

培养因子对绿玉树离体微型快繁的影响*

Effects of Culture Factors on Micro-propagation of *Euphorbia tirucalli*

蒋丽娟 孙友平** 李培旺

Jiang Lijuan Sun Youping Li Pei wang

(湖南省林业科学院 长沙市 410004)

(Hunan Academy of Forestry, Changsha, Hunan, 410004, China)

摘要 以绿玉树的腋芽茎段和顶芽为外植体, 研究不同培养基浓度、不同激素配比、外植体的放置方式以及化学物质 PEG、PP₃₃₃、AgNO₃ 等因子对绿玉树离体培养丛生芽产生的影响, 以此筛选出绿玉树离体快繁最适培养基及培养途径。结果表明: 诱导腋芽、顶芽萌发较理想的培养基为: 3/4MS+ ZT0.5~ 1 mg/L+ NAA0.01mg/L 和 1/2MS+ BA0.5mg/L+ NAA0.01mg/L, 适宜丛生芽增殖的培养基为: MS+ ZT0.5~ 2mg/L+ NAA0.05mg/L+ GA₃ 0.01mg/L, 芽的增殖系数为 4.5

关键词 绿玉树 微型快繁 培养基 增殖系数

中图法分类号 S723.132

Abstract The effects of contents of mediums, phytohormone, position of explant on the mediums and the chemical such as PEG, PP₃₃₃, AgNO₃ on the regeneration of cluster buds were studied by using the stem fragment with auxiliary buds and shoot tip as explants. The results show that mediums of 3/4MS+ ZT0.5~ 1 mg/L+ NAA0.01mg/L and 1/2MS+ BA0.5mg/L+ NAA0.01mg/L, were suitable for the germinating of shoot tips and auxiliary buds. Mediums of MS+ ZT0.5~ 2mg/L+ NAA0.05mg/L+ GA₃ 0.01mg/L was optimum for reproducing cluster buds, and the coefficient of plantlet regeneration was up to 4.5.

Key words *Euphorbia tirucalli*, micro-propagation, mediums, regeneration coefficient

绿玉树 (*Euphorbia tirucalli*) 是大戟科大戟属植物, 又名橡胶大戟、绿珊瑚、白乳木; 是直立无刺的灌木或小乔木, 高 2~ 10 m; 是集药用、供能、观赏、工业原料、环境绿化、水土保持于一体, 具有能源、生态、经济综合效益的多功能、多用途树种。我国海南、广州、西双版纳等地作为庭园观赏树种零星引种栽培, 其药用和能源价值正逐步被认识, 并开始把它作为能源、防护林造林树种进行引种栽培。

目前对绿玉树离体培养的报道主要集中在细胞和原生体悬浮培养、细胞内油体和甾醇类化合物的合成途径^[1], 而以增殖为目的的微型快繁研究尚未见报道。本试验研究绿玉树茎段、顶芽离体培养技术, 建

立微型快繁体系, 为抗寒诱变、良种选育、定向培育及遗传转化等开拓性研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

以绿玉树腋芽茎段、顶芽段为外植体。

1.2 无菌材料的建立及起始培养

选取当年生的幼态萌条, 用 21.1% PEG 处理 4~ 5 h (该浓度和处理时间, 通过预备试验确定), 用自来水冲洗干净, 按常规方法灭菌 (0.1% HgCl₂), 清洗。无菌条件下将顶芽或嫩茎切成 0.5 cm 的芽段接种于附加不同种类、不同浓度的激素 MS 培养基上。

1.3 增殖培养基

以 MS 为基本培养基, 附加 ZT, BA, NAA, GA₃, 组成不同的腋芽、顶芽萌发增殖培养基。观察无菌小苗的腋芽段、顶芽段在增殖培养基增殖及基部不定芽分化共同形成丛生芽, 统计丛生芽培养成苗率, 从中筛选适宜的培养基。

2003-05-27 收稿。

* 国家林业局“948”项目和“863”项目《能源植物及液体燃料利用新技术研究示范》资助。

** 华中科技大学生命科学院, 武汉, 430074 (College of Life Science, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, Hubei, 430074, China)。

1.4 生根培养

在获得大量无根丛生芽的基础上, 切取高 3~ 5 cm 的苗端段移入生根培养基进行诱导发根, 培养基为 1/2MS+ 3%蔗糖附加不同种类的生长素, 定时观察生根情况, 筛选适宜的培养基。另外, 再切长 3~ 5 cm 的苗端, 分别浸入装有 0.5mg/L IBA 和 NAA 溶液的试管中 5h (以水浸泡作对照), 取出苗端扦插在消毒过的泥碳土中并保湿, 观测不同时间苗的生根及成活情况

1.5 培养条件

培养基 pH 值为 5.6~ 6.0, 培养温度 20~ 30℃, 光照条件 1500~ 2000lux, 培养室相对湿度 65% 左右, 光照时间 10~ 14h/d

1.6 数据处理

萌发率 = (芽萌发外植体数 / 总的外植体数) × 100%; 诱导率 = (产生不定芽的外植体数 / 接种外植体数) × 100%; 生根率 = (生根苗端段 / 接种苗端段总数) × 100%; 活苗率 = (成活小苗 / 移栽小苗总数) × 100%; 丛生芽增殖率 = (诱导产生的丛生芽总数 / 接种腋芽段数) × 100%; 有效芽率 = (伸长长成正常小苗的不定芽数 / 诱导产生的不定芽总数) × 100%

数据统计方法为新复极差法 (SSR), 不同字母间差异显著, 差异小平为 5%。

2 结果与分析

表 1 不同浓度的 MS 植物激素对芽萌发的影响

Table 1 Germination under different concentrations of MS mediums and phytohormone

培养基 Mediums	生长调节剂 Growth regulator (mg/L)			外植体数 Explant (个 individual)	芽萌发率 Germination percentage (%)	小芽质量 Quantity of buds	
	6-BA	ZT	NAA			平均芽长 Length (cm)	平均芽粗 Diameter (mm)
MS	0.5	0	0.01	30	56.6	4.5	2.2
MS	1	0	0.01	30	60	5.3	2.3
MS	2	0	0.01	30	56.67	5.1	2.2
MS	0	0.5	0.01	31	80	6.7	2.2
MS	0	1	0.01	32	83.3	6.8	2.2
MS	0	2	0.01	32	93.3	6.8	2.1
1/2MS	0.5	0	0.01	31	90.3	6.7	2.0
1/2MS	1	0	0.01	31	74.2	6.6	1.5
1/2MS	2	0	0.01	31	77.5	6.4	1.7
1/2MS	0.5	0	0.01	32	87.5	7.5	1.5
1/2MS	0	1	0.01	35	90.6	7.1	1.5
1/2MS	0	2	0.01	30	82.9	6.9	1.8
3/4MS	0.5	0	0.01	30	86.6	7.0	2.5
3/4MS	1	0	0.01	30	83.3	6.3	2.6
3/4MS	2	0	0.01	30	80.0	6.8	2.4
3/4MS	0	0.5	0.01	30	86.6	6.7	2.5
3/4MS	0	1	0.01	30	90.6	6.5	2.6
3/4MS	0	2	0.01	30	87.1	6.9	2.8

2.1 起始培养

2.1.1 MS 基本培养基浓度和激素浓度变化对顶芽段和腋芽茎段培养的影响

在添加适宜浓度激素的培养基上, 7d 后腋芽和顶芽开始萌动, 20d 后生长至 2~ 3 cm, 但未见丛生芽分化。BA 和 ZT 在一定浓度范围内均可诱导腋芽顶芽萌发。30d 后外植体在各类培养基上的生长情况见表 1

从表 1 可见, 培养基中无机盐和有机元素含量对芽的萌发率影响不大, 但影响芽的质量。全量 MS 培养基诱导的苗端较粗壮, 而 1/2MS 培养基上诱导的苗端细弱; 同时, 当培养基中的无机盐和有机物浓度较高时, 所需的细胞分裂素浓度较高, 如当诱导芽的萌发率达到 90% 以上, 培养基中的 ZT 含量分别为 2mg/L (MS)、1mg/L (3/4MS) 和 1.0mg/L (1/2MS), BA 含量为 0.5mg/L (1/2MS)。试验统计数据上理想的培养基为 MS+ ZT2mg/L+ NAA0.01mg/L, 但 ZT 用量大会提高培养基的成本 (玉米素较昂贵), 因此, 实际应用中较理想的培养基为 3/4MS+ ZT0.5~ 1 mg/L 和 1/2MS+ BA0.5 mg/L+ NAA0.01 mg/L

2.1.2 活性碳、PEG 对腋芽、顶芽培养的影响

以 3/4MS 为基本培养基, 在培养基中添加活性碳和对外植体进行 PEG 预处理, 10 d 后腋芽和顶芽的培养结果见表 2

表 2 活性碳、PEG对腋芽顶芽培养的影响

Table 2 Germination of under buds and top buds under different activated carbon and PEG

生长调节剂 Growth regulator (mg/L)			活性碳 Activated carbon (mg/L)	PEG 预处理 Pretreatment by PEG	外植体数 Explant (个 individual)	芽萌发率 Germination percentage (%)	外植体褐化率 Browning rate (%)
6-BA	ZT	NAA					
0.5	0	0.01	0	-	35	56.6	43.4
0.5	0	0.01	0.1	-	31	60.5	39.5
0.5	0	0.01	0	+	31	61.2	38.8
0	0.5	0.01	0	+	31	85.3	19.5
0	0.5	0.01	0	+	36	91.2	8.8
0	0.5	0.01	0.1	-	30	86.7	13.3

表中数据为培养 10 d后的统计结果。 Data in table 2 are statistical results after 10 days culturing.

从表 2可以看出, 外植体经 PEG预处理, 可降低绿玉树乳汁对培养基的污染, 减少外植体的褐化率, 提高腋芽、顶芽的萌发率。0.1 mg/L的活性碳对降低褐化率、提高芽的萌发率作用不明显。

2.1.3 外植体在培养基上的放置方式对芽萌发的影响

外植体形态学下端、形态学上端分别垂直插入以及外植体平放在培养基 (3/4MS+ ZT0.5 mg/L+ NAA0.01 mg/L)上的培养结果见表 3。从表 3可见, 萌发率以外植体形态学下端插入培养基为最高, 形态学上端插入培养基的外植体在培养 20d内, 萌发率极低, 但随着培养时间的延长, 萌发率有较大的提高, 与平放培养基表面的接近, 培养 25d后, 均能达 80%以上。说明这些外植体培养时, 萌发情况与生长素极性运输有关, 如时间长则生长素慢慢会调节分配, 表现出适宜于芽的萌发。外植体采用横放的方式而不让切口接触到培养基, 可减少外植体代谢物污染培养基, 从而减少外植体褐化率。对建立快速繁殖的起始培养而言, 外植体形态学下端插入培养基的培养方式为好。

2.2 增殖培养

2.2.1 生长调节剂对不定芽形成的影响

表 4是以 3/4MS+ NAA0.02mg/L+ GA₃ 0.01

表 3 带芽段外植体的放置方式对芽萌发的影响

Table 3 Influences of explants position in mediums on shoots regeneration

放置方式 Treatments	外植体数 Explant (个 individual)	褐化率 Browning rate (%)	芽萌发率 Germination percentage (%)	芽萌动 时间 Germina- tion days (d)	没萌发率* Ungerminated percentage (%)
形态上端朝上 Upward	30	10	90	7	0
形态上端朝下 Downward	30	13.3	80.4	25	6.3
水平放置 Horizontal	30	6.7	83.3	20	10

* 未褐化的外植体中仍有不能萌发的外植体。 Among the unbrowning explants, there still have some ungerminated ones.

mg/L(生长素的浓度由预备试验结果确定)为基本培

养基, 附加不同种类和不同浓度的细胞分裂素的绿玉树外植体的培养结果

从表 4可以看出, 6-BA ZT KT在一定浓度范围内均能诱导绿玉树腋芽和顶芽萌发, 同时在腋芽、顶芽附近及茎轴的其它部位产生不定芽, 共同形成丛生芽。不同种类的激素对不定芽的诱导效果不同, ZT诱导产生的不定芽数比 BA多, 比 KT少, 但有效芽在总丛生芽数中占的比例较高(图 1)。KT能诱导产生大量丛生芽, 但芽伸长生长困难, 难于成苗。以附加 ZT的培养基的丛生芽增殖效果为最好。

表 4 生长调节剂对不定芽诱导的影响

Table 4 Shoot regeneration under different types and concentration of growth regulator

生长调节剂 Growth regulator (mg/L)			接种腋 芽段数 Inculated explants (个 individual)	芽轴基部 不定芽诱 导率 Percentage of regene- ration (%)	平均增 殖芽数 No. of regenerated shoots	有效芽率 Percentage of vigor shoot (%)
6-BA	ZT	KT				
0.5	0	0	30	83.3	4.5	80
1.0	0	0	32	81.25	3.75	78.5
2.0	0	0	35	77.14	3.75	76.5
4.0	0	0	39	76.9	3.75	76.5
6.0	0	0	30	76.6	3.33	74.5
0	0.5	0	36	91.7	4.25	84.7
0	1.0	0	38	92.1	4.5	85
0	2.0	0	31	96.67	4.5	85
0	0	0.5	32	96	6.25	38
0	0	1.0	32	93.75	7.5	36.4
0	0	2.0	35	87.5	6.5	34.4

2.2.2 其它因素对丛生芽增殖的影响

表 5是以 3/4MS+ ZT0.5 mg/L+ NAA0.02 mg/L+ GA₃0.01 mg/L为增殖培养基, 附加多效唑 (PP₃₃₃) 和硝酸银 (AgNO₃) 对丛生芽的增殖及芽质量的影响结果。从表 5可以看出, PP₃₃₃和 AgNO₃均能抑制愈伤组织的生长, 同时也抑制丛生芽的生长(图 2)。



图 1 生长调节剂对芽增殖的影响

Fig. 1 Effects of growth regulator on shoot germination

a. 附加 KT 的培养基诱导丛生芽产生情况; b. 附加 BA 的培养基诱导丛生芽产生情况; c. 附加 ZT 的培养基诱导丛生芽产生情况

a. Cluster shoot formation under KT; b. Cluster shoot formation under BA; c. Cluster shoot formation under ZT.



图 2 PP₃₃₃和 AgNO₃对芽增殖的影响

Fig. 2 Effects of PP₃₃₃ and AgNO₃ on cluster shoot formation

a. AgNO₃对丛生芽增殖的影响; b. PP₃₃₃对丛生芽增殖的影响

a. Effects of AgNO₃ on cluster shoot formation; b. Effects of PP₃₃₃ on cluster shoot formation.

2.3 生根培养

2.3.1 激素种类及浓度对试管苗生根的影响

从表 6 可以看出,绿玉树苗端段在生根培养基上容易生根,不同激素配比的培养基对生根时间、根的质量存在一定影响, NAA, IBA 对生根均有促进作用。与对照相比,在添加 NAA 0.5 mg/L 的培养基上,

苗端生根时间早, 7d 开始生根, 根粗短 数量多, 生根率高, 为生根的适宜培养基 (见图 3)。

2.3.2 激素处理苗端段试管外生根的效果

从表 7 可以看出, 绿玉树芽苗试管外生根率极低, 只有 3.3%, 大部分苗死亡。主要原因是芽苗水分含量高, 木质化程度低, 易失水, 易感染。



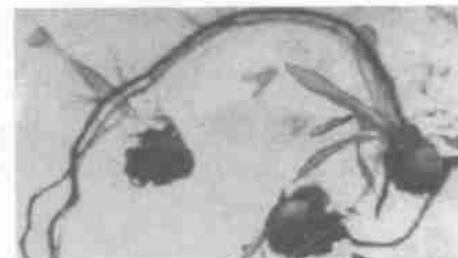
a



b



c



d

图 3 不同培养基中根的生长情况

Fig. 3 Different medium on rooting

a. 1/2MS+ 1BA 培养基生根; b. 1/2MS+ NAA 培养基生根;

c. 1/2MS 培养基生根; d. MS 培养基生根

a. Rooting in mediums 1/2MS+ 1BA; b. Rooting in mediums 1/2MS+ NAA; c. Rooting in mediums 1/2MS; d. Rooting in mediums MS.

表 5 不同因素对丛生芽增殖生长的影响

Table 5 Cluster shoot formation under different factors

影响因素 Factors (mg/L)		腋芽段数 Inculated explants (个 individual)	芽轴基部不定芽诱导率 Regeneration percentage (%)	丛生芽增殖 Cluster shoots			愈伤生长量 Calli growth
PP ₃₃₃	AgNO ₃			增殖率 Rate (%)	芽长 length (cm)	芽粗 Diameter (cm)	
0	0	35	96.6	3.25	3.375	1.75	较多 More
0	0.10	36	86.1	1.66	3.75	1.75	较少 Less
0	0.5	40	82.5	1.5	3.75	1.75	较少 Less
1	0	30	82.6	3.0	3.1	2.13	较少 Less
3	0	30	77.8	2.71	3.1	2.15	较少 Less
5	0	30	73.3	2.58	2.8	1.50	较少 Less
10	0	35	52.2	2.18	2.6	1.175	较少 Less

表 6 不同激素配比对苗端段生根的影响

Table 6 Rooting of buds under different prescription of incretion

培养基代号 Mediums code	IBA (mg/L)	NAA (mg/L)	生根时间 Days to initial rooting (d)	接种 20 d 20 days after culturing			接种 30 d 30 days after culturing			
				生根率 Rooting percentage (%)	平均根数 No. of roots (根 root)	根数 Roots	生根率 Rooting percentage (%)	平均根数 No. of roots (根 root)	平均根长 Length of root (mm)	根粗度 Roots diameter (mm)
				CK	0	0	11	70 ^a	2.25 ^a	1~3
1	0.05	0	11	88 ^b	2.5 ^a	1~4	91 ^b	3.25 ^a	3.75 ^b	1.0 ^f
2	0.1	0	9	88 ^b	3.2 ^b	1~4	90.9 ^b	4.3 ^b	3.25 ^a	2.6 ^d
3	0.5	0	7	66 ^c	3.2 ^b	1~4	88.6 ^b	4.5 ^b	3.1 ^a	2.5 ^d
4	0	0.05	10	83.3 ^c	3.8 ^c	1~5	95.5 ^a	4.2 ^b	1.8 ^{cd}	5 ^b
5	0	0.1	9	86.6 ^b	3.8 ^c	1~4	96 ^c	5.4	1.6 ^c	7 ^a
6	0	0.5	7	90 ^d	4 ^d	1~6	99 ^a	5.5 ^c	2.0 ^d	4 ^c

表 7 不同生根剂对芽端段试管外生根的影响

Table 7 Rooting of plantlets outside of culture flask under different growth regulator

处理 Treatments	芽苗插条数 Cuttings/No	生根时间 Days to initial rooting (d)	接种 20 d 20 days after culturing		接种 40 d 40 days after culturing	
			生根率 Rooting percentage (%)	活苗率 Survival shoots (%)	生根率 Rooting percentage (%)	活苗率 Survival shoots (%)
CK	30	15 ^a	3.3 ^a	10 ^a	3.3	3.3 ^a
IBA	30	12 ^b	6.7 ^b	13.3 ^b	3.3	3.3 ^a
NAA	30	12 ^b	6.7 ^b	13.3 ^b	3.3	3.3 ^a

表中的活苗率是包括生根和没生根但仍保持鲜活的芽苗插条 and plantlets of non-rooting but still alive. Survival shoots percentage in table 7 including rooting plantlets

3 讨论

3.1 基本培养基对芽轴不定芽产生的效应

MS 1/2MS, 3/4MS 附加不同种类和浓度的生长调节剂, 都能诱导芽轴不定芽再生并形成丛生芽。MS 与较高浓度的生长调节剂能达到较高的丛生芽诱导率, 且褐化率最低; 1/2MS 亦可高频率地诱丛生芽产生, 但有效苗细长, 因而以 3/4MS 效果较好。从快速繁殖的成本投入考虑, 3/4MS+ ZT 0.5~1 mg/L + NAA 0.02 mg/L + GA₃ 0.01 mg/L 为最合适绿玉树微繁快速增殖的培养基

3.2 激素对芽轴不定芽再生的影响

细胞分裂素与低浓度的生长素配合使用或单一使用细胞分裂素, 均能诱导外植体产生不定芽。低浓度的 ZT 对愈伤组织与不定芽的诱导均有促进作用, 其最佳浓度为 0.5~2.0 mg/L, 外加 NAA GA₃ 各为 0.02 mg/L 和 0.01 mg/L。KT 能诱导产生许多小芽, 但有效苗率低, 褐化率高

3.3 PP₃₃₃ AgNO₃ 在绿玉树离体培养中的应用

PP₃₃₃ 应用于植物生物技术, 在提高愈伤组织分化率、促进芽的增殖及壮苗培养方面有良好的效果^[2-6], 如浓度为 0.2~1.0 mg/L 的 PP₃₃₃ 能促进重

瓣丝石竹芽的增殖,抑制试管苗玻璃化趋势^[7]; Ag-NO₃在植物离体培养过程中,能抑制愈伤组织分化,增加丛生芽诱导再生率,马锋旺等^[8]研究 AgNO₃对山杏原生质体培养的影响表明,在培养基中加入 Ag-NO₃可显著地提高原生质体的分裂能力和愈伤组织再生芽的能力。杨文玉等^[9]在马铃薯叶片组织培养愈伤组织诱导阶段和芽再生阶段加入 AgNO₃,能显著地提高芽再生能力。在本研究中,PP₃₃₃和 AgNO₃都能抑制切口愈伤组织的产生和生长,但同时也抑制不定芽的分化

3.4 外植体褐化与 PEG在植物离体培养中的应用

组织培养过程中,外植体褐变是一种普遍存在的现象,受培养温度、外植体种类、激素浓度、培养基种类、光照等因素的影响^[10,11]。由于绿玉树的茎段、顶端、叶子含有丰富的乳汁,存在严重的外植体褐化问题。因此,控制外植体褐变是该植物离体快繁成功的关键之一。PEG是一种高分子渗透剂,起渗透调节作用,使组织处于低水势的介质中,广泛用于种子的引发,能提高种子的出芽率和作物的抗旱性^[12]。近年来的报道将其应用于植物离体培养中,陈正山等^[13]将 PEG应用于东北红豆杉茎的愈伤组织培养,对愈伤组织的生长有明显的促进作用,同时降低了外植体褐化率。廖祥儒等^[14]进行 PEG对水稻细胞培养的研究发现,PEG能提高磷酸脂酶的活性,促进愈伤组织增殖和分化。本试验在培养基中加入活性炭,利用其吸附作用减少褐化,效果不佳;而在接种前对外植体进行 PEG预处理则能有效地降低褐化率,促进茎段上芽的萌发。

综上所述,本试验得到如下结论:

(1) 采用嫩枝诱导侧芽萌生,然后取新长出的嫩枝芽做继代培养,通过速生侧芽苗和不定芽增生这两条途径共同形成丛生苗。用分切丛生苗来扩大增殖。诱导腋芽、顶芽萌发的培养基为 3/4MS+ ZT0.5 mg/L+ NAA0.02 mg/L和 1/2MS+ BA0.5 mg/L+ NAA0.02 mg/L,诱导率达 80%以上,适宜丛生芽增殖的培养基为 MS+ ZT0.5~2 mg/L+ NAA0.05 mg/L+ GA₃ 0.01 mg/L,芽的增殖系数为 4.5

(2) 研究发现绿玉树离体培养有特殊性。ZT对

绿玉树愈伤组织诱导、增殖,对丛生芽增殖有显著效果,呈现出一定的专一性

参考文献

- 1 Behera B K, Neerja Midha, Mukta Arora et al.. Production of petroleum hydrocarbons, fermentable sugars and ethanol from *Tabernaemontana divaricata* a new fuel crop and renewable resource of energy. *Energy Conversion and Management*, 1995, 36(4): 281-288.
- 2 Gehlot A, Upadhyaya A, Davis T D et al.. Growth and organogenesis in moth bean callus as affected by Paclobutrazol. *Plant Cell Physiology*, 1989, 30(6): 933-936.
- 3 马田华,张启明.多效唑在唐菖蒲组织培养中的作用. *园艺学报*, 1994, 21(3): 288-292.
- 4 王军.多效唑在植物生物技术上的应用. *大理科技*, 2001, (2): 34-41.
- 5 陈龙清,张雨琴,袁芳亭. PP₃₃₃及矮壮素对地被菊试管苗重要的影响. *植物生理通讯*, 2000, 31(5): 425-427.
- 6 田兴范,刘志强,张经芬.多效唑对菊花、蔓长春花试管苗生根的影响. *园艺学报*, 1993, 20(1): 101-102.
- 7 郑丽屏,李文庚,王玲等.多效唑在重瓣石竹组织培养中的作用. *资源开发与市场*, 2000, 16(5): 276-278.
- 8 马锋旺,徐凌飞,李嘉瑞.硝酸银对山杏原生体培养的影响. *李杏资源研究与利用进展*, 2000, 259-261.
- 9 杨文玉,白永延,许智宏.硝酸银对马铃薯叶片组织培养中芽再生的促进作用. *植物生理学报*, 1998, 24(1): 86-90.
- 10 徐振彪,傅作中.植物组织培养过程中的褐化现象. *国外农学——杂粮作物*, 1997, (1): 55-56.
- 11 高国训.植物组织培养中的褐变问题. *植物生理学通讯*, 1999, 35(6): 501-505.
- 12 洪法水.聚乙二醇和聚乙烯醇对黄瓜种子活力和抗寒性的影响. *园艺学报*, 1997, 24(4): 395-396.
- 13 陈正山,王勤.聚乙二醇对东北红豆杉培养细胞的生长及紫杉醇生产的影响. *西北植物学报*, 2001, 21(2): 257-261.
- 14 廖祥儒,芦春斌,杜建芳等. PEG和镍处理对水稻细胞磷酸脂酶活性及再生的影响. *西北植物学报*, 2001, 21(4): 766-769.

(责任编辑:邓大玉 曾蔚茹)