



DOI:10.14188/j.ajsh.20240821001

利用间歇浸没植物生物反应器进行香蕉组培快繁的研究

姚朝旭¹,舒福兴^{1,2},王馨瑶¹,陈霞¹,陈集双^{1,2*}

(1. 遵义医科大学 生物资源健康利用研究中心,贵州 遵义 563000;

2. 南京工业大学 生物与制药工程学院,江苏 南京 211816)

摘要:以香蕉吸芽为实验材料,利用间歇浸没式植物生物反应器和传统组培方式对香蕉组培进行快繁研究的比较。以两种培养方式对香蕉苗进行培养,比较其生长形态、增殖倍数以及光合指标,采用单因素实验分析方法优化浸没频率,利用紫外分光光度法测定叶绿素含量。结果表明,浸没频率20 min/6 h是香蕉在植物生物反应器中快繁的最佳培养条件,并且两种培养方式下,香蕉组培苗的生长形态、增殖率、叶绿素含量以及光合性能有显著差异。利用间歇浸没式植物生物反应器系统可以提高香蕉组培苗增殖率,改善香蕉组培苗的生长状态;利用间歇浸没式植物生物反应器系统培育香蕉苗可以提高叶绿素含量以及光合性能。

关键词:香蕉;植物组织培养;植物生物反应器;浸没频率

中图分类号:S668.1

文献标志码:A

文章编号:2096-3491(2024)06-0551-06

Banana tissue culture and rapid propagation using intermittent immersion plant bioreactor

YAO Zhaoxu¹, SHU Fuxing^{1,2}, WANG Xinyao¹, CHEN Xia¹, CHEN Jishuang^{1,2*}

(1. Bioresource Institute for Healthy Utilization, Zunyi Medical University, Zunyi, Guizhou, 563000, China;

2. School of Biotechnology and Pharmaceutical Engineering, Nanjing Tech University, Nanjing 211816, Jiangsu, China)

Abstract: Banana sprouts were used as experimental materials to compare the rapid propagation of banana tissue culture using intermittent immersion plant bioreactors and traditional tissue culture method. Banana seedlings were cultured by the two cultivation methods, and then the growth morphology, multiplication ratio and photosynthetic index of banana seedlings were compared. The single-factor experimental analysis method was used to optimize immersion frequency, and chlorophyll content was measured by using UV spectrophotometry. The results showed that the immersion frequency of 20 min/6 h is the optimal culture condition for rapid propagation of bananas in the plant bioreactor. And the growth morphology, multiplication rate, chlorophyll content, and photosynthetic performance of banana tissue cultured seedlings are significantly different between the two cultivation methods. The use of the intermittent immersion plant bioreactors can significantly increase the multiplication rate of banana tissue cultured seedlings and improve their overall growth. Additionally, the cultivation using the intermittent immersion plant bioreactors enhances chlorophyll content as well as photosynthetic performance.

Key words: banana; plant tissue culture; plant bioreactor; immersion frequency

收稿日期:2024-08-21 修回日期:2024-11-27 接受日期:2024-12-05

作者简介:姚朝旭(2000-),男,硕士生,主要从事生物资源育种与利用研究。E-mail:yaozhaoxu2022@163.com

*通讯联系人:陈集双(1962-),男,博士,教授,主要从事生物资源育种与利用研究。E-mail:biochenjs@163.com

基金项目:国家自然科学基金(82373981)

引用格式:姚朝旭,舒福兴,王馨瑶,等. 利用间歇浸没植物生物反应器进行香蕉组培快繁的研究[J]. 生物资源, 2024, 46(6): 551-556.

Yao Z X, Shu F X, Wang X Y, et al. Banana tissue culture and rapid propagation using intermittent immersion plant bioreactor [J]. Biotic Resources, 2024, 46(6): 551-556.

0 引言

香蕉(*Musa paradisiaca*)是芭蕉科(Musaceae)芭蕉属(*Musa*)甘蕉的果实,多产于亚洲东南部,是单子叶的多年生常绿大型草本热带亚热带果树,是通便润肠的水果之一^[1]。同时作为药食同源植物,香蕉在全球范围内也是重要的生物资源,被广泛应用于食品加工、医药和农业等多个领域。其中富含维生素和矿物质,有助于促进消化,在临床上香蕉中的高钾含量有助于调节血压,降低心血管疾病的风险^[2]。传统香蕉繁殖采用无性繁殖方法,即依赖母株生长的侧芽(俗称吸芽),但由于繁殖效率低下且常常带有病毒,通常只能培育出一代幼苗,导致品种退化、经济产量低下,并伴随高度不育性,因此逐渐被淘汰^[3]。香蕉的组织培养研究始于20世纪60年代,利用香蕉茎尖的无毒、增殖率相对较高等特点,使得香蕉吸芽尖分生组织进行人工培养的技术得到推广^[4]。有研究人员发现使用香蕉花序可以诱导出香蕉^[5]。然而在对香蕉种植技术的进一步研究中发现,在相同组织培养条件下,吸芽也能直接再生出丛芽。通过香蕉球茎、香蕉花序、香蕉叶鞘和茎以及假茎薄片等外植体均能成功促进香蕉再生植株的生长^[6]。但随着植物组织培养技术发展,传统的香蕉大规模扩繁暴露出许多不足,包括生产成本较高、组培苗增殖系数较低、培养技术繁琐且自动化程度低等问题^[7]。

间歇浸没式生物反应器系统是近年发展起来的一种新型植物组织培养系统,它利用装置为植物组织器官间歇性供给营养进行培养^[8],不仅解决了固体培养存在的耗时费力、缺氧等问题,还可以充分吸收利用液体培养基中的营养物质,使得增殖率提高,生长时间缩短,并且实现生产自动化^[9]。目前,在实际生产中已开始利用生物反应器培养半夏^[10]、金钗石斛^[11]、藏红花^[12]等多种药用植物,但对药食同源植物香蕉的间歇浸没培养少有报道。

本文以香蕉吸芽为实验材料,利用间歇浸没式生物反应器对香蕉吸芽进行培养研究,以期建立一种新的香蕉种苗繁育培养模式,为香蕉大规模生产提供新的技术方法。

1 材料和方法

1.1 材料

供试材料为香蕉吸芽,由遵义医科大学生物资源健康利用研究中心提供。

所用间歇浸没式植物生物反应器为实验室自主研发,由南京博方生物科技有限公司生产的产品,编

号为BFJXJM-1,罐体体积为6 L。

1.2 方法

1.2.1 香蕉组培苗的植物间歇浸没式生物反应器培养

采集香蕉吸芽茎尖,用酒精消毒30 s、升汞消毒5 min后获得无菌苗。首先,通过无菌操作将其接种到1 L的无菌液体培养基中,放至无菌组培室观察培养3~5 d,观察无污染后,将经过高压灭菌锅灭菌好的反应器与液体培养基在紫外灯下灭菌半小时;然后将香蕉组培苗接种到反应器上,完成接种后,将反应器与系统连接起来,设定本实验所需的浸没频率,每个频率重复3次。液体培养基配方为1/2 MS+蔗糖30 g/L+6-BA 2 mg/L+NAA 0.06 mg/L,pH 6.0;培养环境为光照强度1 800~2 000 lx,光照周期为14 h/d,温度(25±1)℃;培养周期为90 d。

1.2.2 香蕉组培苗的固体培养

固体培养容器为350 mL的玻璃组培瓶,每瓶中放入50 ml培养基,经过高压灭菌后无菌接种4株香蕉吸芽,保留200瓶苗实验备用。固体培养基配方需要加入6 g/L琼脂,其他营养物质和环境条件与反应器的条件相同。

1.2.3 浸没频率的优化

采用单因素实验分析方法对浸没频率进行优化,每个频率设置3个平行实验组。温度、空气湿度、培养基种类、浸没频率等都会影响植物生长。其中浸没频率是间歇浸没式生物反应器培养的重要组成部分,能够影响植物生长。为了优化浸没频率,设定间隔时间为6 h,浸没时间为10 min、20 min和30 min,本文将其分别记为10 min/6 h、20 min/6 h和30 min/6 h。

1.2.4 生长状态及增殖率检测

培养90 d后,开罐取出香蕉组培苗,分别测量间歇浸没式生物反应器和传统固体培养香蕉组的茎长、茎粗、根长、根数以及叶宽。平行检测3次并精确计数,计算增殖率。

1.2.5 叶绿素含量测定

采用丙酮法^[13]测定叶绿素含量,分别取反应器培养和固体培养的香蕉心叶下第二叶0.1 g(去中脉),研磨捣碎,加入丙酮溶液5 mL,再加入少量石英砂研磨成匀浆,加入5 mL 80%丙酮溶液,将混匀后的匀浆转入离心管,并少量多次加入80%丙酮溶液洗涤研钵,一并转入离心管,离心后用移液枪取上清液,上清液用80%丙酮溶液定容至50 mL,最后采用紫外分光光度法在663 nm、645 nm波长下测定吸光度,然后根据如下公式计算叶绿素含量,平行采集

3次样品分别进行检测:

$$C_a = 12.7 \times D_{663} - 2.69 \times D_{645} \quad (1)$$

$$C_b = 22.9 \times D_{645} - 4.68 \times D_{663} \quad (2)$$

$$C = C_a + C_b = 20.2 \times D_{645} + 8.02 \times D_{663} \quad (3)$$

式中, C 为叶绿素总浓度; C_a 、 C_b 分别为叶绿素 a、叶绿素 b 的浓度; D_{645} 和 D_{663} 分别表示叶绿素 a 和叶绿素 b 在红光区的最大吸收峰。

1.2.6 光合性能检测

使用 LI-6400 光合作用测定仪测定香蕉组培苗的光合性能指标^[14], 分别取两种组培的香蕉幼苗, 通过测定仪测定其蒸腾速率、气孔导度、胞间 CO_2 浓度和净光合速率。光合作用测定时间为接种香蕉苗后 70 d, 采用开放气路, 使用 LED 红蓝人工光源, 光强设定为 $1\,500\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 叶面温度设定为 22°C (与空气实际温度相差 $\pm 5^\circ\text{C}$)。

2 结果

2.1 反应器浸没频率对香蕉组培苗的影响

为了确定香蕉组培苗在植物生物反应器中植物生长以及幼苗发育的最佳浸没时间, 选择了 3 种不同浸没频率 (10 min/6 h、20 min/6 h 和 30 min/6 h) 进行实验, 结果见图 1 和表 1。浸没频率与幼苗生长之间没有线性相关性。浸没频率为 20 min/6 h 时, 香蕉吸芽根长最佳, 为 $(16.22 \pm 3.50)\ \text{cm}$ 。浸没频率从 10 min/6 h 调整至 20 min/6 h, 茎长增加到

$(10.37 \pm 1.11)\ \text{mm}$, 浸没频率为 30 min/6 h 时, 吸芽茎粗和根数最小, 分别为 $(4.20 \pm 0.10)\ \text{mm}$ 和 (4.75 ± 1.50) 根。将浸没频率从 30 min/6 h 调整到 20 min/6 h, 植株茎粗变化明显, 同时根长和叶宽也表现出显著差异。实验结果表明, 20 min/6 h 的浸没频率在诱导香蕉幼苗发育方面表现最佳。

2.2 不同培养方式对香蕉组培苗的生长状态的影响

传统的香蕉组培快繁以固体培养为主, 为了优化香蕉的培养方式, 本实验比较了生物反应器培养和固体培养的香蕉苗的生长状态。表 2 展示了通过两种培养方式得到的香蕉吸芽的形态特征。外观上, 生物反应器与固体培养得到的香蕉组培苗在茎长、茎粗、根长、叶宽方面都有显著差异, 在根数上差异并不明显。图 2 展示了间歇浸没式植物生物反应器与固体培养诱导产生香蕉组培苗的整体效果。

2.3 不同培养方式对香蕉增殖情况的影响

增殖率可以反映植物的生长能力, 在不同培养方式、浸没频率下培养香蕉组培苗 90 d 后, 查看其增殖情况, 结果如图 3(a) 所示。反应器培养的香蕉苗增殖率与传统固体培养的香蕉苗增殖率有显著差异, 浸没频率为 20 min/6 h 时, 增殖率在 8 倍以上。分析 20 min/6 h 浸没频率实验组和其他反应器实验组的增殖情况, 发现前者高于后者。结果表明, 采用植物生物反应器, 在 20 min/6 h 的浸没频率下培养



图 1 不同浸没频率对香蕉组培苗生长情况的影响

Fig. 1 Effects of different immersion frequencies on the growth of banana tissue culture seedlings

表 1 不同浸没频率对香蕉组培苗以及吸芽生长的影响

Table 1 Effects of different immersion frequency on the growth of tissue culture seedlings and suction-bud of banana

浸没频率/(min/6 h)	茎长/cm	茎粗/mm	根长/cm	根数/根	叶宽/cm
10	$7.38 \pm 1.38\text{b}$	$5.55 \pm 0.13\text{b}$	$6.50 \pm 1.29\text{c}$	$5.00 \pm 0.81\text{b}$	$7.77 \pm 0.22\text{b}$
20	$10.37 \pm 1.11\text{a}$	$7.30 \pm 0.08\text{a}$	$16.22 \pm 3.50\text{a}$	$7.00 \pm 0.82\text{a}$	$8.50 \pm 0.57\text{a}$
30	$8.13 \pm 0.85\text{b}$	$4.20 \pm 0.10\text{b}$	$9.52 \pm 2.50\text{b}$	$4.75 \pm 1.50\text{b}$	$6.45 \pm 0.33\text{c}$

注: 同列中不同小写字母表示在 $P < 0.05$ 时有统计差异

Note: different lowercase letters in the same column indicate statistical differences ($P < 0.05$)

表 2 两种培养方式对香蕉组培苗形态特征的影响

Table 2 Effects of two culture methods on morphological characteristics of banana tissue culture seedlings

培养方式	茎长/cm	茎粗/mm	根长/cm	根数/根	叶宽/cm
固体培养	3.43±0.72b	4.50±0.06b	1.68±0.69b	4.50±1.28a	4.03±0.51b
间歇浸没式植物生物反应器培养	8.62±0.97a	6.80±0.07a	10.74±3.50a	5.08±0.82a	7.57±0.34a

注:同列中不同小写字母表示在 $P < 0.05$ 时有统计差异

Note: different lowercase letters in the same column indicate statistical differences ($P < 0.05$)

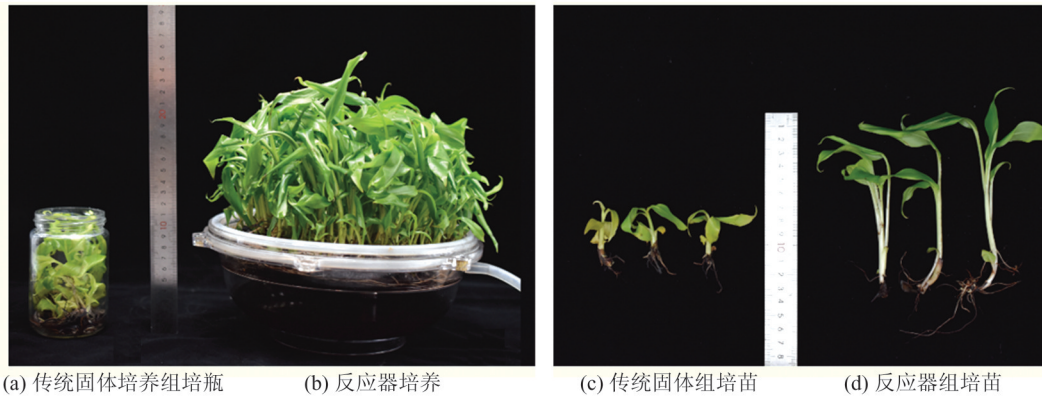


图 2 两种培养方式对香蕉组培苗生长状态的影响

Fig. 2 Effects of two culture methods on the growth state of banana tissue culture seedlings

香蕉组培苗时,效果最佳。这反映了浸没频率影响着香蕉组培苗的增殖率。

2.4 不同培养方式对香蕉组培苗叶绿素含量的影响

植物光合作用离不开叶绿素。植物所含的叶绿素在一定程度上与光合作用速率成正比。不同培养方式下香蕉苗叶绿素含量的差异见图 3(b)。可以看出,固体培养的香蕉组培苗叶绿素含量最低,为 1.7 mg/g,在 20 min/6 h 浸没频率反应器培养下组培苗叶绿素含量最高,达到 5.77 mg/g,两者具有显著性差异($P < 0.01$)。

2.5 不同培养方式对香蕉组培苗光合性能的影响

光合作用对作物的生长和产量具有决定性影

响。测定两种培养方式下香蕉组培苗的净光合速率、叶片气孔导度、胞间 CO_2 浓度、蒸腾速率,结果见表 3。可以看出,反应器培育的香蕉组培苗的净光合速率、胞间 CO_2 浓度、蒸腾速率与传统固体培养的指标有显著差异($P < 0.05$),其胞间 CO_2 浓度最高达到 $(542.39 \pm 1.32) \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$,两种培养方式下的气孔导度相差不大,反应器培养略高于固体培养。

3 讨论

香蕉作为一种重要的热带生物资源,其种苗质量和产量直接影响产业效益。然而,传统组培技术在种苗繁育中的低效率、耗时长以及种质退化等问题,严重限制了香蕉资源的高效利用。香蕉育种的

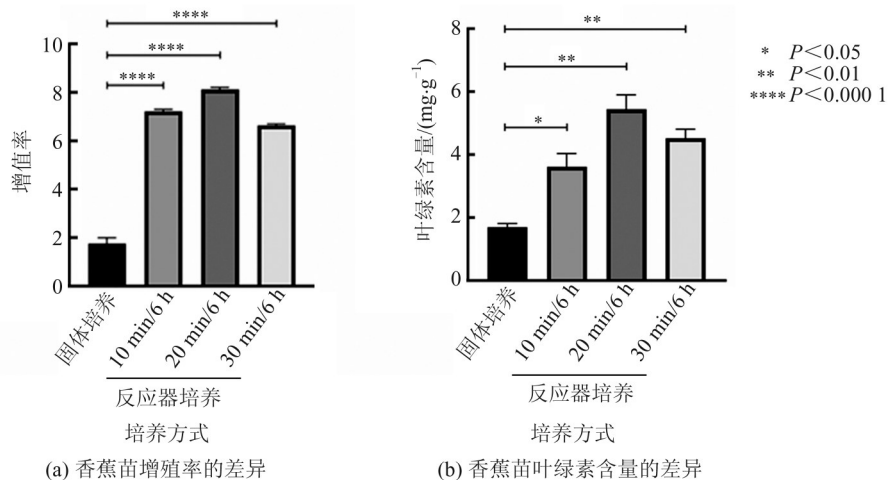


图 3 不同培养方式香蕉苗增殖率和叶绿素含量的差异

Fig. 3 Differences in growth rate and chlorophyll content of banana seedlings under different culture methods

表3 两种培养方式对香蕉组培苗光合性能的影响

Table 3 Effects of two culture methods on photosynthetic performance of banana tissue culture seedlings

培养方式	净光合速率/ $(\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1})$	叶片气孔导度/ $(\text{mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1})$	胞间 CO_2 浓度/ $(\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1})$	蒸腾速率/ $(\text{mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1})$
固体培养	7.48±0.46b	0.09±0.29a	249.77±1.25b	0.06±0.67b
反应器培养	10.08±0.19a	0.12±0.56a	542.39±1.32a	1.16±0.78a

注: 同列不同小写字母表示在 $P < 0.05$ 时有统计差异

Note: different lowercase letters in the same column indicate statistical differences ($P < 0.05$)

主要方法为利用无性繁殖过程中发生的突变,在保持母本优良性状的基础上,选择理想的优异变异株系^[15]。结合组织培养技术可以大大提高香蕉芽变的频率,传统固体培养将外植体包埋在琼脂培养基内,在提供组织器官发育所需营养物质的同时还起着支撑作用^[16]。但植物愈伤组织继代培养过程中常常会发生褐变现象甚至导致组培苗死亡^[17]。而利用液体培养方式培养时会发生组培苗玻璃化现象,严重时会导致植株畸形、生根困难^[18]等。

间歇浸没反应器为了模拟植物生长自然条件,设计采用液体培养基间歇性接触植物组织以供给营养,具有自动化程度高、增殖倍数高、无玻璃化等优点。间歇浸没式植物生物反应器与传统固体培养环境相比,充分结合固体培养气体交换最大化和液体培养营养吸收充分的特点,为植物的大规模繁育提供了更有利的环境保障^[19]。在本研究中,利用间歇浸没式植物生物反应器和固体培养分别培养香蕉组织,前者更有利于幼芽的快速繁育以及生物活性积累,这与文献[20]研究结果一致,不仅获得了更高的增殖倍数,还有利于根部的诱导和生长。间歇浸没式植物生物反应器通过装置上方的气孔连接外部环境,为植物组培提供一个有氧环境。浸没频率是影响反应器效果的重要因素之一,不仅影响植物组织的生长,还对生物活性成分的积累起到重要作用^[21]。并且不同植物培养需要不同浸没频率,甚至相同植物的不同品种也需要不同浸没频率。研究结果表明,20 min/6 h的浸没频率是培养香蕉幼芽组织的最佳选择。而较高浸泡频率(10 min/6 h)与较低浸泡频率(30 min/6 h)效果不佳,这与文献[22]的研究结果一致。原因是较高的浸泡频率导致外植体过度缺水 and 畸形,而较低的浸没频率导致外植体过度补水而生长缓慢,减少生物量和代谢物^[23]。

4 结论

实验结果表明,利用间歇浸没式植物生物反应器培养技术繁育香蕉组培苗时,香蕉组培苗在根长、组培苗的增殖率、香蕉叶宽、茎长、茎粗、根数等方面优于固体培养的香蕉组培苗。本研究表明,浸没频

率为20 min/6 h时,香蕉幼苗发育最好。此时根系粗壮,根长最长,功能根数最多。反应器培养的组培苗在光合作用效率上优于固体培养组培苗,且通过光合作用获取养分的能力也更强。相比于固体培养,反应器培育的香蕉苗在光合特性方面表现出显著优势。在叶绿素含量测定中,反应器培养的香蕉组培苗的叶绿素含量比传统组培高,20 min/6 h浸没频率下,反应器培养的香蕉组培苗的叶绿素含量最高。

参考文献

- [1] 孙长君, 郭素霞, 程志号, 等. 16个矮蕉品种(系)组织培养条件优化[J]. 中国果树, 2024(5): 89-98.
Sun C J, Guo S X, Cheng Z H, *et al.* Optimization of tissue culture conditions of 16 dwarf banana varieties (lines)[J]. China Fruits, 2024(5): 89-98.
- [2] 王丽霞, 林妃, 苏璐, 等. 香蕉钾素营养及其施用技术研究综述[J]. 安徽农学通报, 2019, 25(20): 101-105.
Wang L X, Lin F, Su L, *et al.* Research progress on potassium and its application technology of banana[J]. Anhui Agricultural Science Bulletin, 2019, 25(20): 101-105.
- [3] 甘珊珊, 王静毅, 程运江, 等. 香蕉遗传转化体系优化[J/OL]. 热带农业科学, 2024: 1-11 [2024-10-10]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1038.S.20240220.1350.010.html>.
Gan S S, Wang J Y, Cheng Y J, *et al.* Optimization of banana genetic transformation system[J/OL]. Chinese Journal of Tropical Agriculture, 2024: 1-11 [2024-10-10]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1038.S.20240220.1350.010.html>.
- [4] Yasin S, Yasmin A. Standardization of a genotype independent combination of growth regulators for axenic shoot tip culture of cotton[J]. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, 2019, 19: 101156.
- [5] 马雪筠, 周丽依, 陈俊秋. 香蕉组织培养快速繁殖技术的研究[J]. 广东农业科学, 1989, 16(1): 22-24.
Ma X J, Zhou L N, Chen J Q. Study on rapid propagation technology of banana through tissue culture[J]. Guangdong Agricultural Sciences, 1989, 16(1): 22-24.

- [6] 何琼英. 香蕉花序组织直接诱导芽丛的研究[J]. 华南农业大学学报, 1994, 15(3): 124-128.
He Q Y. Studies on direct induction of clusters from inflorescence tissue of banana[J]. Journal of South China Agricultural University, 1994, 15(3): 124-128.
- [7] Kumar D, Chakradhar P, Ranganna G, *et al.* Tissue culture in banana cultivation: a review of its impact on disease management, yield improvement, and sustainable production[J]. Journal of Advances in Biology & Biotechnology, 2024, 27(9): 628-644.
- [8] Etienne H, Berthouly M. Temporary immersion systems in plant micropropagation[J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 2002, 69(3): 215-231.
- [9] Tisserat B, Vandercook C E. Development of an automated plant culture system[J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 1985, 5(2): 107-117.
- [10] 张杰, 张本厚, 贾明良, 等. 利用间歇浸没植物生物反应器进行半夏组培快繁的研究[J]. 科技通报, 2018, 34(1): 95-100.
Zhang J, Zhang B H, Jia M L, *et al.* Rapid propagation of *Pinellia ternata* using temporary immersion bioreactors[J]. Bulletin of Science and Technology, 2018, 34(1): 95-100.
- [11] 张杰, 胡燕花, 张本厚, 等. 利用间歇浸没式植物生物反应器培养金钗石斛种苗[J]. 中国农业科技导报, 2020, 22(10): 181-187.
Zhang J, Hu Y H, Zhang B H, *et al.* Micropropagation of *Dendrobium nobile* seedlings using temporary immersion bioreactor system[J]. Journal of Agricultural Science and Technology, 2020, 22(10): 181-187.
- [12] 金磊磊, 李泽坤, 金慧, 等. 间歇浸没植物生物反应器培养栀子愈伤组织及产藏红花素条件研究[J]. 江苏农业科学, 2022, 50(2): 42-46.
Jin L L, Li Z K, Jin H, *et al.* Cultivation of gardenia callus of *Gardenia jasminoides* and conditions for crocin production in intermittent immersion plant bioreactor[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2022, 50(2): 42-46.
- [13] 梁晋豪, 刘涛, 邓祥平, 等. 不同浓度 NaHCO_3 处理对香蕉叶片生理指标的影响[J]. 中国热带农业, 2023(3): 61-68.
Liang J H, Liu T, Deng X P, *et al.* Effects of NaHCO_3 with different concentrations on physiological indexes of banana seedlings [J]. Chinese Tropical Agriculture, 2023(3): 61-68.
- [14] 郭素霞, 程志号, 孙长君, 等. 不同培养条件对香蕉栽培种南天黄组培苗根系褐化的影响[J]. 热带农业科学, 2022, 42(12): 30-36.
Guo S X, Cheng Z H, Sun C J, *et al.* Effects of different culture conditions on browning of root system of banana cultivar "Nan Tian Huang" tissue cultured seedlings [J]. Chinese Journal of Tropical Agriculture, 2022, 42(12): 30-36.
- [15] 曾鸿运, 吴元立, 黄秉智. 中国香蕉育种研究进展[J]. 果树学报, 2023, 40(11): 2446-2465.
Zeng H Y, Wu Y L, Huang B Z. Research and utilization progress in banana germplasm resources in China [J]. Journal of Fruit Science, 2023, 40(11): 2446-2465.
- [16] 梁钾贤, 陈彪, 刘康平, 等. 高产优质香蕉新品种的快繁和栽培技术[J]. 中国南方果树, 2013, 42(4): 118-120.
Liang J X, Chen B, Liu K P, *et al.* Rapid propagation and cultivation techniques of high-yield and high-quality new banana varieties[J]. Southern China Fruits, 2013, 42(4): 118-120.
- [17] 罗一然, 李雄军. 木本果树组织培养主要难点及对策分析[J]. 烟台果树, 2024(1): 1-3, 7.
Luo Y R, Li X J. Analysis of main difficulties and countermeasures in tissue culture of woody fruit trees [J]. Yantai Fruits, 2024(1): 1-3, 7.
- [18] 赵青平, 梁雨萍, 周方圆, 等. 植物幼苗玻璃化发生机制研究进展[J]. 植物学报, 2022, 57(1): 90-97.
Zhao Q P, Liang Y P, Zhou F Y, *et al.* Research progress of hyperhydricity mechanism in plant seedling growth[J]. Chinese Bulletin of Botany, 2022, 57(1): 90-97.
- [19] Singh A K, Sharma A, Chhavi, *et al.* Use of tissue culture for propagation of banana variety grand naine (*Musa acuminata*) [J]. Current Journal of Applied Science and Technology, 2023, 42(43): 1-6.
- [20] Alvard D, Cote F, Teisson C. Comparison of methods of liquid medium culture for banana micropropagation [J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 1993, 32(1): 55-60.
- [21] Zhang J, Chua H C, Zhou J, *et al.* Factors affecting the membrane performance in submerged membrane bioreactors[J]. Journal of Membrane Science, 2006, 284(1/2): 54-66.
- [22] Georgiev V, Schumann A, Pavlov A, *et al.* Temporary immersion systems in plant biotechnology[J]. Engineering in Life Sciences, 2014, 14(6): 607-621.
- [23] Nicholson J, Shukla M R, Saxena P K. *In vitro* rooting of hybrid hazelnuts (*Corylus avellana* × *Corylus americana*) in a temporary immersion system [J]. Botany, 2020, 98(7): 343-352.

□

(编辑:肖展春 高华)