

近 5 年沙棘组织培养研究进展

宋西德, 周松坤, 张宗勤, 张永, 周锋利

(西北农林科技大学 林学院, 陕西 杨陵 712100)

摘要:从沙棘的器官培养、愈伤组织培养、褐化预防、试管苗移栽等方面评述了沙棘近 5 年的研究进展,并就有关培养中存在的问题及今后的研究前景进行了探讨。

关键词:沙棘;组织培养;研究现状;前景

中图分类号:S793.604

文献标识码:A

文章编号:1001-7461(2006)06-0118-05

The Recent Five Years' Research Progress of the Tissue Culture
of *Hippophae rhamnoides*

SONG Xi-de, ZHOU Song-kun, ZHANG Zong-qin, ZHANG Yong, ZHOU Feng-li

(College of Forestry, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: Advances in the research of *Hippophae rhamnoides* in recent five years were reviewed from the aspects of organs culture, calluses culture, brown prevention and tube seedlings transplant. Problems and research prospects in tissue culture were also discussed.

Key words: *Hippophae rhamnoides*; tissue culture; research progress; prospect

沙棘(*Hippophae rhamnoides*)又名醋柳、酸刺等,落叶灌木或小乔木,雌雄异株,具有较强的生态适应性。近几年随着沙棘资源开发力度加大及生态环境建设对苗木需求量的增长^[1~3],如何快速育苗成为亟待解决的问题。沙棘实生苗保持母本优良性状稳定性差,且难辨雌雄^[4,5];扦插繁殖作为营养繁殖的可行途径具有较高的成活率和育苗效率,但受到材料数量限制,扦插多代后年龄效应明显,易受病毒感染^[5~9]。实践证明,组织培养是实现苗木规模化生产的高效途径之一,也是开展基因遗传转化育种、保存种质资源、植物抗寒耐盐等机理研究的重要前提。沙棘组织培养方面,国内外在 20 世纪 80 年代有过一些报道^[10~18],近些年研究相对较多。本文论述了国内外最近 5 a 沙棘组织培养的研究进展及未来发展趋势,为今后的深入研究提供参考。

1 器官培养

1.1 种子培养

据报道^[14],用中国沙棘种子培养得到的实生苗茎尖、子叶、下胚轴、胚根作材料,接种在 1/4 MS +

6-BA 0.3 mg · L⁻¹ + NAA 0.002 mg · L⁻¹ + CH 500 mg · L⁻¹ 培养基上,40 d 后观察到上述材料由器官发生途径分化的再生芽及胚胎发生途径分化的胚状体,两者都有较高的诱导分化率,但平均分化不定芽数和后期成苗率均较小,其中胚状体的诱导(由子叶诱导出)在其他沙棘组培文献中很少报道。根据笔者研究,培养 19 d 的幼苗子叶分化率较 11 d 的幼苗高,而两者茎尖的分化率和死亡率接近,试验结果较差。再生芽转入 1/4 MS + 6-BA 0.1 mg · L⁻¹ + NAA 0.004 mg · L⁻¹ 上培养,能同时增殖 3 ~ 4 个丛生芽,生根时采用无根苗浸蘸生根剂处理可明显提高生根率,缩短生根时间,较生根诱导培养基 1/4 MS + IBA 0.2 mg · L⁻¹ + NAA 0.05 mg · L⁻¹ 为好。IAA 和 6-BA 单独或配合使用均不适宜生根诱导^[19]。此前 Burdasov 等^[10]、D. Montpetit 等用美国、荷兰和加拿大等国的沙棘实生苗的芽尖做外植体试验,研究较为深入,建立了比较系统的快繁体系,并详细描述了培养中存在的玻璃化现象及消除措施。

收稿日期:2006-02-21 修回日期:2006-06-03

基金项目:国家林业局“黄土高原抗逆性良种推广”项目(2001-天保-02号)

作者简介:宋西德(1964-),男,陕西乾县人,研究员,研究方向为林木种苗繁育理论与技术。

1.2 茎尖培养

茎尖是沙棘组织培养中选用较多的一种外植体,其优点是材料幼嫩,易消毒,污染少,对基本培养基和激素适应范围宽,接种后生长迅速,建立无菌系容易。茎尖采取时间、大小和种类不同,培养效果有一定差异。通常室内水培11月至次年4月份的休眠枝获得的茎尖质量较好,发育健壮且可保证高的净瓶率,5~8月份培养的水培茎尖和大田顶芽接种后生长慢,存在不同程度的褐化和玻璃化,9、10月份茎尖细菌污染严重。孙伟^[20]、孙兰英^[21]等用卡图尼礼品等品种的顶端分生组织作材料,发现最适外植体是5月末6月初当年生嫩枝顶端带两片叶原基的分生组织,可能两者所用材料幼嫩,较容易培养。薛岩^[22]用辽阜一号、辽阜二号等品种茎尖接种,认为适宜接种时间在3~4月份,刘杰^[23]认为应用培养外植体水培茎尖比室外茎尖好,后者褐化和污染均较严重。茎尖大小以0.3~2.0 cm较为适宜,过大易污染,过小接种后生长缓慢,死亡率高。通过茎尖培养一方面建立无菌系,保证后续试验进行,另一方面实现增殖,其增殖方式包括诱导基部愈伤组织分化不定芽增殖和诱导腋芽增殖。辽阜一号在继代增殖培养基 $1/3 MS + 6-BA 0.5 mg \cdot L^{-1} + IBA 0.2 mg \cdot L^{-1}$ 和 $1/3 MS + 6-BA 0.2 mg \cdot L^{-1} + NAA 0.02 mg \cdot L^{-1}$ 上增殖系数达到3.35和2.09。辽阜二号在 $1/3 MS + 6-BA 0.5 mg \cdot L^{-1} + IBA 0.2 mg \cdot L^{-1}$ 上增殖系数为2.14,但再生苗节间短促,植株矮小^[22]。乌兰沙林沙棘和中国沙棘水培茎尖分别在不定芽分化培养基 $1/4 MS + 6-BA 0.8 mg \cdot L^{-1} + Sugar 20 \sim 30 g \cdot L^{-1}$ 和 $1/4 MS + 6-BA 0.8 mg \cdot L^{-1} + NAA 0.05 mg \cdot L^{-1} + Sugar 20 \sim 30 g \cdot L^{-1}$ 上,平均分化不定芽数2.97个和3.01个^[23]。茎尖培养中,不同品种在相同培养基及培养条件下离体培养和再生能力差异很大,这可能与各品种的生理特性及内源激素含量不同有关^[20,21,24]。辽阜一号生根培养基 $1/3 MS + IBA 0.5 mg \cdot L^{-1} + NAA 0.2 mg \cdot L^{-1}$,辽阜二号为 $1/3 MS + IBA 0.2 mg \cdot L^{-1}$,乌兰沙林为 $1/4 MS + IBA 1.0 mg \cdot L^{-1} + sugar 20 g \cdot L^{-1}$,中国沙棘为 $1/4 MS + IBA 0.5 mg \cdot L^{-1} + sugar 20 g \cdot L^{-1}$,这些不同的生根培养基,说明各品种间存在差异^[22,23]。

目前,国内沙棘茎尖培养试验的研究大多停留在单株成苗上,增殖系数低。国外早在1995年,YAO^[15]以中国、芬兰、丹麦沙棘的成年和幼年植株的茎尖及顶端分生组织为材料离体培养的研究中增

殖系数均在6.0以上,结果较好。另外,不同种源材料之间存在差异。

1.3 茎段培养

茎段培养是建立无菌系的重要途径,茎段含有较多的营养成分,可直接供腋芽吸收利用,诱导出的芽苗生长健壮、旺盛,但初代培养存在消毒不彻底、污染率高、褐化严重等问题。杨丽萍等以当年生嫩枝为材料,认为0.1%升汞与20%酒精混合液浸泡5~10 min效果好,污染率可控制在20%以下,简化了消毒程序^[25]。张广军等用12个俄罗斯大果良种沙棘1a生健壮枝条为材料进行周年消毒接种试验,认为最佳接种时间在3月,腋芽萌发快,外植体污染率、褐化率低,9~12月次之,相同条件下消毒后各品种茎段活力存在较大差异,并且建立了其中7个品种的初始培养体系^[26]。茎段腋芽萌发成苗后转入壮芽培养基生长,或转入生根诱导培养基形成完整植株,也可将再生苗分割成茎尖、茎段、叶片等,根据不同目的继代培养,茎尖伸长生长成苗,幼茎段用于诱导腋芽增殖或经基部愈伤组织分化不定芽增殖,无菌叶片直接分化不定芽或经愈伤组织分化不定芽。研究表明,用无菌苗茎段在 $1/2 MS + 6-BA 0.5 \sim 1.0 mg \cdot L^{-1} + IAA 0.5 mg \cdot L^{-1}$ 上诱导隐芽萌发成丛生芽,繁殖系数达到2.9,且6-BA与IAA配合使用结果较好^[27~29],从目前看,由茎段诱导出二、三级腋芽成丛生芽增殖的研究还较少。

2 愈伤组织培养

愈伤组织培养在植物组织培养中占有重要地位,一方面外植体诱导的愈伤组织分化不定芽成苗用于离体快繁或筛选有用突变体,另一方面愈伤组织经大规模培养可提取有用活性成分或次生代谢物。沙棘是一种药用价值较高的树种,叶、果等部位含有沙棘油、总黄酮等成分,对增强人体免疫力、预防肿瘤发生、治疗心血管疾病效果较好^[30~35],采用细胞培养技术生产沙棘体内有效的活性成分也需要愈伤组织诱导培养。茎尖、茎段、叶片、子叶、下胚轴、胚根等都能诱导出愈伤组织,徐虹等用子叶、下胚轴、胚根、茎尖等试验,发现愈伤组织诱导率的高低顺序依次是子叶>胚根>下胚轴>茎尖, $1/4 MS + 2,4-D 0.3 mg \cdot L^{-1}$ 上子叶诱导率为90.3%,其次是胚根(65.9)%^[19],这和刘杰试验的中国沙棘愈伤组织诱导最佳外植体是实生苗子叶的结论一致,子叶在 $1/4 MS + KT 0.5 mg \cdot L^{-1} + NAA 0.05 mg \cdot L^{-1} + sugar 20 g \cdot L^{-1} + agar 6 g \cdot L^{-1}$ 上愈伤组织诱导率76.67%,不经转接即可分化不定芽^[23]。李师

翁等以初代无性系的幼芽作外植体,在 $2/3$ MS + 6-BA $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 上愈伤组织诱导率可达 100%,继代转入 $1/2$ MS + 6-BA $0.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 后能不断生长并分化不定芽形成芽丛,在 $1/2$ MS + IBA $0.2 \sim 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 上诱导生根得到再生植株。研究表明, $2/3$ MS 更适合诱导幼芽、叶片、幼茎产生愈伤组织^[36],这和康冰、吕月玲、郑子成等报道的适宜嫩茎、叶片愈伤组织诱导的基本培养基是 $1/3$ MS 区别不大^[27~29],薛岩也提出在 $1/3$ MS 上加入 IBA $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 或 NAA $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 适合幼茎段、茎尖愈伤组织诱导,质量好的愈伤组织转入 $1/3$ MS + 6-BA $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + IBA $0.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 上 40 d 左右分化成苗,在 $1/3$ MS + NAA $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + IBA $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 上有 35.7% 的不定根分化^[22],这为下一步先分化根再成苗的研究奠定了基础。周洁等将初代培养获得的无菌苗剪切成茎段后,在 $1/2$ B₅ + 6-BA $0.5 \sim 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 中基部愈伤组织诱导率为 90% 以上,平均每块愈伤组织分化不定芽 6.9 ~ 10.8 个,成苗率达到 90% 以上^[37,38]。

3 褐化预防

沙棘体内酚类物质含量高,茎段、室外顶芽、叶片初代培养中易褐化,愈伤组织继代转接后褐化严重,影响外植体对营养的正常吸收甚至导致材料死亡。褐化与外植体的种类、大小、生理状态、培养基、培养条件(温度、光照等)有关^[39],生长季节的外植体酚类物质含量和氧化酶活性高,6-BA、KT 等能提高氧化酶活性^[40],高温、光照促进酚类物质氧化^[41]。张广军等报道用无菌苗继代培养时不褐化,而用 6 ~ 8 月份生长旺盛的嫩茎培养时褐化严重,采用降低矿质盐浓度、加抗氧化剂抑制褐化作用不明显,外植体低温预处理接种后弱光下培养能明显抑制褐化,同时各品种间褐化程度不同^[26]。杨丽萍等用嫩茎段试验时比较了 Vc、AC、半胱氨酸对褐化的抑制作用,认为 AC 有加重褐化的趋势,同时认为高盐培养基会加剧褐化物渗出,促进褐化,有效抑制措施是 200×10^{-6} Vc 浸泡材料 5 h^[25]。此前,牛辰用预培养和附加半胱氨酸的办法较好的克服了茎段初代培养褐化问题^[14]。针对沙棘茎段、室外顶芽、叶片的褐化问题,除对材料低温预处理、弱光培养外,在酚类物质含量和氧化酶活性低的季节取材或选用褐化程度轻的品种、改善培养条件、及时转瓶、加入适当的抗氧化剂或吸附剂也很重要。采用新梢定期回缩技术并喷洒 6-BA、GA₃ 等激素促进新梢生长,同时喷内

吸性杀菌剂,对降低茎段褐化率和污染率有一定作用。

沙棘愈伤组织呈黄绿色或浅黄色,容易诱导生长旺盛,但继代增殖时褐化严重,极易变褐死亡。通常认为细胞膜结构的破坏或细胞中物质区域化分布的破坏是酚类化合物的酶促氧化和组织发生褐变的关键^[42],愈伤组织切割后细胞受到伤害,酚类化合物与氧化酶结合被氧化成醌,醌类物质在酪氨酸酶等的催化下与外植体中的蛋白质聚合,引起其他酶系统失活,导致组织代谢紊乱死亡^[43]。沙棘不经切割的愈伤组织褐化严重,采用降低无机盐和激素浓度、暗培养、液态和半液态培养、低温培养效果都不明显,可能是转接后愈伤组织细胞吸收营养的正常途径和状态受影响所致。目前针对沙棘愈伤组织褐化防治的研究不多,李师翁等采用加 $100 \sim 200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ Vc、 $500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ AC 试验,结果显示 Vc、AC 对愈伤组织和芽的褐化有明显抑制作用,但也导致愈伤组织和芽生长减缓并死亡^[36]。在外植体没有选择余地的条件下,对愈伤组织褐化的预防较多地用加入抗氧化剂(Vc、PA、柠檬酸等)和吸附剂(AC、PVP 等),调整培养基种类和水平,改良培养条件等途径实现,也可加入一定量 CA、GA₃、ABA、果糖、葡萄糖,能较明显的抑制 PPO、PO 活性,降低愈伤组织和培养基褐变程度,并同时提供生长调节物质和碳源,促进愈伤组织生长^[44]。

4 驯化移栽

生根苗驯化移栽是实现苗木离体快繁必不可少且关键的一步,对沙棘的研究较少。长势健壮的生根苗经瓶炼后转入栽培基质盘炼,基质用草炭、蛭石、珍珠岩等按一定比例配制,确保良好的透气性、保水性,配好后用杀菌剂混拌或 KMnO₄、甲醛熏蒸消毒。移栽时洗净生根苗根系所附培养基后,根系浸蘸一定浓度 ABT2 号生根粉或生长素,以促进生根,还可用稀泥浆蘸根保湿。移栽后及时用低浓度磷酸二氢钾、尿素等叶面施肥,补充根系对营养吸收的不足,促进壮苗,并保证较高湿度。刘杰选择生根质量高的试管苗,4 月中旬栽于珍珠岩:蛭石=1:1 的混合基质中,两品种 1 个月成活率达到 82.7% 和 81.8%,随后移入营养钵培养,对移栽中的断根苗用 500×10^{-6} IBA 速蘸 5 s 后插入蛭石盘中,20 d 成活率 95%^[23]。周洁将生根苗驯化 2 个月后栽入河沙中促进新根生出,2 周后转入河沙、腐殖质土混合基质并浇灌 $1/4$ B₅ 大量元素营养液,1 月后大田移栽成活率 50%^[39]。朱万芹等也对沙棘的炼苗移栽作了一

定研究^[45]。

此前,国外在这方面研究较为深入,YAO 研究了沙棘组培苗在温室里根系结瘤情况,40 d 幼苗可长高至 30 cm^[15]。Montpetit 报道了美国和加拿大种源的生根苗转入 Turface R 基质后能完全成活。值得一提的是 Montpetit 将无菌苗木木质化的根用 Frankia 菌侵染并诱导出根瘤,这为再生苗通过接种根瘤菌增强根系活力从而提高移栽成活率提供了依据。

5 存在的问题

沙棘组织培养研究取得了较大进步,试验的品种不断增多,研究趋于深入,但起步较晚。主要存在以下几个问题:(1)基本培养基和激素种类选择范围窄,大部分试验选用的是 MS、B₅、WPM 及相应的改良培养基,其他培养基较少,激素也是常用的几种,针对沙棘组培中存在的问题有必要扩大培养基和激素的试用范围,以获得好的效果。(2)外植体选择比较单一,多数研究者倾向用茎尖、茎段培养。先建立无菌系再进一步增殖培养,而用大田叶片、水培叶片等直接分化不定芽的报道不多,对花粉、花药、胚、胚乳等研究价值大的外植体进行试验也未见报道。(3)培养模式大部分采用经愈伤组织诱导分化成苗,少见从外植体直接分化成芽的报道,且现有研究普遍存在增殖系数低、继代芽生长缓慢等问题^[17]。(4)试管苗生根率低和生根质量不高,部分根系由愈伤组织生出,影响移栽成活。此外,对沙棘驯化移栽技术的研究也少。(5)愈伤组织继代增殖过程中褐化严重,不定芽死亡率高,一些关键问题没有搞清楚,有效的预防措施仍需试验。目前沙棘组织培养技术还不成熟,与离体快繁和其他方面的应用要求有一定差距。

6 展望

随着科技发展,组织培养包括的范围和应用领域日益广泛,展示出巨大的发展潜力,沙棘自身特性决定了其较高的科学研究和商业开发价值。今后要继续扩大基本培养基、激素和外植体的试验范围,解决增殖系数低、继代芽生长缓慢等问题,尽早建立快速、稳定、高效并能普遍适用的快繁体系,同时探索经体细胞胚诱导建立增殖体系的可能性,加速优良品种的推广栽培;沙棘愈伤组织较容易诱导,但继代增殖困难,除克服褐化严重的问题外,下一步可借鉴银杏、红豆杉等树种的研究经验和模式^[46~48],深入研究其愈伤组织生长发育规律,为大规模细胞培养

和次生代谢物的检测、提取奠定基础,与此同时,针对沙棘有效活性成分筛选含量高、品质优的种源和品系,作为愈伤组织诱导培养的目标;围绕果大、刺少、无籽、质量好、产量高等育种目标,沙棘的良种选育工作已取得了很大成功。为更有针对性和可操作性,可从倍性育种、杂交育种角度试验花粉、花药、胚珠、胚、胚乳等器官培养的可能性,克服远缘杂交不亲和性,缩短育种周期,从分子水平加快沙棘良种选育进程;最后,沙棘作为非豆科木本固氮植物,根系能和弗兰克氏放线菌共生形成固氮率较高的根瘤,试管苗生根后可考虑用根瘤菌侵染根系使之结瘤,增强生根苗的自养能力和活力,为缩短炼苗周期、简化移栽程序、提高移栽成活率和育苗效率奠定基础。

参考文献:

- [1] 王俊峰,梁宗锁. 沙棘生物学特性与利用[M]. 西安: 陕西科学技术出版社,1999.
- [2] 胡建忠. 沙棘的生态经济价值及综合开发利用技术[M]. 郑州: 黄河水利出版社,2000.
- [3] 王琳,冯建菊,蒋学玮. 沙棘植物资源的综合利用[J]. 北方园艺,2002(6): 24-25.
- [4] 武靖宇. 沙棘雌雄比例的调查研究[J]. 沙棘,1991,2(1): 17-19.
- [5] 李云章,慈忠玲,严磊,等. 沙棘繁殖方法和技术[J]. 内蒙古林学院学报,1994,16(1): 59-63.
- [6] 高凯. 前苏联的沙棘无性繁殖技术[J]. 沙棘,1989,3(3): 43-44.
- [7] 邢亚娟,黄福伦,罗玉亮,等. 俄罗斯大果沙棘无性繁殖技术的研究[J]. 植物研究,2002,22(2): 231-235.
- [8] 王大伟. 沙棘扦插育苗技术[J]. 塔里木农垦大学学报,2002,14(4): 26-28.
- [9] 刘根科,梁秀芝,李占成. 俄罗斯大果沙棘嫩枝扦插繁育技术[J]. 沙棘,2005,18(1): 29-30.
- [10] Burdasov V M. Sviridenko E I. Production of regenerates of sea buckthorn from apical meristems in vitro culture[M]. Sibirskii Vestnik Sel'skokhozyajstvennoi Nauki, 1988. 106-110.
- [11] montpetit D,Lalonde M. In vitro propagation and subsequent nodulation of the actinorhizal *Hippophae rhamnoides* L. [J]. Plant Cell Tissue Organ Culture,1988,15(3): 189-199.
- [12] 赵国林,刘金郎,朱滨. 沙棘的组织培养和植株再生[J]. 植物生理学通讯,1989,25(1): 42.
- [13] 刘萍. 沙棘组织培养试验初报[J]. 沙棘,1989,2(2): 23-24.
- [14] 牛辰. 沙棘组织培养的研究[D]. 北京:北京林业大学,1989.
- [15] YAO Ying-mou. Micropropagation of seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides*L.)[J]. Agricultural Science in Finland, 1995, 4: 503-512.
- [16] 孙兰英,单金友,王春艳,等. 沙棘组织培养培养基筛选试验[J]. 沙棘,1998,11(3): 14-16.
- [17] 徐虹,王俊峰,梁宗锁. 沙棘组织培养技术研究现状及存在问题[J]. 沙棘,1999,12(1): 11-13.

- [18] 刘文萍,南相日,刘丽艳,等. 沙棘组织培养[J]. 北方园艺, 1999(3): 54.
- [19] 徐虹,梁宗锁. 沙棘组织培养技术研究[J]. 西北植物学报, 2001,21(2): 267-272.
- [20] 孙伟. 沙棘茎尖培养试验初报[J]. 中国农学通报,2000,16(1): 56.
- [21] 孙兰英. 沙棘组织培养与植株再生研究[J]. 国际沙棘研究与开发, 2004,2(2): 28-30.
- [22] 薛岩. 沙棘茎尖培养与嫩枝扦插繁殖技术及机理的研究[D]. 沈阳:沈阳农业大学,2004.
- [23] 刘杰. 沙棘组织培养与扦插繁殖技术的研究[D]. 北京:北京林业大学,2004.
- [24] 郭春华,徐玉霞. 沙棘优良品系茎尖组织培养技术初探[J]. 沙棘,2000,13(1): 26-27.
- [25] 杨丽萍,张虎林,赵秀梅. 沙棘离体快速繁育技术研究[J]. 国际沙棘研究与开发,2004,2(1): 12-16.
- [26] 张广军,康冰,吕月玲,等. 引进俄罗斯良种沙棘的组培系统研究与构建[J]. 沙棘, 2002,15(1): 8-9.
- [27] 康冰,张广军,吕月玲,等. 俄罗斯大果沙棘组织培养技术研究[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版),2002,30(6): 162-165.
- [28] 郑子成,何淑勤. 大果沙棘组织培养技术[J]. 中南林学院学报,2003,23(4): 42-45.
- [29] 吕月玲,张广军,康冰,等. 俄罗斯大果沙棘离体快繁研究[J]. 湖南农业大学学报, 2002,28(5): 405-407.
- [30] 王吉明,张庆民,秦远东. 沙棘的药用价值[J]. 山东医药工业, 1998,17(6): 10-11.
- [31] 齐虹凌,于泽源,李兴国. 沙棘研究概述[J]. 沙棘,2005,18(2): 37-41.
- [32] Geetha S, Singh V, Ram M S, et. al. Immunomodulatory effects of seabuckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) against chromium (VI) induced immunosuppression [J] 7. Molecular & Cellular Biochemistry, 2005, 278 (1): 101-109.
- [33] 金婷,徐雅琴,李兴国. 沙棘中活性物质及其应用[J]. 沙棘, 2005,18(2): 24-26.
- [34] 赵玉珍,武福亨. 沙棘中黄酮类化合物及其药用价值[J]. 沙棘,1997,10(1): 39-41.
- [35] 高锦明,张鞅灵,李芸生,等. 沙棘黄酮化学研究的进展[J]. 沙棘,1998, 11(2): 34-40.
- [36] 李师翁,范小峰,卢东平. 大果良种沙棘愈伤组织诱导及植株再生的研究[J]. 西北植物学报,2001,21(2): 262-266.
- [37] 周洁,岳冬梅,陈贵,等. 沙棘组培快繁技术研究[J]. 安徽农业科学,2005,33(2): 236-237.
- [38] 周洁. 沙棘组培快繁体系的建立及组培苗生根的生理生化机制研究[D]. 沈阳:沈阳农业大学,2005.
- [39] 叶梅,王伯初,段传人. 植物组织培养外植体褐变的研究进展[J]. 生物技术通讯,2004,15(4): 426-428.
- [40] 孔祥生,张妙霞,李亮琴,等. 影响柿树外植体褐变因素的研究[J]. 洛阳农专学报,1997,17(4): 1-4.
- [41] 刘兰英. “薄壳香”核桃组培中的褐化及防止措施研究[J]. 园艺学报,2002,29(2): 171-172.
- [42] 姚洪军,罗晓芳,田砚亭. 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.
- [43] 张明文,陈力耕. 银杏组织培养中控制褐化的研究[J]. 中国南方果树,2003,32(3): 51-52.
- [44] 盛长忠,王淑芳,王宁宁,等. 红豆杉愈伤组织培养中褐变现象的初探[J]. 南开大学学报(自然科学版),2001,34(4): 120-121.
- [45] 朱万芹,杨泽涛,张莉,等. 利用组织培养技术快速繁育沙棘苗的研究[J]. 沙棘,2002,15(3): 39-40.
- [46] 倪静静,黄学林,冈田芳明,等. 银杏愈伤组织培养及其黄酮类化合物的测定[J]. 热带亚热带植物学报,2001,9(2): 163-166.
- [47] 桂仁意,曹福亮. 银杏组织培养研究进展[J]. 南京林业大学学报,2004,28(3): 99-104.
- [48] 李柏林. 红豆杉细胞培养与紫杉醇形成的研究[J]. 广西师范大学学报(自然科学版),2001,19(2): 84-8.