

刺槐同源四倍体种子促萌措施研究

姜金仲 李云 贺佳玉 李谷悦 王巍

(北京林业大学林木花卉遗传育种教育部重点实验室)

摘要:为了最大限度地保存刺槐同源四倍体有性繁殖过程中产生的变异材料资源,对其高度变异和难以萌发的种子进行了促萌试验。结果表明:①种子经温汤浸种可以明显地提高萌发率,90℃温水浸泡24 h,种子平均萌发率为5%、最高5.5%;②用PEG-6000处理刺槐同源四倍体种子时,平均萌发率1.11%、最高3.33%,表现为抑制作用;③5-氮杂胞苷浸种时,药液浓度对萌发率有显著的影响,用250 $\mu\text{mol/L}$ 的5-氮杂胞苷水溶液处理种子24~48 h为较好处理方案,平均萌发率为5.6%;④种子培养促萌时,用10% H_2O_2 浸泡24 h后转入赤霉素水溶液(3 mg/L)浸泡6 h,之后再转入萘乙酸水溶液(15 mg/L)浸泡6 h,接种到MS或1/2MS培养基上促萌效果较好,平均萌发率为5.5%、最高6.0%;⑤将表型正常的种子胚接种到没有附加物的MS培养基上,有部分种子胚萌动后子叶变绿且张开。

关键词:刺槐;同源四倍体;种子促萌;5-氮杂胞苷;PEG-6000;组织培养

中图分类号: S722.3; S792.27 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-1522(2008)05-0078-05

JIANG Jin-zhong; LI Yun; HE Jia-yu; LI Gu-yue; WANG Wei. **The promotion measures of seed germination from autopolyploid of *Robinia pseudoacacia***. *Journal of Beijing Forestry University* (2008) 30 (5) 78-82 [Ch, 14 ref.] Key Laboratory for Genetics and Breeding in Forest Trees and Ornamental Plants of Ministry of Education, Beijing Forestry University, 100083, P.R China.

In order to preserve the variation materials from autopolyploid of *Robinia pseudoacacia* to a maximum extent, promotion measures of the seed germination are explored. The results are as follows. 1) Dipping seeds in 90℃ water for 24 hours raised significantly the germination rate of seeds. Average germination rate was 5% and the highest germination rate was 5.5%. 2) Using PEG treatment, the germination rate dropped down, average germination rate was 1.11% and the highest germination rate was 3.33%. 3) 5-aza cytidine promoted seeds germination. 250 $\mu\text{mol/L}$ of 5-aza cytidine and 24-48 hours of treatment time were a good project and the average germination rate was 5.6%. 4) The better process of promoting seed germination by tissue culture was that seeds were dipped in 10% H_2O_2 for 24 hours, in 5 mg/L GA_3 for 6 hours, in 7 mg/L NAA for 6 hours and finally the seeds were inoculated on MS and 1/2MS media. The average germination rate was 5.5% and the highest germination rate was 6.0%. 5) Seed embryos were started and developed with cotyledons opening and changing into green after they were inoculated on MS medium.

Key words *Robinia pseudoacacia*; autopolyploid; promotion of seed germination; 5-aza cytidine; PEG-6000; tissue culture

刺槐同源四倍体(4x)是由人工诱导二倍体(2x)刺槐(*Robinia pseudoacacia*)体细胞加倍而育成的植物同源四倍体^[1],是适用于木本植物饲料栽培的刺槐优良无性系。由同源四倍体遗传理论可知,由于刺槐同源四倍体有4套同源染色体组,减数分裂中期同源染色体不能稳定有序地分离,因而其实生后

代常会表现出丰富且幅度较大的变异^[2-3],这种变异在能够给刺槐遗传改良提供有价值原始变异材料的同时,也使大部分同源四倍体的种子胚失去了萌发能力。

我们已有的研究结果(另文发表)表明,刺槐同源四倍体种子有胚率在35%以上,但是,种子常规

收稿日期:2007-07-04

<http://www.bjfujournal.cn>, <http://journal.bjfu.edu.cn>

基金项目:国家自然科学基金项目(30640036)、“十一五”国家科技支撑计划项目(2006BAD01A6010)。

第一作者:姜金仲,博士生,高级讲师。主要研究方向:林木遗传育种与生物技术。电话:010-62336094 Email: jjz9911@163.com 地址:100083 北京林业大学生物科学与技术学院。

责任作者:李云,教授,博士生导师。主要研究方向:林木遗传育种与生物技术。电话:010-62336094 Email:yunli63@163.com 地址:同上。

处理措施(温汤浸种等)育苗萌发率却在 5% 左右。这说明虽然刺槐同源四倍体种子胚常规措施情况下萌发率极低,但却存在着一定的萌发潜力,只是这些种子的萌发条件可能更加特殊些。显然,这些在常规措施条件下不能萌发的种子胚具有更大的遗传变异性,因而也具有更大的刺槐遗传改良利用价值。所以,研究能够促使一些种子胚发生畸变的促萌措施(特别是不同于常规处理方法的措施),从而最大限度地保存和利用该同源四倍体有性繁殖所创造的变异材料,这具有重要的遗传育种学意义。

种子产量和种子萌发率特别低是植物同源四倍体普遍存在的现象。由于许多作物栽培生产的产品与种子有直接关系,同源四倍体没有实用优势,所以,尽管文献中已有大量关于植物同源四倍体实用栽培特性^[4]、遗传学特性^[5-7]及其进化意义^[8-10]方面的报道,但是关于禾本科植物同源四倍体种子的研究较少,特别是关于植物同源四倍体种子促萌方面的研究更少。从研究和利用同源四倍体有性繁殖创造变异材料的角度看,进行同源四倍体种子促萌措施的研究不仅对树木的无性系育种有重要意义,对于禾本科植物同源四倍体的研究与利用也有重要价值。

为此,在分析了造成刺槐同源四倍体种子难以萌发的可能原因后,本研究选择了温汤浸种、PEG-6000 浸种、5-氮杂胞苷(5-azaC)浸种、种子及种子胚培养 5 种处理方案分别进行了种子促萌试验,以期找到能较大程度促进刺槐同源四倍体种子萌发的措施。

1 材料与方法

1.1 材料

试验材料采自北京林业大学饲料型四倍体刺槐试验林基地 6 年生纯林,于 2005 年冬季种子充分成熟后将豆荚采回,手工将种子从豆荚中分离,干燥贮藏备用,于 2006 年春季实施了种子促萌试验。

1.2 方法

1.2.1 温汤浸种

随机抽取 20 粒种子为一处理样本,分别用 80、90 及 100℃ 温水浸泡 24、48 及 72 h,然后放入湿沙中催芽 4 d 后,检查萌发率,每处理重复 3 次。

1.2.2 PEG-6000 浸种

随机抽取 50 粒种子为一个处理样本;处理温度 3 种:70、80 及 90℃,浓度 3 种:15%、20%、25%,将种子样本按表 1 的设计分别放入不同温度的温水中浸泡 24 h 取出;将经温水浸泡的种子进行药液浸泡,药液浸泡时间 3 种:3、6、9 d;整个试验重复 3 次,共计做 91 次试验。所有处理完毕后,取出种子,用

清水洗净,然后将每个种子样本分别种在预先洗净的河沙中催芽,4 d 后检查种子萌发情况。

表 1 PEG-6000 处理试验设计
TABLE 1 The experimental design of PEG-6000 treatment

PEG-6000/%	处理组合		
	70℃	80℃	90℃
15	(1)	(2)	(3)
20	(4)	(5)	(6)
25	(7)	(8)	(9)

1.2.3 5-azaC 浸种

从刺槐同源四倍体种子中随机抽取 250 粒种子作为一个处理样本,共计 60 份样本。5-azaC 处理浓度分别为:0(对照)、50、100、250、500 μmol/L,处理时间分别为:24、48、72 h。将每份种子样本先用 90℃ 温水浸泡 4 h,倒净温水,倒入不同浓度的 5-azaC 药液,按试验设计的时间段取出种子样本,清水反复冲洗 1 min,播入清洁河沙中催芽;每个处理时间段重复 3 次。沙藏 24、48、72 h 后统计种子的萌发率,将每一时间段 3 次重复的萌发率平均后进行统计分析。

1.2.4 种子及种子胚的培养

称取刺槐同源四倍体种子 10 g 左右,清水冲洗后,按照以下程序处理种子:90℃ 热水处理种子 24 h → 10% H₂O₂ 24 h → GA₃ 6 h → NAA 6 h → 75% 酒精 10 s → 0.1% 升汞 10 min → 水洗 3 ~ 5 次接种于两种培养基(MS、1/2MS)上。3 种处理药品(H₂O₂、GA₃、NAA)分别设置 3 个浓度,其数值和编号见表 2。每一处理方案由不同浓度的 3 种药品组合而构成,其编号和构成情况见表 3。每种处理方案、每种培养基(MS、1/2MS)分别接种 5 皿,每皿接种 50 粒种子,共计 250 粒种子。处理方案 0 为对照:不加任何药品的热水浸泡相同的时间。接种 30 d 后统计种子累计萌发情况,重复 3 次。

表 2 处理药品的浓度
TABLE 2 The different concentration of chemicals used for treatments

浓度编号	10% H ₂ O ₂ /%	NAA/(mg·L ⁻¹)	GA ₃ /(mg·L ⁻¹)
1	3	5	3
2	5	10	5
3	10	15	7

表 3 不同处理方案的药品浓度组合
TABLE 3 The concentration combination of chemicals for different treatment schemes

药 品	方 案 编 号									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
10% H ₂ O ₂	0	1	1	1	2	2	2	3	3	3
GA ₃	0	1	2	3	1	2	3	1	2	3
NAA	0	1	2	3	2	3	1	3	1	2

种子胚挽救培养时,种子的前期处理方案及种

子胚培养用的培养基与表3中7号方案相同。

1.2.5 数据处理

所有数据的统计分析均由SPSS13.0软件完成。

2 结果与分析

2.1 温汤浸种对萌发率的影响

温汤浸种不同处理组合3次重复的平均萌发率见表4,将表4数据经平方根变换后进行方差分析。结果表明:不同处理时间的种子萌发率没有显著性差异,说明处理时间对种子的萌发没有促进作用;不同处理温度之间种子萌发率差异显著,进一步的多重比较表明,以90℃温水处理效果较好,平均萌发率为5.00%;综合考虑两种处理因素的影响,以90℃温水处理24 h萌发率最高(5.5%)。

2.2 PEG-6000 浸种对萌发率的影响

将PEG-6000各处理组合3次重复的平均萌发

表4 温汤浸种处理组合的种子萌发率及多重比较 %

TABLE 4 The seed germination rates from different treatment combinations and multiple comparison

温度/℃	时间/h			平均数及多重比较
	24	48	72	
80	0	0	2.0	0.67 a
100	0.2	0	0	0.67 a
90	5.5	5.0	4.5	5.00 b
平均数及多重比较	1.9 a	1.67 a	2.17 a	

注:多重比较结果中字母相同为差异不显著,不同为差异显著($P < 0.05$),表5~7同此。

率数据经平方根变换后进行方差分析。结果表明:PEG-6000不同处理时间、不同处理浓度之间的种子萌发率差异均不显著,两种处理对促进种子萌发没有作用;但不同处理温度之间的种子萌发率差异达显著性水平,以90℃处理的萌发率最高:平均1.11%、最高3.33%(见表5),说明处理液体的温度能够影响种子的萌发率。

表5 PEG-6000 处理组合平均萌发率及多重比较

TABLE 5 Average germination rate and the multiple comparison among different treatment combinations of PEG-6000

处理天数/d	3			6			9			平均数及多重比较
PEG-6000 浓度/%	15	20	25	15	20	25	15	20	25	
70	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0 a
温度/℃	80	0	0	0	1.67	0	0	0	0	0.19
	90	1.67	3.33	0	0	1.67	1.67	1.67	0	1.11 b

2.3 5-azaC 浸种对萌发率的影响

用5-azaC各处理组合的种子萌发率见表6,将表6的数据(经平方根转换后)进行方差分析。结果表明:不同处理时间的种子萌发情况相似,说明处理时间对种子萌发没有促进作用;不同处理浓度之间种子萌发效果差异达显著水平,进一步的多重比较

表明,以250 $\mu\text{mol/L}$ 为最高、平均萌发率为5.6%,100 $\mu\text{mol/L}$ 次之、平均萌发率为4.8%,但二者差异没有达到显著水平。综合考虑处理时间、费用、处理浓度3种因素的作用效果,以用250 $\mu\text{mol/L}$ 处理种子24~48 h为较好的处理方式(平均萌发率为5.9%)。

表6 5-azaC 不同处理组合的发芽率及多重比较

TABLE 6 The germination rate among different treatment combinations of 5-azaC and multiple comparison

5-azaC 浓度/ ($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	时间/h												平均数及 多重比较		
	24				48				72					96	
500	4.4	4.8	4.0	2.4	2.8	4.0	5.6	2.0	2.4	4.8	2.8	3.2	3.6 a		
0	3.6	3.6	4.8	4.0	3.6	4.4	3.6	4.0	5.6	5.2	4.0	4.4	4.2 a		
50	3.6	6.0	4.8	4.8	5.2	4.0	5.2	4.8	4.0	2.8	4.0	3.6	4.4 ab		
100	3.2	5.6	3.6	4.0	6.4	4.8	3.2	3.6	5.6	5.6	9.2	2.4	4.8 bc		
250	5.2	4.8	6.0	4.8	6.8	6.0	5.6	3.2	6.8	5.6	4.8	7.2	5.6 c		

2.4 种子及种子胚培养的萌发状况

2.4.1 种子培养

将刺槐同源四倍体种子按试验设计接种到培养基上30 d后,统计各处理方案的种子萌发率,3次重复的数据平均值如表7所示。种子在培养基上萌发(图1中大苗)的一般过程为:初期,种皮破裂,胚根伸长、变粗且发白,分化出明显的根冠结构;中期,子叶从种皮中伸出、种皮脱落,子叶变绿完全张开,根部明显伸长且向培养基内部延伸,约为0.5~1.5 cm,整个株高约为2.5 cm;后期,有幼嫩的真叶长出,茎和根生长速度极快,茎上渐渐长出由3片小叶

构成的复叶,根部出现多个较粗壮的次生根,呈浅红色或乳白色,有丰富的根毛,主根平均长度达4~6 cm,完整的苗高平均6.0 cm。

将表7中数据(平方根转换后)进行方差分析,结果表明,不同培养基间的种子萌发率没有显著差异,但不同处理方案之间的萌发率差异达显著水平。进一步的多重比较结果显示,除7号和9号处理方案之间差异不显著外,7号处理方案与其他处理方案间的差异均达到了显著水平,以7号处理方案的效果最好,平均萌发率为5.5%,最高萌发率为6%。值得注意的是,在7号处理的MS培养基上有一粒

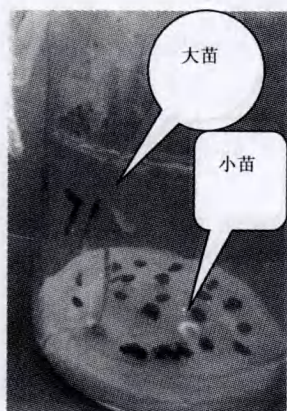
特别畸形的种子胚(图 1 中小苗)也萌发了,据我们的试验经验,这样畸形的种子胚在常规种子萌发试验中是不可能萌发的。可见,种子培养促萌措施能够较大幅度地保存四倍体种子变异材料。

表 7 不同培养方案种子平均萌发率及多重比较 %

TABLE 7 Average germination rates of different treatment schemes and multiple comparison

培养基	方案 编号									
	0	1	3	4	5	6	8	2	9	7
MS	0	0	0	0	0	0	0	0	3	6
1/2MS	0	0	0	0	0	0	0	2	3	5
平均数及多重比较	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	0 a	1 a	3 bc	5.5 c

注:方案编号内容见表 3。



大苗:正常胚萌发;小苗:畸形胚萌发

图 1 种子在培养基上萌发

FIGURE 1 Germination of seeds on medium

2.4.2 种子胚培养

成熟种子胚培养促萌时,种子处理与上述试验中 7 号处理方案完全相同。以随机抽取的 300 粒种子为材料,经 7 号药液处理方案处理后,在无菌条件下、以最大限度不伤害种子胚的方式将种子胚从种子中取出,共分离到种子胚 78 个,将分离到的种子胚分别接种到不添加任何植物生长调节剂的 MS 培养基上;7 d 后有小部分种子胚启动萌发,两片子叶变为绿色且张开(图 2),但以后便一直处于停滞状态,无进一步生长。有关的培养基过程优化问题还有待于进一步研究。



图 2 种子胚子叶张开及变绿

FIGURE 2 The seed embryo's cotyledon opening and growing into green

3 结论与讨论

1)刺槐同源四倍体种子经温汤浸种可以提高萌发率,其浸种的适合方式是用 90℃ 温水浸泡 24 h,此条件下,刺槐同源四倍体种子平均萌发率为 5%,最高萌发率为 5.5%。

这与前人关于温汤浸种可以软化种皮、解除休眠、进而有效提高种子萌发率的论述是一致的。

2)用 PEG-6000 处理刺槐同源四倍体种子时,不同处理时间和浓度对种子萌发无明显促进作用,不同处理温度之间的种子萌发率差异达显著性水平,以 90℃ 处理的萌发率最高,平均 1.11%,最高 3.33%。

PEG-6000 的最佳处理温度为 90℃,又一次证明了 90℃ 温水浸泡刺槐同源四倍体种子具有明显的促萌作用,但最佳水温浸泡处理的最高平均萌发率也只有 1.11%,明显低于只用 90℃ 温水浸泡处理的结果(5%)。这说明 PEG-6000 对刺槐同源四倍体种子的萌发不但没有促进作用,而且还有一定的抑制作用。

大量研究表明,用 PEG-6000 渗透调节剂处理种子可以提高种子活力和减少老化损伤;PEG-6000 对普通刺槐的催芽作用十分明显,用 PEG-6000 处理种子 3 d 可以把萌发率从 51.7% 提高到 77.6%^[11];草坪草^[12]及梭梭^[13](*Haloxylon persicum*)的种子 PEG-6000 促萌试验结果也表明,PEG-6000 对种子萌发具有明显的促进作用。由此可以看出:和二倍体刺槐相比,刺槐同源四倍体种子的 PEG-6000 促萌具有明显的特异性,这种特异性可能是刺槐染色体同源加倍的结果,因而具有进一步深入研究的必要。

3)5-azaC 浸种时间对刺槐同源四倍体种子萌发没有明显的影响,但浸种浓度可以一定程度地提高其种子萌发率。其中以 250 μmol/L 为最高,平均为 5.6%;100 μmol/L 次之,平均为 4.8%。虽然二者的平均萌发率有所差异,但不具统计显著性。综合考虑处理时间、费用、处理浓度 3 种因素的作用效果,以用 250 μmol/L 的 5-azaC 水溶液处理种子 24 ~ 48 h 为较好的处理方式。

和简单的温汤浸种效果相比,尽管 5-azaC 的促萌效果只有较小幅度的改进,但具有重要的实际意义。因为遗传物质变异幅度越大的种子常规状态下越难萌发,5-azaC 处理后增加的萌发率正是由那些遗传物质发生了较大幅度变异的种子萌发而得到的。遗传物质变异是林木遗传育种的基础,所以这种较小

的萌发率增加却具有更大的遗传育种潜在价值。

5-azaC 在 DNA 的复制过程中,可以取代胞苷渗入到新合成的 DNA 链中,由于嘧啶环上甲基结合位置被氮占据,导致新合成的 DNA 链去甲基化^[14],所以,5-azaC 是一种有效的 DNA 去甲基化剂,DNA 甲基化是植物染色体同源加倍后多倍体调节冗余基因表达与否的主要方式之一。5-azaC 处理必然会改变刺槐同源多倍体 DNA 的甲基化水平,进而对刺槐同源四倍体种子的萌发产生一定的影响,尽管这种影响的方向可能是不可预测的。本试验中 5-azaC 能提高刺槐同源四倍体种子萌发率的现象说明,刺槐同源四倍体种子胚可能存在 DNA 甲基化水平异常的情况,而且这种异常情况可能是导致刺槐同源四倍体部分种子常规情况下不能萌发的原因之一,这从一个方面证实了前人关于植物多倍体中 DNA 甲基化程度异常的论述。

4) 利用种子和种子胚培养措施促进刺槐同源四倍体种子萌发时,用 10% H₂O₂ 水浸泡 24 h 后转入 GA₃ 水溶液(3 mg/L)浸泡 6 h,之后再转入 NAA 水溶液(15 mg/L)浸泡 6 h,药液处理完毕清水充分冲洗后接种到 MS 或 1/2MS 培养基上进行培养,促萌效果较好,平均萌发率为 5.5%,最高萌发率为 6.0%。将种子胚接种到 MS 培养基上,7 d 后有小部分种子胚启动萌发,子叶变为绿色且张开。

虽然利用种子培养促进刺槐同源四倍体种子萌发的技术还不够成熟,萌发率较低,但是从种子培养能使严重畸形种子胚萌发、使四倍体种子变异材料得到较大程度保存的角度看,利用组织培养促进刺槐同源四倍体种子萌发可能具有较大的潜力,值得在现有基础上进一步优化促萌培养综合条件,从而提高其促萌的效果。可以预见,优化后的种子培养促萌效果将是本文所介绍几种促萌措施中最好的。

参 考 文 献

- [1] KIM C S. Studies on the colchitetraploids of *Robinia pseudoacacia* L.[J]. *Research Report of the Institute of Forest Genetics, Korea*, 1975,12:108.
- [2] 姜金仲,李云,程金新. 植物同源四倍体刺槐生殖特性及 DNA 遗传结构的变异[J]. *遗传*, 2006,28(9):1 185-1 190.
JIANG J Z, LI Y, CHENG J X. Variation of both DNA genetic structure and reproduction traits of plant autotetraploid [J]. *Hereditas*, 2006,28(9):1 185-1 190.
- [3] 程治军,秦瑞珍,张欣,等. 多倍体化引起植物表型突变的分子机理研究[J]. *作物学报*, 2005,31(7): 940-943.
CHENG Z J, QIN R Z, ZHANG X, et al. Molecular mechanism for phenotypic mutation arisen from polyploidization in plant[J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2005,31(7):940-943.
- [4] 何立珍,周朴华,刘选明,等. 南获同源四倍体的研究[J]. *遗传学报*, 1997,24(6):544-549.
- HE L Z, ZHOU P H, LIU X M, et al. Studies on the autotetraploid of *Triarrhena lutarioriparia* L. [J]. *Acta Genetica Sinica*, 1997,24(6):544-549.
- [5] 代西梅,黄群策,李国平. 同源四倍体水稻花粉的发育特征[J]. *中国水稻科学*, 2006,20(2): 165-170.
DAI X M, HUANG Q C, LI G P, et al. Developmental characters of autotetraploid rice pollen[J]. *Chinese Journal of Rice Science*, 2006,20(2): 165-170.
- [6] 郝晨,李云,姜金仲,等. 四倍体刺槐大小孢子发育时期与花器形态的相关性[J]. *核农学报*, 2006,20(4):292-295.
HAO C, LI Y, JIANG J Z, et al. The correlation between micro and mega sporogenesis's development and morphology of flower organ of tetraploid black locust [J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2006,20(4):292-295.
- [7] 李爱华,何立珍. 同源四倍体黄花菜减数分裂行为及其育性的探讨[J]. *湖南农业大学学报*, 1998,24(1):14-17.
LI A H, HE L Z. Study on meiotic behaviors and fertility of the autotetraploid of day lily [J]. *Journal of Hunan Agricultural University*, 1998,24(1):14-17.
- [8] DVORAK J, AKHUNOV E D. Tempos of gene locus deletions and duplications and their relationship to recombination rate during diploid and polyploid evolution in the Aegilops-Triticum alliance[J]. *Genetics*, 2005,171(1):323-333.
- [9] MANE K, PAVLIN K, PAVLA S, et al. Chromosome sorting in tetraploid wheat and its potential for genome analysis [J]. *Genetics*, 2005, 170 (2): 823-830.
- [10] SHIN T, HIROTAKA A, KAZUYOSHI T, et al. Ancestry of American polyploid hordeum species with the I genome inferred from 5S and 18S-25S rDNA [J]. *Annals of Botany*, 2005, 96 (1): 1-23.
- [11] 曹帮华,冯宪修,李玉敏. PEG 渗透处理对刺槐种子的影响[J]. *山东林业科技*, 1995(5):36-38.
CAO B H, FENG X X, LI Y M. The effects of PEG-soaking treatment on seeds of *Robinia pseudoacacia* [J]. *Journal of Shandong Forestry Science and Technology*, 1995(5):36-38.
- [12] 马卉,徐秀红,江绪文,等. PEG 引发对草坪草种子萌发及活力的影响[J]. *种子*, 2006,25(11): 21-25.
MA H, XU X H, JIANG X W, et al. Effect of PEG priming on seed germination and vigor of turfgrass[J]. *Seed*, 2006,25(11): 21-25.
- [13] 张霞,邓必建,姚新花,等. 不同温度条件下 PEG 引发梭梭种子对其幼苗生理生化的影响[J]. *种子*, 2006, 25(12):5-7.
ZHANG X, DENG B J, YAO X H, et al. Physio-biochemistry effects of PEG on seeds germinating of *H. persicum* under stress conditions[J]. *Seed*, 2006, 25(12):5-7.
- [14] 李梅兰,曾广文,朱祝军. 5-氮杂胞苷促进白菜开花的效应分析[J]. *浙江大学学报(农业与生命科学版)*, 2003,29(3): 287-290.
LI M L, ZENG G W, ZHU Z J. Analysis of effects of 5-aza cytidine on promoting flowering in non-heading Chinese cabbage[J]. *Journal of Zhejiang University (Agriculture and Life Sciences)*, 2003, 29(3):287-290.

(责任编辑 董晓燕)