

DOI:10.14051/j.cnki.xddy.2017.15.002

青钱柳组培快速育苗研究进展

赵琴玘, 陈建中, 胡立涛, 韩文文

(湖州师范学院生命科学学院, 浙江湖州 313000)

摘要 青钱柳是一种很有开发潜力的多用途特有珍贵药用树种,集药用、保健、材用和观赏等多种价值于一身。本文综述了近年来青钱柳无性繁殖中组织培养的研究进展,探讨了青钱柳组培快速繁殖中常见的污染、玻璃化、褐变和生根问题,旨在为建立高效的不受季节和气候条件影响的青钱柳苗木组培快繁技术体系以及青钱柳的资源开发利用提供参考。

关键词 青钱柳, 无性繁殖, 组织培养, 快速繁殖

青钱柳(*Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja)又称甜茶树、青钱李、摇钱树等,系胡桃科青钱柳属植物,是冰川四纪幸存下来的国家二级保护树种,为中国特有的珍稀濒危单种属植物。它集药用、保健、材用、观赏等多种用途于一体,具有很高的开发价值^[1-3]。已有研究表明,青钱柳具有降低血糖和血脂、抗肿瘤及抗衰老等多种功能,其枝叶可用来泡茶,是理想的天然保健食品资源,被医学界称之为“天然胰岛素”,被植物界誉为“大熊猫”。然而,青钱柳天然资源非常有限,无法满足市场需求,因此,需通过人工繁育来扩大其资源。无性繁殖由于能保持母体的遗传特性,是种群扩繁的常用方法,尤其通过组织培养的方法进行的无性繁殖具有繁殖快以及不受场地、季节和环境条件限制等诸多优点,这对珍稀濒危植物的保护和开发利用具有重要的理论和现实意义^[4,5]。但目前有关青钱柳组培快繁的研究报道非常少,植物组织培养快速繁殖过程中存在外植体易褐变、生根难和种子发芽率低等问题,至今尚未建立组培快繁的完整体系^[6]。本文综述了近年来青钱柳组织培养技术的研究进展,对其研究过程中产生的一些问题进行了探讨,以为建立组培快繁完整体系提供参考。

1 青钱柳的生物学特性

青钱柳产于长江以南,广泛分布于我国的亚热带地区的江西、浙江、江苏、安徽、福建、台湾、湖北、四川、贵州、湖南、广西、广东和云南等省^[1,6]。它常生长在海拔800~2500m的山地中,喜阴、耐寒、耐旱,要求深厚、肥沃湿润土质,萌芽力强,生长中速,但在自然状态下发芽率低,仅为0.1%~0.2%,种子空粒率高且具有深休眠特性,一般播种后需隔年甚至2年后才萌发,很难成片生长^[3,7,8]。青钱柳为多年生落叶乔木,树干通直,高达20~30m,树木高大挺拔,树皮灰褐色,枝叶美丽多姿,枝条呈黑褐色,具灰黄色皮孔,果实为坚果,扁球形,直径约7mm,中部围有水平方向的革质圆盘状翅,顶端

有4枚宿存花被片及花柱,与铜钱很相似,因此也被称为“摇钱树”,花期4~5月,果期8~10月^[3,7,9]。奇数羽状复叶,互生,有7~9片小叶,椭圆形或长椭圆状披针形,边缘具细齿。花单性同株,柔荑花序下垂,雄花序2~4枚,集生于上年枝叶腋,雌花序单生当年枝顶。其果实及果翅全部被有腺体,在基部及宿存花柱上则被有稀疏的短柔毛^[10]。

2 青钱柳组培快速繁殖

无性繁殖不仅能保持母体的遗传特性,还能解决种子休眠等问题,目前主要的无性繁殖方式有扦插、嫁接和组织培养等。组织培养是目前最有效可行的无性繁殖途径,除了具备繁殖快、不受场地、季节和环境条件限制等诸多优点,还能克服常规无性繁殖速度慢、繁殖率低等缺点^[11]。

2.1 外植体的选择

吴群英等^[12]研究表明,春季采集的茎段能够诱导芽的抽生,出芽率可达29.17%,夏、秋两季采集的茎段出芽率和出愈率都较低,且褐变率都大于50.00%。另外,鲁萌研究发现,4月的青钱柳茎段腋芽萌芽率为86.70%,萌芽生长状态最好,而5月份萌芽率为66.67%,但整体生长状态不如4月份理想^[13],这说明青钱柳外植体的采取最佳时期是春季的4月份。

2.1.1 嫩叶和嫩芽。青钱柳的嫩叶、嫩芽均不能够直接诱导芽的产生,但它们产生愈伤组织的效果较好,出愈率都高于60%,尤其是嫩叶,出愈率可达93.33%^[12]。叶片产生不定芽的主要部位是叶脉切口处和叶柄端切口处,首先外植体切口处细胞脱分化形成愈伤组织,后通过再分化形成不定芽^[14]。但大部分研究都仅获得愈伤组织,无法进行不定芽的诱导。阮氏钊等^[15]研究发现,从叶和茎段诱导形成的愈伤组织须经过状态调整后,才能产生不定芽,但青钱柳的愈伤组织分化的不定芽难以形成完整的植株。

2.1.2 茎段。在以青钱柳茎段为外植体进行组织培养时,胡冬南等^[16]研究发现,顶芽下1、2节的茎段分化效果较好,萌发率高,是最佳诱导材料。在植物组织培养中,植物生长调节剂对器官分化的调节起重要作用,就形态学而言,6-BA能够促进芽的分化、侧芽的生长^[17]。

基金项目:国家级大学生创新创业训练计划项目(201510347013)浙江省自然科学基金(LY16C020003)。

第一作者简介:赵琴玘(1996-),女,本科生,主要从事植物组织培养研究。

通讯作者:陈建中(1967-),男,博士,副教授,主要从事植物生物技术研究。

谢寅峰等^[18]首次以青钱柳茎段为外植体直接诱导腋芽萌发,通过以芽繁殖的方式进行增殖,在此试验过程中发现 6-BA 是诱导腋芽萌发的主要因素,其次是 NAA、2ip。目前已有许多研究以青钱柳茎段为外植体,虽可成功分化、诱导生根^[13,16,18,19],但生根率与生根质量未达标、芽苗玻璃化和褐化等问题仍需进一步研究。

2.1.3 离体胚。相比以青钱柳的嫩叶、茎段等为外植体,离体胚因被坚硬种皮包裹,不易受杂菌污染,且其分化能力较强,所以在培养时污染率很低、成苗数也较多,是一种有效获得青钱柳无菌小植株的培养方法^[20,21]。但青钱柳种子外壳坚硬,对种子的萌发有非常大的阻力,而要取出完整离体胚有一定的困难。尚旭岚等^[22]将青钱柳种子用浓硫酸预处理 4h,剥离出离体胚进行培养,采用离体胚培养技术使休眠期很长的青钱柳种子很快萌发,并在短期内迅速成苗。由于不同种源的种子酸蚀时间不一样,若酸蚀时间过长,浓硫酸将会破坏种胚致种子无法萌发。徐庆等^[23]对种子进行酸蚀和综合处理后直接将种子接入培养基进行无菌培养,可直接得到无菌苗进行快速繁殖,减少了剥离种胚的操作步骤,为青钱柳快速繁殖提供了一套简便的新方法。

2.2 培养基的选择

培养基是植物组织培养中离体材料赖以生存和发展的营养基质,内含碳源、氮源、能源、无机盐和水等营养要素,具有维持植物细胞渗透压、酸碱度等功能,是组培成功与否的重要因素。不同种类植物或同种植物的不同组织以及不同培养阶段对营养的要求都有所不同,因此,在植物组织培养快速繁殖过程中需要选择合适的培养基。

2.2.1 基本培养基。在以青钱柳茎段腋芽作为外植体的研究中,张志敏等^[24]发现,在 7 种基本培养基中 WPM 和改良 MS 培养基最佳,诱导率分别达到 83.33%和 75.76%,其中 WPM 培养基上的植株叶深绿色、叶片伸展、茎粗壮,说明 WPM 基本培养基最适宜青钱柳生长。此外,WPM 无机盐浓度相对较低,还适于离体胚的萌发和芽苗生长^[25]。而胡东南等^[16]认为,茎段在改良 DKW 培养基上的分化率高,芽长得快,适合青钱柳的壮苗培养,在改良 MS 培养基上的分化率稍低,分化所耗时间较长,但能分化出较多芽数,可用作青钱柳的诱导分化和增殖培养。综上可得,不同时期或不同取材部位的青钱柳茎段,在相同培养基上的分化效果不一样,因此选择适宜的基本培养基极为重要。

2.2.2 酸碱度(pH)。不同植物所适应的 pH 范围不同,培养基 pH 值是影响培养基凝固程度的重要因素^[26,27],此外,pH 还影响植物对培养基营养成分的吸收,因此,在接种植物材料前必须调节培养基的 pH 值。植物组织培养中多数植物 pH 值要求为 5.0~6.2;一般青钱柳

外植体生长的适宜 pH 值为 5.8^[27,28],然而,蒋小满等^[26]发现,在培养基高温灭菌后,其 pH 值会下降,所以在灭菌前可适当调高培养基 pH 值 0.2~0.5 个单位,这样可以确保灭菌后的 pH 值与原设计值接近。

2.3 丛生芽的诱导

植物生长调节剂能调节植物生长,据研究表明,TDZ 能促进芽的繁殖,还有利于芽的再生,TDZ 是人工合成的苯胺衍生物之一,具有很高的细胞分裂素活性,可使细胞长时间保持较高的分裂和分化能力^[29,30]。

在青钱柳丛生芽增殖诱导时,将青钱柳外植体诱导出的单芽,基部切一字样切口^[31]后接种于不同浓度激素组合的增殖培养瓶中,发现最佳组合浓度为 TDZ 0.1mg/L + NAA 0.1mg/L,丛生芽诱导率最高(100%),增殖系数达 7.33^[18]。但从 TDZ 诱导的不定芽产生的植株常常表现出节间缩短的矮化现象^[32],GA₃的生理作用是加速细胞的伸长生长、促进细胞分裂,在大多数情况下,对已形成的器官和胚状体的生长有促进作用^[30,33],针对有矮化现象的丛生芽,可将其切成单芽接种于添加浓度为 2.0mg/L 的 GA₃ 继代培养基上,苗最高达 4.17cm,而且苗形正常,生长健壮,叶大翠绿^[18]。

2.4 壮苗与生根

青钱柳是一种不定根较难发生的树种^[3],通过不定芽途径诱导产生的试管苗没有根端,因此必须对产生的再生植株进行生根诱导。影响试管苗不定根发生的因素有试管苗本身的生长状态及生理年龄等,当培养材料得到一定程度的复壮后,细胞分化能力提高,从而有利于生根与根的生长^[34]。

在青钱柳试管苗继代培养过程中易出现生长停滞、茎段纤细、叶片枯落等现象,若继代时间过长会发生褐化导致植株坏死且移栽成活率较低。为解决这些问题以建立完整的组培快繁体系,谢寅峰等^[9]研究发现添加 0.1mg/L 烯效唑能有效抑制丛生芽分化,控制苗高、增粗苗径,适合作为增殖后的壮苗培养基添加剂。为促进芽的分化、增加生物量、增高苗高,也可在增殖培养基中添加硝酸镧 5mg/L,起到良好的壮苗作用^[35]。

生根诱导分为试管内诱导和试管外诱导,谢寅峰等^[9]以 IBA 作为生根诱导物质,添加 IBA 0.2mg/L 培养 2 周后有不定根发生,生根率 16.67%,成活率 100.00%,在此基础上再将其暗培养 15 d 后发现生根率提升至 23.33%,成活率不变,而暗处理 8~10d 时,生根率有所下降;暗诱导 18 d 时生根率虽然达到 20.00%,但成活率却只有 86.67%。由此看来,生长素的代谢程度也能对生根产生影响,因为光可以促进生长素的降解,同时必须把握暗诱导的时间,时间过短或过长,可能会抑制光合作用而使生长素的代谢速率降低,使生根率降低并影响植株的正常生长。

3 存在的问题

3.1 污染问题

在组培过程中, 研究人员的操作不当或外植体消毒不充分均会产生污染, 使培养材料不能正常生长和发育, 而外植体消毒不充分是引起污染的主要原因。在以青钱柳茎段为外植体的试验中, 使用正确的消毒剂及其浓度和处理时间不仅能降低污染率, 还能提高外植体的萌发率。张志敏等^[24]发现升汞处理时间过短, 会造成污染严重, 升汞处理时间较长, 会对茎段组织细胞造成伤害, 因此升汞的处理时间是影响消毒效果的主要因素, 而乙醇的处理时间对萌发率效果的影响最大, 是诱导腋芽萌发的主要因素, 试验发现消毒灭菌的最佳组合是 70%乙醇 30s+0.1%升汞 12min, 污染率最低 (31.25%), 萌发率最高 (81.82%)。

3.2 褐变问题

褐变是影响组织培养的重要因素, 目前在许多植物组培过程中发现有褐变现象且主要发生在植物外植体^[36,37]。发生褐变的原因是植物体内的酚类物质被多酚氧化酶(PPO)氧化产生棕褐色醌类物质, 醌类又会在酪氨酸酶等作用下, 与外植体组织中的蛋白质发生聚合, 产生黑色或褐色的色素沉淀, 同时抑制许多酶活性, 进而引起其他酶系统失活, 使组织代谢活动紊乱, 对外植体材料产生毒害作用, 严重时导致培养材料死亡^[37-40]。褐变的发生往往是多种因素同时作用的结果, 引起褐变的因素主要有外植体材料的生理状态、取材部位和大小、培养基的成分及培养条件(温度、光照时间、光照强度和通气状况等)、外加激素的含量及比例, 另外转瓶周期也会影响褐变的发生^[37,39]。

由于对易于褐变的外植体材料进行预处理和连续转接可以减轻酚类物质和醌类物质对培养物的毒害作用^[39], 谢寅峰等^[6]试验发现, 青钱柳试管苗培养 40d 时长势较好且能适应新培养基中的环境, 因此每隔 40d 将外植体转入新的培养基能避免发生褐变。吴群英等^[12]将外植体先于 4℃预处理 5d 再接种, 发现可有效降低褐变率, 另外直接用烧红的手术刀快速切割外植体后再进行接种可使茎的褐变率由 100%降至 55.55%; 不同时期的外植体褐变程度不同, 该研究发现幼嫩的组织酚类物质含量少, 在组织培养中较不容易出现褐变现象, 因此选择幼龄材料作为外植体较合适。

有研究发现, 在培养基中加入合适的植物生长剂、抗氧化剂及吸附剂或通过下调 PPO 的表达也能有效地防止褐变^[38,39,41,42]。

3.3 玻璃化现象

玻璃化指组织培养苗呈半透明状、外观形态异常的现象^[36]。试管植物玻璃化在草本与木本植物中均有发生, 据报道出现玻璃化苗的植物已达 70 多种^[43]。玻

璃化苗的分化能力较低, 难以增殖生根成苗, 移栽成活率低, 通常玻璃化苗可通过重新分化恢复正常, 但比例很低并且在继代培养中仍然会形成玻璃化苗^[36,44,45]。张金凤^[25]发现, 将培养基中糖含量由 3%增加到 4%时可有效克服青钱柳组织培养中玻璃化的现象; 另外, 适当降低培养基中铵离子浓度或者及时转移、增加自然光照和控制光照时间也能避免玻璃化现象^[36,44]。

3.4 生根问题

青钱柳属于难生根树种, 在对不定根发生与内源激素的变化关系探讨过程中, 谢寅峰等^[46]认为外源 I-BA 促进内源 IAA 积累进而诱导和促进发生不定根, 较高的 IAA/ABA、IAA/GA₃ 值有利于不定根的启动和发生, 但 GA₃ 可能不是影响不定根发生的关键因素。

张金凤^[25]试验发现, 将试管苗放入灭菌后的 80mg/L IBA 溶液中浸蘸 75min, 然后转入不含任何激素的 1/4 DKW 中进行培养, 不论是生根率、平均生根数和平均根长方面都能达到较好的生根效果, 此外, 在生根培养前加强壮苗培养对诱导生根有一定的帮助。

4 总结与展望

青钱柳集药用、材用和观赏价值于一身, 具有很好的人工资源培育和产品开发前景。然而青钱柳天然资源非常少, 建立其组培快繁的完整体系并实现工厂化快速育苗研究是解决资源匮乏的有效途径。目前国内外已有成功通过组培获得完整的青钱柳芽苗报道, 但青钱柳的组织培养过程中仍然存在许多亟待解决的问题。如何有效地防止褐变和提高生根率将是青钱柳组培快繁研究的主要重点, 而以青钱柳为原材料的新产品开发也将是今后探索的一个重要方向。

(收稿 2017-03-17)

参考文献:

- [1] Fang S Z, Fu X X. Progress and prospects on silviculture and utilization of Cyclocarya paliurus resources [J]. Journal of Nanjing Forestry University, 2007, 31(1): 95 - 100
- [2] 方升佐, 杨万霞. 青钱柳的开发利用与资源培育[J]. 林业科技开发, 2003, 17(1): 49 - 51
- [3] 谢明勇, 谢建华. 青钱柳研究进展[J]. 食品与生物技术学报, 2008, 27(1): 113 - 121
- [4] 吴安湘, 金晓玲, 熊芳, 等. 珍稀濒危植物组织培养研究进展[J]. 西北植物学报, 2006, 26(1): 211 - 216
- [5] 谢寅峰, 王莹, 尚旭岚, 等. 青钱柳组培快繁体系的初步研究[J]. 西北植物学报, 2009, 29(11): 2331 - 2338
- [6] 李海玲, 方升佐. 青钱柳繁殖技术研究进展 [J]. 林业科技开发, 2005, 19(3): 3 - 5
- [7] 陈志刚. 青钱柳特征特性及种子育苗技术[J]. 安徽农学通报, 2015, (17): 98 - 99
- [8] 国家林业局国有林场和林木种苗工作总站. 中国木本植物种子[M]. 北京: 中国林业出版社, 2001: 503
- [9] 王月生, 汪树人. 青钱柳育苗与造林技术[J]. 林业实用技术, 2006, (8): 45
- [10] 周莉荫, 戴小英, 黄丽莉, 等. 青钱柳研究进展[J]. 江西林业科技, 2007, (5): 34 - 38
- [11] 吴安湘, 金晓玲, 熊芳, 等. 珍稀濒危植物组织培养研究进展[J]. 西北植物学报, 2006, 26(1): 211 - 216
- [12] 吴群英, 徐庆, 李丽亚, 等. 青钱柳不同外植体组织培养及褐变防止的研究[J]. 时珍国医国药, 2008, 19(8): 1872 - 1874

DOI:10.14051/j.cnki.xddy.2017.15.003

沸石在镉污染土壤修复中的研究进展

熊仕娟¹, 黄兴成^{2,3}

(1 贵州省农科院辣椒研究所, 贵州贵阳 550006 2 贵州省农科院土壤肥料研究所 3 农业部贵州耕地保育与农业环境科学观测试验站, 贵州贵阳)

摘要 沸石是一种具有较强离子交换能力和吸附能力的含水硅铝酸盐矿物, 在土壤重金属污染修复方面具有良好的应用效果。文章综述了近年来国内外有关沸石对土壤镉污染修复的研究进展, 探讨了沸石对重金属镉的修复机理, 并对今后沸石在土壤镉污染修复中的应用研究提出了展望。

关键词 沸石, 镉, 土壤修复, 进展

镉是我国土壤和作物重金属污染中最普通常见的污染物, 污染面积高达 400 万 hm^2 , 约占重金属污染耕地的 40%^[1]。镉是一种积累性的剧毒元素, 土壤镉污染不仅对作物产生危害, 还可通过“镉米”、“镉菜”等食物链途径进入人体, 危害人体健康^[2,3]。土壤镉污染修复一直成为国内外研究的热点。

沸石作为一种多孔的铝硅酸盐矿物, 具有颗粒小、比表面积大、矿物表面负电荷丰富等特点, 对重金属离子具有较强的吸附能力和离子交换能力^[4], 被广泛应用于环境重金属污染修复。有研究指出^[5,6], 沸石对土壤 pH 的影响适中, 且不引入新的污染物, 比石灰、泥炭、堆肥、磷酸盐等更适合于土壤重金属修复。本文综述了沸石在镉污染土壤修复中的应用研究现状, 探讨沸石对重金属镉的修复机理, 以期对未来的沸石修复重金

属污染土壤的研究提供参考。

1 沸石对镉污染土壤的修复研究现状

沸石最初作为一种良好的土壤改良剂, 施入土壤中不仅改善土壤的理化性质, 还能促进植物对营养元素的吸收^[4], 被广泛应用于土壤改良领域。近年来, 沸石在土壤重金属修复方面的研究逐渐受到关注。已有国内外研究证实, 施用沸石对土壤重金属镉有良好的修复效果。Mahabadia 等^[7]研究表明, 天然沸石对土壤镉有稳定的吸附作用, 施用沸石显著减少了粘土、壤土、沙壤土、沙土 4 种不同质地土壤(70 mg/kg Cd 水平)的镉浸出量, 当沸石添加量为 15% 时对土壤镉的吸附效果最佳, 土壤渗滤液中 Cd 的浓度低于 0.1 mg/L。王秀丽等^[8]研究结果表明, 沸石施入土壤中还可降低土壤可交换态镉含量, 促进可交换态镉向活性更低的碳酸盐结

- [13] 鲁萌. 青钱柳茎段无菌体系建立和腋芽萌发的研究[C]. 第十届中国林业青年学术论坛论文集, 2012:1-7
- [14] 盛丽莉, 史文亚, 张志敏, 等. 青钱柳组织培养技术研究进展[J]. 西南林业大学学报, 2011, 31(2):84-89
- [15] 阮氏钊, 方升佐, 尚旭岚, 等. 青钱柳愈伤组织不定芽诱导技术[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2014, (2):52-56
- [16] 胡冬南, 上官新晨, 刘亮英, 等. 青钱柳茎段离体培养研究[J]. 湖北农业科学, 2009, 48(6):1300-1303
- [17] Song J T, Choi J N, Song S I, et al. Identification of a potyvirus in Korean garlic plants [J]. Agricultural Chemistry and Biotechnology, 1995, 38(1):55-62
- [18] 谢寅峰, 张志敏, 尚旭岚, 等. 青钱柳茎段腋芽萌发和丛生芽增殖[J]. 林业科学, 2011, 47(1):50-55
- [19] 鲁萌, 阮氏钊, 王纪, 等. 青钱柳茎段腋芽的离体培养技术[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2013, 37(6):6-10
- [20] 郑琪, 陈永根, 孙叶芳, 等. 青钱柳繁殖技术研究进展及发展趋势[J]. 福建林业科技, 2015, (1):242-245
- [21] Chirco E M, Johnson G. The Excised Embryo Test [C]. Nanjing: Proceedings of IUFRO tree seed symposium. 2004:49
- [22] 尚旭岚, 徐锡增, 方升佐, 等. 青钱柳离体胚的培养及快速繁殖[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2007, 31(1):101-105
- [23] 徐庆, 吴群英, 李伯林, 等. 青钱柳种子无菌萌发研究[J]. 时珍国医国药, 2010, 21(8):2045-2046
- [24] 张志敏, 尚旭岚, 王纪, 等. 消毒方法和培养基对青钱柳茎段腋芽萌发的影响[J]. 林业科技开发, 2010, 24(3):87-90
- [25] 张金凤. 青钱柳幼胚组织培养技术的研究[D]. 南京林业大学, 2012:17
- [26] 蒋小满, 柏新富, 赵建萍, 等. 植物组织培养因子与培养基中 pH 值的关系[J]. 植物生理学通讯, 2005, 41(6):802-804
- [27] 杜永光, 郝丽珍, 王萍, 等. 植物组织培养中琼脂浓度和 pH 对培养基凝固程度的影响[J]. 植物生理学通讯, 2005, 41(5):623
- [28] 胡冬南, 蒋艳, 吴少福, 等. 青钱柳组织培养的初步研究[J]. 江西农业大学学报, 2005, 27(1):39-41
- [29] 宋晓娣, 陈建华, 红嘴鸡竹丛生芽诱导的初步研究[J]. 湖南林业科

- 技, 2009, 36(1):18-20
- [30] 张志敏, 尚旭岚, 杨万霞, 等. 青钱柳茎段腋芽诱导及丛生芽增殖的研究[C]. 第二届长江三角洲地区植物学研讨会论文集, 2009:46-53
- [31] 孟艳琼, 李仁杰, 伊兴凯, 等. 红星茵芋离体花梗腋芽诱导及丛生芽增殖研究[J]. 中国农学通报, 2007, 23(11):81-85
- [32] Lu C Y. The use of TDZ in tissue culture [J]. In vitro Cell Dev Biol, 1993, 29(2):92-96
- [33] 沈海龙. 植物组织培养[M]. 北京: 中国林业出版社, 2005:42
- [34] 杨振德, 朱麟, 谢立群, 等. 百日组织培养中不定根的诱导[J]. 江西农业大学学报(自然科学版), 2003, 25(4):566-570
- [35] 谢寅峰, 王莹, 张志敏. 镉稀土对青钱柳试管苗生长及生理的调节作用[J]. 东北林业大学学报, 2010, 38(8):8-10
- [36] 巩振辉, 申书兴. 植物组织培养[M]. 北京: 化学工业出版社, 2013:127
- [37] 陈惠娟. 植物组织培养中褐变的产生机理及克服措施[J]. 植物保护, 2005, 31(2):79-82
- [38] 王曼玲, 胡中立, 周明全, 等. 植物多酚氧化酶的研究进展[J]. 植物学通报, 2005, 22(2):215-222
- [39] 姚洪军, 罗晓芳, 田砚亭, 等. 植物组织培养外植体褐变的研究进展[J]. 北京林业大学学报, 1999, 21(3):78-84
- [40] 马莉贞. 植物组织培养中褐变现象的研究 [J]. 安徽农业科学, 2006, 34(15):3583-3584
- [41] 张卫芳, 高疆生, 欧勇慧, 等. 核桃组培中抑制褐化现象初探[J]. 中国农学通报, 2003, 19(5):43-46
- [42] 范志强, 杜希华, 蹇兆忠, 等. 辣椒组织培养中褐变问题的研究[J]. 山东农业科学, 2000, (6):35-36
- [43] 陶铭. 组织培养中畸形胚状体及超度含水态苗的研究[J]. 西北植物学报, 2001, 21(5):1048-1058
- [44] 李胜, 李唯, 杨德龙, 等. 植物试管苗玻璃化现象研究进展[J]. 甘肃农业大学学报, 2003, 38(1):1-16
- [45] 陈兵先, 黄宝灵, 吕成群, 等. 植物组织培养试管苗玻璃化现象研究进展[J]. 林业科技开发, 2011, 25(1):1-5
- [46] 谢寅峰, 王莹, 张志敏, 等. 青钱柳子叶不定根的发生机制[J]. 林业科学, 2009, 45(12):72-76