖的主要因素为6-BA和蔗糖含量,较佳配比方案:6-BA质量浓度为0.5 mg/L,NAA质量浓度为0.1 mg/L,蔗糖含量为40 g/L,此时小果冬青组织培养苗增殖系数为4.52。影响小果冬青瓶外生根效果的主次顺序为基质类型、生根剂处理时间、生根剂质量浓度、生根剂种类。选用生根剂种类为IBA,质量浓度为200 mg/L,处理时间为1 min,基质为泥炭,此时小果冬青组织培养苗瓶外生根率为84.44%,生根数5.36,平均根长3.78 cm。

关键词:小果冬青;组织培养;增殖系数;瓶外生根;关键因子

中图分类号:Q943.1;S792.99 **文献标志码:**A **doi:**10.3969/j.issn.1001-7380.2024.04.002

Key factors for tissue culture and ex vitro rooting of *Ilex micrococca*

Huang Jing, Zhou Peng, Li Fei, Chen Yahui, Zhang Min*

(Jiangsu Academy of Forestry, Nanjing 211153, China)

Abstract:To establish an efficient propagation system for *Ilex micrococca* tissue culture, the effects of key factors on the proliferation of tissue culture seedlings and the ex vitro rooting of micro-shoots were analyzed. We studied the effects of exogenous hormone type, concentration, and sucrose content on the proliferation coefficient, and the effects of rooting agent type, concentration, processing time, and substrate type on the ex vitro rooting. The results showed that the dominant factors affecting the proliferation were 6-BA concentration and sucrose concentration. The optimal solution was 6-BA concentration of 0.5 mg/L, NAA concentration of 0.1 mg/L, and sucrose concentration of 40 g/L. Under this condition, the proliferation coefficient was 4.52. The factors that affected the ex vitro rooting effect were, in order, substrate type, agent processing time, concentration and agent type. The preferable conditions of ex vitro rooting of the micro-shoots were that after pretreated with IBA concentration 200 mg/L, processing time 1 minute in the peat substrate, 84.44% of rooting rate, 5.36 of average root number and 3.78 cm of average root length could be gotten.

Key words:*Ilex micrococca*; Tissue culture; Proliferation coefficient; Ex vitro rooting; Key factor

小果冬青 (*Ilex micrococca*) 为冬青科冬青属落叶高大乔木,是华东地区优良的速生用材和观赏树种^[1-2]。其树干通直,高达20 m,树姿雄伟,较耐干旱,材质优良,为我国南方重要的家具、农具、造纸用材树种;其树皮经提取可制栲胶,还可作染料。此外,小果冬青的根部和叶片均可入药,具有清热

解毒和镇痛的疗效。小果冬青具有良好的经济价值和观赏价值,已有的研究集中于小果冬青的种质资源分布调查^[3-4]、生物多样性调查^[5-6]、用材特性研究^[7],未从人工驯化栽培、提供丰富繁殖材料来源上进行研究,限制了其快速推广应用。

冬青属植物繁殖不易,多数冬青属植物的种子

收稿日期:2024-05-09;修回日期:2024-06-07

基金项目:江苏省林业科技创新与推广项目“小果冬青工厂化繁育技术研究示范”(LYKJ[2022]15)

作者简介:黄婧(1987-),女,江苏镇江人,高级工程师,博士。主要从事林木花卉繁育技术研究。

*通信作者:张敏(1980-),女,内蒙古乌海人,研究员,博士。主要从事生物技术与林木花卉良种繁育工作。

不易发芽或具有隔年发芽的特性,采用播种繁殖时需要经过采收成熟果实、搓去果皮、低温层积处理催芽等繁琐的步骤,小果冬青人工播种发芽率为2%—47%^[5-6];课题组前期研究发现,小果冬青扦插繁殖生根难,成苗率低于50%,无法在短期内获得大量苗木。组织培养技术能够通过无性繁殖实现林木资源快速繁育,在短时间内获得大量无菌苗,且有后代遗传稳定性、与母本性状一致的特性。国内已有关于冬青属植物组织培养技术的研究,但尚未见小果冬青组织培养方面的文献报道。组织培养苗瓶外生根技术是指组织培养苗无需瓶内生根直接将无根苗切下进行扦插的技术,将组织培养苗生根培养与移栽驯化结合起来,该技术能够有效缩短育苗周期、节约生产成本,许多木本植物瓶外生根率和生根质量要高于瓶内生根^[8-10]。因此,开展小果冬青组织培养和瓶外生根关键因子的研究,完善小果冬青组织培养技术体系,可以为小果冬青优质种苗的快速繁育提供技术支持。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

供试材料为江苏省林业科学研究院冬青种质资源圃保存的小果冬青。选取生长健壮的小果冬青优良种苗,采用带芽茎段作为外植体,直接诱导丛生苗,进而增殖培养,最后进行组织培养苗瓶外生根培养。

1.2 试验方法

1.2.1 增殖培养 将诱导培养后的无菌苗分株接入增殖培养基中,每个处理20瓶,每瓶接种茎段1个,重复3次。增殖培养基的配方:以WPM为基本培养基(卡拉胶含量为0.6%,pH 5.8),设计 $L_9(3^3)$ 正交表,考察6-BA质量浓度、NAA质量浓度、蔗糖含量3个因素对茎段增殖系数的影响,每因素3个水平,不考虑交互作用(见表1)。组织培养室温度为 $(25\pm 2)^\circ\text{C}$,光照度1 500—2 000 lx,光照时间为16 h/d。30 d后统计新出的不定芽数,计算增殖系数,增殖系数=诱导再生芽总数/接种茎段数。

1.2.2 瓶外生根培养 选择生长健壮、长势一致的小果冬青组织培养苗作为瓶外生根的插穗供体,剪去组织培养苗根部膨大部分,经清水洗净后剪成长约3 cm带1个叶片的茎段。设计瓶外生根试验处理(见表2),分析基质种类(D)、生长调节剂种类

(E)、生长调节剂质量浓度(F)和处理时间(G)这4种因素对插穗生根情况的影响,其中基质种类分为泥炭(D1)、蛭石(D2)、珍珠岩(D3),生长调节剂种类分为NAA(E1)和IBA(E2),生长调节剂质量浓度分为200 mg/L(F1),500 mg/L(F2),1 000 mg/L(F3),处理时间分为1 min(G1)、10 min(G2)、30 min(G3)。组织培养苗每个处理扦插苗60株,重复3次。扦插完毕后浇透水,在幼苗上方用保鲜膜覆盖包裹,培养温度20—25 $^\circ\text{C}$,湿度85%以上,光照强度为1 500—2 000 lx,光照时间为16 h/d。培养14 d后撤去保鲜膜。生根培养30 d后,调查和统计生根率、生根数量、生根长度。

表1 增殖培养正交设计试验因素与水平

因素	水平		
	1	2	3
6-BA/(mg/L)	0.3	0.5	1.0
NAA/(mg/L)	0.1	0.5	1.0
蔗糖/(g/L)	30	40	50

表2 瓶外生根处理试验处理组合

编号因素	处理因素			
	基质种类(D)	生长调节剂种类(E)	生长调节剂质量浓度(F)/(mg/L)	处理时间(G)/min
CL10	泥炭(D1)	NAA(E1)	500(F2)	10(G2)
CL11	泥炭(D1)	IBA(E2)	200(F1)	1(G1)
CL12	泥炭(D1)	IBA(E2)	1 000(F3)	30(G3)
CL13	蛭石(D2)	NAA(E1)	200(F1)	30(G3)
CL14	蛭石(D2)	IBA(E2)	500(F2)	1(G1)
CL15	蛭石(D2)	IBA(E2)	1000(F3)	10(G2)
CL16	珍珠岩(D3)	NAA(E1)	1000(F3)	1(G1)
CL17	珍珠岩(D3)	IBA(E2)	200(F1)	10(G2)
CL18	珍珠岩(D3)	IBA(E2)	500(F2)	30(G3)

1.3 数据处理

数据采用SPSS统计软件进行方差和极差分析,多重比较采用邓肯法。通过隶属函数法对生根效果进行综合评价。

隶属函数值计算公式^[11]: $R(X_i) = (X_i - X_{\min}) / (X_{\max} - X_{\min})$, $i = 1, 2, 3, \dots, n$

其中, X_i 为指标测定值; X_{\min} 和 X_{\max} 分别为不同处理中某一指标的最小值和最大值; n 为指标数。将测定值 X_i 利用公式换算成相应的隶属函数值 $R(X_i)$,并加和计算不同处理各指标综合隶属函数值。

2 结果与讨论

2.1 不同处理因素对茎段组织培养增殖系数的影响

小果冬青茎段增殖的正交试验结果见表3,方差分析结果(见表4)显示,不同因素对小果冬青组织培养茎段增殖系数的影响不同,各因素 F 值由大到小顺序为6-BA质量浓度(84.781)>蔗糖含量(14.367)>NAA质量浓度(1.488)。6-BA和蔗糖质量浓度显著影响增殖系数($P<0.05$),而NAA质量浓度对增殖系数影响差异不显著($P>0.05$)。

3个处理因素的多重比较结果(见表5)表明,不同6-BA质量浓度处理时,0.5 mg/L处理的增殖系数最高($P<0.05$),1 mg/L处理次之,0.3 mg/L处理最低;蔗糖含量为40 g/L时增殖系数显著高于其他处理($P<0.05$);不同NAA质量浓度处理时,0.1 mg/L处理的增殖系数最大,随质量浓度增加略有降低,各水平间差异不显著($P>0.05$)。

茎段增殖的正交试验结果的极差分析显示(见表3),极值大小排序为6-BA质量浓度(1.57)>蔗糖含量(0.70)>NAA质量浓度(0.17),说明6-BA质量浓度对小果冬青组织培养苗增殖系数影响最大,蔗糖含量次之,NAA质量浓度影响最小。较佳方案是A2B1C2,即处理CL4,6-BA质量浓度为0.5 mg/L,NAA质量浓度为0.1 mg/L,蔗糖含量为40 g/L,此时小果冬青组织培养苗增殖系数为4.52。

表3 增殖培养试验结果

处理编号	因素			增殖系数			
	6-BA	NAA	蔗糖	I	II	III	平均值
CL1	1	1	1	1.65	1.70	1.85	1.73
CL2	1	2	3	2.45	2.40	2.40	2.42
CL3	1	3	2	2.40	2.50	2.25	2.38
CL4	2	1	2	4.40	4.45	4.70	4.52
CL5	2	2	1	3.55	3.55	3.30	3.47
CL6	2	3	3	3.25	3.35	3.40	3.33
CL7	3	1	3	2.55	2.50	2.65	2.57
CL8	3	2	2	2.75	2.75	2.80	2.77
CL9	3	3	1	2.55	2.35	2.50	2.47
k1	2.17	2.88	2.55				
k2	3.73	2.90	3.25				
k3	2.62	2.73	2.82				
极值	1.57	0.17	0.70				
优方案	A2	B1	C2				

注: I、II、III为重复;k1—k3为不同处理中各因素对应的各水平增殖系数均值

表4 正交试验方差分析表

变异来源(DF)	平方和(SS)	自由度(f)	均方(MS)	均方比(F)	Sig.
修正模型	14.581a	6	2.430	33.546	0
截距	219.308	1	219.308	3027.251	0
6-BA质量浓度	12.284	2	6.142	84.781	0
NAA质量浓度	0.216	2	0.108	1.488	0.250
蔗糖含量	2.082	2	1.041	14.367	0
误差	1.449	20	0.072		
总计	235.338	27			
修正后总计	16.030	26			

表5 不同因素处理下增殖系数多重比较

因素	水平	增殖系数
6-BA/(mg/L)	0.3	2.18 c
	0.5	3.77 a
	1.0	2.60 b
NAA/(mg/L)	0.1	2.94 a
	0.5	2.88 a
	1.0	2.73 a
蔗糖/(g/L)	30	2.56 b
	40	3.22 a
	50	2.77 b

注:同列数据后标注小写字母表示在0.05水平上差异显著

2.2 不同处理因素对组织培养苗瓶外生根情况的影响

2.2.1 不同处理因素对生根情况的影响 在组织培养苗瓶外生根率方面,瓶外生根试验结果见表6。方差分析结果(见表7)表明,各处理因素 F 值排序为基质种类>生长调节剂质量浓度>处理时间>生长调节剂种类,且前3个因素都对幼苗生根率影响显著($P<0.05$)。多重比较结果(见表8)表明,不同基质中,泥炭处理生根率最高,珍珠岩次之,蛭石最低,3者差异显著($P<0.05$);不同质量浓度生长调节剂处理,200 mg/L处理的生根率最高($P<0.05$),500 mg/L与1000 mg/L之间差异不显著($P>0.05$);不同处理时间中,1 min处理水平生根率较高($P<0.05$),与10,30 min处理之间差异不显著($P>0.05$)。

在组织培养苗瓶外生根数量方面,方差分析结果(见表7)表明,各处理因素 F 值排序为生长调节剂种类>基质种类>生长调节剂浓度>处理时间,且4个因素都对幼苗生根率影响显著($P<0.05$)。多重比较结果(见表8)表明,不同基质中,珍珠岩处理生根数量最多,泥炭次之,珍珠岩最少,三者差异显著($P<0.05$);不同质量浓度生长调节剂处理,200 mg/L处理的生根率最高($P<0.05$),500 mg/L与1000 mg/L之间差异不显著($P>0.05$);不同处理时间中,

1 min 处理水平生根率较高($P < 0.05$), 10, 30 min 处理之间差异不显著($P > 0.05$)。

在组织培养苗瓶外生根根长方面, 方差分析结果(见表 7)表明, 各处理因素 F 值排序为生长调节剂种类 > 生长调节剂质量浓度 > 处理时间 > 基质种类, 且 4 个因素都对幼苗生根率影响显著 ($P < 0.05$)。多重比较结果(见表 8)表明, 不同基质中,

珍珠岩和泥炭处理根长最长, 两者间无显著差异($P < 0.05$), 显著高于蛭石($P < 0.05$); 不同质量浓度生长调节剂处理, 200 mg/L 处理的根长最长, 500 mg/L 处理次之, 1 000 mg/L 处理最短, 三者呈显著差异 ($P < 0.05$); 不同处理时间中, 1 min 处理水平根长最长, 10 min 处理次之, 30 min 处理最短, 三者呈显著差异($P < 0.05$)。

表 6 瓶外生根试验结果

处理	因素				生根率/%				生根数/株				平均根长/cm			
	D	E	F	G	I	II	III	平均	I	II	III	平均	I	II	III	平均
CL10	1	1	2	2	50.00	60.00	56.67	55.56	2.01	3.12	2.03	2.39	0.52	0.43	0.51	0.49
CL11	1	2	1	1	90.00	80.00	83.33	84.44	5.67	4.88	5.53	5.36	3.44	3.67	4.23	3.78
CL12	1	2	3	3	50.00	50.00	36.67	45.56	4.77	5.12	4.12	4.67	0.52	0.43	0.51	0.49
CL13	2	1	1	3	56.67	63.33	56.67	58.89	4.55	3.78	3.92	4.08	0.98	0.87	0.82	0.89
CL14	2	2	2	1	43.33	46.67	53.33	47.78	6.51	6.56	6.02	6.36	1.88	2.34	2.56	2.26
CL15	2	2	3	2	40.00	43.33	40.00	41.11	4.23	4.56	4.77	4.52	1.82	1.56	1.67	1.68
CL16	3	1	3	1	36.67	40.00	33.33	36.67	2.88	2.12	2.34	2.45	1.73	1.84	1.69	0.48
CL17	3	2	1	2	43.33	46.67	40.00	43.33	4.77	4.53	5.13	4.81	2.50	1.47	2.04	2.87
CL18	3	2	2	3	36.67	33.33	36.67	35.56	2.89	3.34	3.13	3.12	1.64	2.48	1.91	0.72

表 7 瓶外生根试验结果方差分析

	变异来源 (DF)	平方和 (SS)	自由度 (f)	均方 (MS)	均方比 (F)	Sig.
生根率	修正模型	0.518 a	7	0.074	21.466	0
	截距	6.007	1	6.007	1743.132	0
	基质种类	0.246	2	0.123	35.636	0
	生长调节剂种类	0	1	0	0.121	0.732
	生长调节剂质量浓度	0.218	2	0.109	31.577	0
	处理时间	0.054	2	0.027	7.858	0.003
	误差	0.065	19	0.003		
	总计	7.303	27			
	修正后总计	0.583	26			
	生根数	修正模型	38.747 a	7	5.535	15.085
截距		363.119	1	363.119	989.574	0
基质种类		10.577	2	5.289	14.413	0
生长调节剂种类		20.203	1	20.203	55.058	0
生长调节剂质量浓度		4.194	2	2.097	5.715	0.011
处理时间		3.773	2	1.886	5.141	0.016
误差		6.972	19	0.367		
总计		520.992	27			
修正后总计		45.719	26			
平均根长		修正模型	35.112 a	7	5.016	107.323
	截距	40.128	1	40.128	858.585	0
	基质种类	0.352	2	0.176	3.766	0.042
	生长调节剂种类	10.872	1	10.872	232.622	0
	生长调节剂质量浓度	13.718	2	6.859	146.76	0
	处理时间	10.169	2	5.085	108.793	0
	误差	0.888	19	0.047		
	总计	98.168	27			
	修正后总计	36	26			

表 8 不同因素处理下生根性状及多重比较

因素	水平	生根率/%	生根数/条	平均根长/cm
基质种类	D1	61.85 a	4.14 b	1.58 a
	D2	49.26 b	4.99 a	1.61 a
	D3	38.52 c	3.46 c	1.36 b
生长调节剂质量浓度	F1	62.22 a	4.75 a	2.51 a
	F2	46.30 b	3.96 b	1.15 b
	F3	41.11b	3.88 b	0.88 c
处理时间	G1	56.30 a	4.72 a	2.17 a
	G2	46.67 b	3.91 b	1.68 b
	G3	46.67 b	3.96 b	0.70 c

注: 同列数据后标注小写字母表示在 0.05 水平上差异显著

2.2.2 瓶外生根效果的综合评价 采用隶属函数综合分析小果冬青组织培养苗瓶外生根效果, 各处理综合隶属函数值(见表 9)排序为 CL11 > CL14 > CL17 > CL15 > CL13 > CL12 > CL10 > CL18 > CL16。由此可知, CL11 的综合效果最好。

依据每个处理的平均值 P 进行极差分析(见表 10), 极差 R 值大小为因素 F 生长调节剂质量浓度 (1.334) > 因素 E 生长调节剂种类 (1.010) > 因素 G 处理时间 (1.008) > 因素 D 基质类型 (0.744), 说明生长调节剂质量浓度对小果冬青瓶外生根效果影响最大, 生长调节剂种类次之, 第三是生长调节剂处理时间, 基质类型影响最小。较佳方案是 D1E2F1G1, 即处理 CL11, 生长调节剂种类为 IBA,

质量浓度为 200 mg/L,处理时间为 1 min,基质为泥炭,此时小果冬青生根率为 84.44%,生根数 5.36,平均根长 3.78 cm(见表 2)。

表 9 不同处理隶属函数值

处理	生根率	生根数	平均根长	综合隶属函数值
CL10	0.41	0.00	0.00	0.41
CL11	1.00	0.75	1.38	3.13
CL12	0.20	0.57	0.00	0.78
CL13	0.48	0.43	0.17	1.07
CL14	0.25	1.00	0.74	1.99
CL15	0.11	0.54	0.50	1.15
CL16	0.02	0.02	0.00	0.04
CL17	0.16	0.61	1.00	1.77
CL18	0.00	0.18	0.10	0.28

表 10 综合隶属函数值极差分析

类别	因素			
	D	E	F	G
K_1	4.320	1.523	5.972	5.161
K_2	4.222	9.107	2.687	3.332
K_3	2.088		1.971	2.137
k_1	1.440	0.508	1.991	1.720
k_2	1.407	1.518	0.896	1.111
k_3	0.696		0.657	0.712
R	0.744	1.010	1.334	1.008
优方案	D1	E2	F1	G1

注: K 为同一因素不同水平 P 值之和。 k_1 — k_3 分别为同一因素不同水平 P 值的平均值, R 为极差

3 结论与讨论

本研究选择小果冬青健康的茎段作为外植体,对比了不同外源生长调节剂和蔗糖含量对丛生芽诱导的影响。试验结果显示,添加 6-BA 能有效提高茎段增殖系数,随着 6-BA 质量浓度的增加增殖系数显著提高,但是过高的 6-BA 质量浓度会引起增殖系数的下降;培养基中添加 NAA 对茎段的增殖系数无显著影响。已发表的论文显示冬青属植物的继代增殖中通常使用 6-BA 和 NAA 的植物外源生长调节剂组合^[12],在大叶冬青^[13]、苦丁茶^[14]、金叶日本冬青^[15]、全缘枸骨^[16]等多种冬青属植物的组织培养苗增殖过程中使用合适质量浓度的 6-BA 可以有效提高增殖系数,同时,在北美冬青‘奥斯特’^[17]、梅叶冬青^[18]、巴拉圭冬青^[19]、狭冠冬青‘阳光’^[20]的组织培养过程中发现过高质量浓度的 6-

BA 会抑制组织培养苗的生长且加重其玻璃化现象,培养基中 6-BA 质量浓度不宜过高,这与本试验结果一致。关于培养基中蔗糖含量对冬青组织培养苗增殖培养的试验较少,本试验结果显示 40 g/L 蔗糖可以有效提高小果冬青茎段增殖系数,低质量浓度和高质量浓度蔗糖含量均无此效果。前人^[21]在金叶龟甲冬青组织培养中发现低质量浓度蔗糖(25 g/L)和高浓度蔗糖(35 g/L)都会抑制试管苗生长,蔗糖质量浓度以 30 g/L 为宜;灌丛冬青组织培养试验显示添加高浓度的 NAA(5.4 μ M)会抑制组织培养苗不定芽的形成^[22]。培养基中蔗糖含量对组织培养苗增殖和生长的影响,可能与蔗糖提供的碳水化合物含量及高糖分的渗透压相关。

组织培养苗瓶外生根的关键原因是经过返幼复壮的组织培养苗比木质化嫩枝具有更强发根能力^[20]。目前关于冬青组织培养苗瓶外生根技术的研究较少,本试验中小果冬青组织培养苗瓶外生根率可达 84.44%,生根数 5.36,平均根长 3.78 cm,生根存活率远超播种发芽和嫩枝扦插。外源植物生长调节剂种类、生长调节剂质量浓度和生长调节剂处理时间是组织培养苗瓶外生根的重要影响因素^[23]。在本试验中,IBA 比 NAA 具有更好的生根效果。前人^[24]在北美冬青组织培养苗扦插试验中发现 IBA 在生根率、生根数以及根系活力方面都有最佳的效果,显著高于 NAA 和 ABT 生根粉 1 号。同时,在金橡树叶冬青^[25]组织培养苗扦插诱导生根过程中,发现 NAA 不适宜作为生根剂,NAA 质量浓度为 0.5—1.0 mg/L 时,均表现为愈伤化,生根率低甚至不生根。这些结果与本试验结果一致。本研究中,IBA 的质量浓度较低时、生长调节剂处理时间较短时具有最好的生根效果,随着生长调节剂质量浓度升高和处理时间增加生根效果显著下降,这可能是由于组织培养苗在培育过程中体内生长调节剂积累^[26],组织培养茎段瓶外生根相比较嫩枝扦插对生长调节剂更为敏感。基质类型能够显著影响插穗生根率和根系生长^[27]。本试验中发现在珍珠岩处理生根率及生根数均显著低于泥炭和蛭石,说明小果冬青瓶外生根对基质保湿性要求较高。泥炭保水保肥性强,且偏酸性,能满足小果冬青对水分及酸碱度的需求,更适合作为瓶外生根及后续穴盘培养的基质材料。

组织培养繁育和组织培养苗瓶外生根都是复杂的生理生化过程,今后可以研究环境因素如光

照、温度、湿度等对组织培养苗增殖与生根的影响,并且以此为基础,开展生理机制研究,为小果冬青工厂化繁育提供技术支持。

参考文献:

- [1] 王良衍.小果冬青栽培技术[J].林业实用技术,2004(12):15-16.
- [2] 杨永川,王良衍,宋坤,等.2种优良乡土冬青的繁育及栽培技术[J].浙江林学院学报,2005(4):406-409.
- [3] 康振,晏照宇,何秋香,等.气候变化下3种冬青属植物的适生区预测[J].西南林业大学学报(自然科学版),2024,44(2):27-35.
- [4] 曹菁,杨同辉,章建红,等.浙江天童冬青属植物的种群结构及更新类型[J].浙江农林大学学报,2015,32(1):76-83.
- [5] 李田,何素琳,温强,等.小果冬青不同种源生长特性研究[J].南方林业科学,2022,50(2):5-9,18.
- [6] 李田,何素琳,温强,等.小果冬青种实性状研究[J].南方林业科学,2021,49(5):11-15.
- [7] 李因刚,柳新红,应光明,等.15个五金工具柄用材树种幼龄材物理力学性质的比较与综合评价[J].林业科学,2010,46(12):182-187.
- [8] 叶伟,刘凉琴,史学正,等.基质中添加多孔改良剂对南方高丛蓝浆果品种‘蓝美1号’组培苗茎段瓶外生根的影响[J].植物资源与环境学报,2020,29(3):69-71.
- [9] 黄玉梅,刘丽,赵苗菲,等.黑木相思组培苗瓶外生根技术研究[J].森林与环境学报,2019,39(1):21-26.
- [10] 施琼,胡峰,黄烈健,等.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.
- [11] 黄婧,周鹏,李飞,等.LED光质对乌饭树幼苗生长及叶片营养物质含量的影响[J].江苏林业科技,2023,50(1):7-11.
- [12] 桂晴,郝明灼,邹义萍,等.冬青属植物组培快繁研究进展[J].北方园艺,2022(24):115-122.
- [13] 梁珍海,刘根林,蒋泽平,等.大叶冬青叶外植体的愈伤组织诱导与不定芽苗再生[J].南京林业大学学报(自然科学版),2003(6):51-54.
- [14] 姚军,张燕玲,林荣.苦丁茶的组织培养和快速繁殖研究[J].广西科学院学报,1996(Z1):30-34.
- [15] 朱志国.金叶日本冬青组织培养研究[D].南京:南京农业大学,2006.
- [16] 陈家龙.冬青(*Ilex chinensis* Sims)离体快繁体系建立及光合自养培养研究[D].南京:南京农业大学,2006.
- [17] 张俊林,余有祥,沈柏春,等.北美冬青‘奥斯特’的组织培养和快速繁殖[J].植物生理学报,2014,50(10):1541-1545.
- [18] 樊仲,洪永辉,熊玉楨,等.梅叶冬青优良无性单株组织培养技术研究[J].林业勘察设计,2019,39(1):23-26.
- [19] GRIEBELER, A G, CONSATTI G, FREITAS E M., et al. Optimal culture conditions for the initial development of *Ilex paraguariensis* A.St.-Hil. explants[J]. Acta Botanica Brasiliica, 2014, 28(4): 548-551.
- [20] 樊靖,郑勇平,王春,等.‘阳光’狭冠冬青组织培养[J].林业科技开发,2015,29(5):57-60.
- [21] 丁久玲,郑凯,梁慧敏,等.金叶龟甲冬青组培快繁技术的研究[J].湖北农业科学,2019,58(4):93-97.
- [22] LUNA C, SANSBERRO P, MROGINSKI L, et al. Micropropagation of *Ilex dumosa* (Aquifoliaceae) from nodal segments in a tissue culture system[J]. Biocell, 2003, 27(2): 205-212.
- [23] 胡劭鸿,欧阳芳群,贾子瑞,等.欧洲云杉扦插生根影响因子研究与生根力优良单株选择[J].林业科学,2014,50(2):42-49.
- [24] 宋倩云,方炎明,周鹏,等.轮生冬青组培苗微枝试管外生根技术[J].东北林业大学学报,2019,47(11):23-27.
- [25] 樊靖,孙丽娜,张俊林,等.金橡树叶冬青组织培养和快速繁殖[J].中南农业科技,2023,44(7):30-34.
- [26] HOU J W, GUO S J, WANG G Y. Effects of in vitro subculture on the physiological characteristics of adventitious root formation in microshoots of *Castanea mollissima* cv. ‘yanshanhong’ [J]. Journal of Forestry Research, 2010, 21(2): 155-160, 256.
- [27] 杨红,高文于,吕庆鑫,等.不同基质对云南沙棘嫩枝扦插生根过程及苗木品质的影响[J].东北林业大学学报,2024,52(6):12-19,26.