

红叶樱花不同采集时期外植体萌芽 差异及其原因分析

李艳敏,王利民*,董晓宇,师 曼,张 晶,蒋 卉,王慧娟,高 杰,张和臣
(河南省农业科学院 园艺研究所,河南 郑州 450002)

摘要: 为了研究适宜红叶樱花腋芽萌发的外植体采集时期及其潜在的内源物质影响规律,分别在1—5月的每月中旬采集红叶樱花枝条,以枝条腋芽为外植体进行萌芽试验,同时测定各个时期外植体的可溶性糖、可溶性蛋白、内源激素含量,观察不同时期外植体内源物质含量的变化规律。结果表明:1—2月中旬红叶樱花腋芽处于休眠期,ABA、GA3含量与休眠分别呈正、负相关,IAA、可溶性糖和可溶性蛋白在冷胁迫下含量较高;2—3月中旬,ABA、IAA、可溶性蛋白含量开始反向变化,慢慢解除休眠;3月中旬解除休眠因子GA3和可溶性糖含量大幅增加,GA3/ABA比值大幅上升,红叶樱花腋芽组培萌发率较高但萌发后生长缓慢;4月中旬,ZA/IAA比值开始上升,此时期红叶樱花腋芽组培萌发率最高,表明GA3含量和GA3/ABA比值在指示红叶樱花休眠中具有重要作用,ZA含量和ZA/IAA比值在红叶樱花腋芽组培生产中具有重要指导作用。春季新萌枝条适宜作为红叶樱花组织培养的外植体,排除酚类物质引起的褐化影响,最适的采集时期是4月中旬。

关键词: 红叶樱花; 采集时期; 内源物质; 外植体萌芽

中图分类号: S687 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-3268(2018)05-0111-06

Differences of Axillary Bud Germination *in Vitro* and Their Causal Analysis in Different Explant Harvesting Period of *Prunus serrulata* ‘Royal burgundy’

LI Yanmin, WANG Limin*, DONG Xiaoyu, SHI Man, ZHANG Jing, JIANG Hui,
WANG Huijuan, GAO Jie, ZHANG Hechen
(Horticulture Institute, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou 450002, China)

Abstract: In order to study the effects of explant harvesting period and its potential endogenous substance on the axillary bud germination of *Prunus serrulata* ‘Royal burgundy’, the branches were collected in mid-month from January to May, and the buds on the branches were used as explants. The contents of soluble sugar, soluble protein and endogenous hormones in the explants were measured at different time points, and the changes of the contents of endogenous substances in the explants were observed. The results showed that the contents of ABA and GA3 were positively and negatively correlated with dormancy respectively, and the contents of IAA, soluble sugar and soluble protein were higher under cold stress. In the middle of February and March, the contents of ABA was positively correlated with dormancy, while IAA and soluble protein content began to reverse the change showing dormancy release. In mid-March dormancy release factor GA3, soluble sugar content and GA3/ABA ratio increased significantly, the germination rate

收稿日期:2017-12-10
基金项目:河南省科技攻关项目(162102110103)
作者简介:李艳敏(1978-),女,河南汤阴人,副研究员,硕士,主要从事园林植物组培快繁技术研究。
E-mail: minzili@126.com
* 通讯作者:王利民(1971-),男,河南温县人,副研究员,博士,主要从事园林植物栽培繁育技术研究。
E-mail: wanglimin923@126.com

of axillary bud in tissue culture was high but slowed down after germination. In the middle of April, ratio of ZA/IAA begin to increase, and axillary bud germination was the highest, indicating that the ratio of GA3 and GA3/ABA played an important role in the dormancy. ZA and ZA/IAA played an important guiding role in the propagation of *Prunus serrulata* 'Royal burgundy'. In the spring, the new shoots were suitable as explants for tissue culture of *Prunus serrulata* 'Royal burgundy', eliminating the browning effect caused by phenolic substances, the optimum collection period was in mid-April.

Key words: *Prunus serrulata* 'Royal burgundy'; Explant harvesting period; Endogenous substance; Germination in vitro

红叶樱花 (*Prunus serrulata* 'Royal burgundy') 属蔷薇科李属红叶落叶乔木, 叶片红色, 花玫瑰色重瓣, 集观花、观叶于一身, 是风景园林、城市绿化的名贵观赏彩叶树种。关于樱花的组织培养研究比较多^[1-8], 王永清等^[1]、冷天波等^[2]、及华^[3]的研究结论差异较大, 可能与外植体取材时间相关。李艳敏等^[4]研究发现, 在生长季节采集红叶樱花外植体, 萌发生长良好; 在休眠季节采集的外植体能萌发, 但是萌发后生长缓慢, 生长势不如生长季节外植体好, 组培苗的生长与外植体的取材时期、腋芽休眠和萌发状态密切相关。

木本植物为抵御寒冷侵袭, 大多需要经过休眠才能在春季萌发成芽。植物抵御寒冷, 进入休眠以及随后解除休眠进入生长发育状态, 与内源物质含量变化及其调节机制密切相关。其中, 最主要相关的是可溶性糖、可溶性蛋白和植物激素。可溶性糖和可溶性蛋白是植物生长的物质基础, 秋冬季节芽休眠时可以提高其抗寒性, 春季芽萌发时为其生长提供能量^[9-10]; 在秋冬季休眠的主要低温期, 木本植物的可溶性蛋白及可溶性糖含量均随温度降低呈递增趋势, 品种抗寒性越强可溶性蛋白及可溶性糖含量越高^[10]。通过低温处理, 花芽可溶性糖和可溶性蛋白的含量急速增加, 有利于促进休眠诱发花芽的分化^[11]。可溶性蛋白的亲水胶体性质强, 秋冬休眠时期, 通过束缚更多的水分显著增强细胞的持水力, 降低细胞结冰温度, 减少原生质因寒冷带来的伤害^[9], 解除休眠后消耗可溶性蛋白促进各类生理代谢的酶、蛋白质、脂类等物质合成。植物激素在低温胁迫、休眠和解除休眠的过程中也起到非常重要的作用, 内源激素赤霉素 (GA3) 和脱落酸 (ABA) 参与植物的休眠解除过程, GA3 是最为重要的促进休眠解除激素, 而 ABA 则是休眠解除的主要拮抗物, GA3 含量和 GA3/ABA 比值可以作为打破休眠的信号指标^[11]。通常认为, 细胞分裂素 (ZA) 和吲哚乙酸 (IAA) 是促进生长的激素, 二者之间存在拮抗作用, 共同调控细胞的分化, 细胞分裂素与生长素的浓度比值高, 可诱导芽形成, 解除顶端对腋芽的抑制

(即解除顶端优势), 反之则有利于诱导顶端生长优势^[12]。因此, 可溶性糖、可溶性蛋白及内源激素 (主要包括 ABA、GA3、IAA 和 ZA 等) 含量和比例对木本植物腋芽的休眠、解除休眠、萌发等生理生化过程具有重要的作用。在 2016 年 1—5 月进行了红叶樱花外植体取材时期的研究, 通过各时期生理指标及其含量的测定, 包括可溶性糖、可溶性蛋白、内源激素等, 分析各内源物质含量变化规律, 结合外植体组织培养萌发结果, 探寻红叶樱花腋芽萌芽差异的内源因素, 为研究红叶樱花外植体在不同采集时期生理生化差异及其产生原因, 确定红叶樱花外植体最佳采集时期提供理论依据, 为其他木本植物外植体的采集提供参考。

1 材料和方法

试验于 2016 年 1—5 月在河南省农业科学院现代农业研究开发基地 (原阳) 进行。

1.1 材料

红叶樱花为 5 年生树苗, 种植在原阳基地。选取 3 株生长健壮一致的植株并标记, 每月中旬从这 3 株植株上剪取直径 ≤ 0.2 cm 的枝条作为外植体, 进行不同采集时期外植体萌芽研究。

1.2 方法

1.2.1 外植体采集时期对红叶樱花腋芽萌芽的影响 分别于 1 月 19 日、2 月 17 日、3 月 15 日、4 月 20 日和 5 月 18 日剪取红叶樱花枝条, 拿至实验室进行消毒预处理, 先用流水冲洗 30 min, 然后用软毛刷在肥皂水里轻轻洗枝条, 最后流水冲洗 30 min。将初步消毒后的枝条送至超净工作台, 剪成长 1.5 ~ 2 cm、带 1 ~ 2 个腋芽的茎段, 放进无菌空瓶里, 用 75% 乙醇灭菌 30 s, 再用 0.1% HgCl₂ 灭菌 10 min, 最后用无菌水冲洗 4 ~ 5 遍。

1—3 月的红叶樱花枝条为 1 年生枝条, 木质化程度高, 腋芽外边包裹着鳞片, 外植体灭菌后, 存在污染率高的问题, 因此, 对这个时期的外植体采用灭菌后剥去芽外部鳞片的方法接种。4—5 月的红叶樱花枝条为当年萌发新枝条, 枝条光滑幼嫩未木质

化,采用带腋芽茎段进行接种。接种后 30 d 统计外植体的萌芽率和污染死亡率。污染死亡率 = 污染死亡个数/接入数 × 100%; 萌芽率 = 萌芽数/(接入数 - 污染死亡数) × 100%。

1.2.2 不同采集时期红叶樱花外植体内源物质含量的测定 在采集红叶樱花外植体进行萌发试验的同时,随机取带芽枝条进行外植体的可溶性糖、可溶性蛋白和内源激素含量测定。将腋芽从枝条上切下后,混合然后称质量,每份 0.5 g,各指标均重复 3 次,迅速用液氮速冻,然后 -80 ℃ 超低温冰箱保存。可溶性糖含量采用蒽酮法测定,可溶性蛋白含量采用考马斯亮蓝 G-250 染色法测定,具体方法步骤参考《植物生理学实验指导》^[13],内源激素含量的测定采用高效液相色谱方法,由苏州科铭生物技术有限公司代测。

试验数据采用 DPS V6.55 软件进行差异显著性 ($P < 0.05$) 分析,用 Excel 软件作图。

1.3 启动培养基及培养条件

外植体启动培养基为 MS,附加 6-BA 1.0 mg/L、NAA 0.01 mg/L、蔗糖 30 g/L、琼脂 6g/L, pH 值 5.8。培养条件为 (25 ± 2) ℃,光照强度 2 500 lx,光照时间 12 h/d。

2 结果与分析

2.1 不同采集时期对红叶樱花腋芽萌芽的影响

不同采集时期,枝条上腋芽的形状、生理状态不同,1 月中旬到 3 月中旬采集的为 1 年生枝条上的腋芽,个体大,饱满,长椭圆形,外边包裹着多层鳞片;4 月中旬和 5 月中旬,为当年新萌幼嫩枝条上的腋芽,个体小,三角形,外边光滑。分别以这 2 种枝条上的腋芽为外植体,其灭菌后的污染死亡率、萌芽率都不相同(表 1)。从萌芽率来看,5 个采集时期的萌芽率差异显著,其中以 4 月萌芽率最高,为 100.0%,显著高于其他 4 个采集时期的萌芽率,其次是 5 月和 3 月萌芽率分别为 78.3% 和 76.0%,二者差异不显著,从污染死亡率来看,以 1 月和 5 月采集的外植体污染死亡率最低,分别为 6.5% 和 4.6%,显著低于其他 3 个采集时期,1 月份的气温低,微生物较少,随着气温回升,杂菌逐渐增多,因此污染率较高;4 月份由于采集刚萌发的枝条,鳞芽幼嫩,灭菌后外植体容易出现变褐死亡现象,污染死亡率也高。综合而言,采集当年新萌发枝条上的腋芽,其萌芽率均高于 1 年生枝条上腋芽的萌芽率,说明 4—5 月为红叶樱花外植体适宜的采集时期,4 月中旬采集外植体,可以获

得最高的萌芽率。

表 1 不同采集时期对红叶樱花外植体萌芽的影响

外植体类型	采集时期/(月-日)	污染死亡率/%	萌芽率/%
1 年生枝条腋芽	1-19	6.5b	69.0c
	2-17	28.6a	60.0d
	3-15	19.4a	76.0b
当年生枝条腋芽	4-20	33.3a	100.0a
	5-18	4.6b	78.3b

注:同列数据后不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

2.2 不同采集时期对红叶樱花外植体可溶性糖含量的影响

红叶樱花外植体中可溶性糖含量变化见图 1,1 月中旬至 5 月中旬,红叶樱花外植体的可溶性糖含量呈现先下降后上升趋势。1 月中旬外植体仍处于休眠期,其体内可溶性糖含量最高,这与植物的抗性相关,低温下,鳞芽内可溶性糖含量增加可以增加细胞的渗透压,从而降低冰点,提高抗寒性;1 月中旬到 2 月中旬,可溶性糖含量略微减少,处于休眠期的鳞芽各项生命代谢活动缓慢,对能量的需求较少;2 月中旬之后,鳞芽内可溶性糖含量迅速下降,此时气温回升,日照延长,鳞芽休眠解除,代谢活动逐渐增强,对糖类消耗增加;4 月中旬,新萌发枝条处于旺盛生长期,对碳水化合物的需求大,此时可溶性糖含量最低;此后随着植株的生长,合成的有机物质多于消耗,外植体内的可溶性糖含量增加。

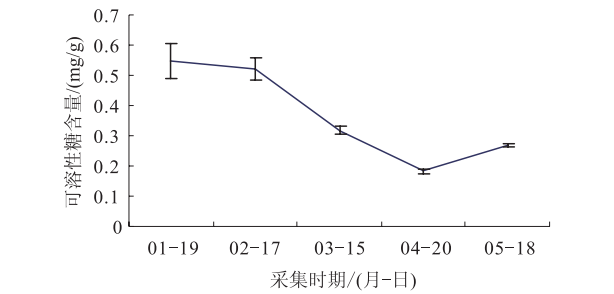


图 1 不同采集时期红叶樱花外植体可溶性糖含量变化

2.3 不同采集时期对红叶樱花外植体可溶性蛋白含量的影响

外植体的采集时期不同,其可溶性蛋白含量也不相同,从图 2 可以看出,1 月中旬到 5 月中旬,红叶樱花外植体的可溶性蛋白含量呈现先下降后上升的趋势。在 1 月份可溶性蛋白含量较高,可溶性蛋白可以增加细胞的持水力,增加植株的抗寒性;此后随着气温开始回升,树液开始流动,鳞芽休眠逐渐打破,可溶性蛋白含量开始降低;2 月中旬到 3 月中旬,可溶性蛋白含量保持稳定;3 月中旬之后鳞芽萌发,抽出新枝,生命活动更加活跃,各种酶活性增强,鳞芽体内的可溶性蛋白含量上升。此外,植物体内

可溶性蛋白和可溶性糖含量变化是植物解除休眠开始萌发的重要信号,在 3 月中旬气温回暖,腋芽萌动的情况下,可溶性蛋白含量率先开始升高,而可溶性糖含量在 4 月中旬开始升高,说明腋芽主要完成了蛋白质、酶、脂类等物质的积累,为萌发相关代谢基因诱导、生理生化反应提供重要的物质基础。

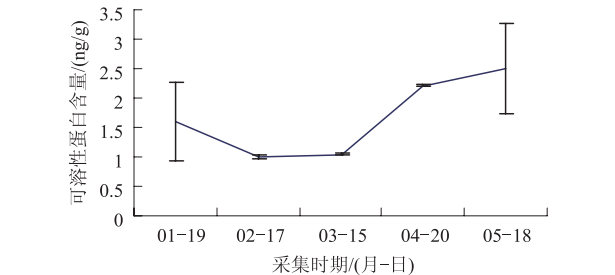


图 2 不同采集时期红叶樱花外植体可溶性蛋白含量变化

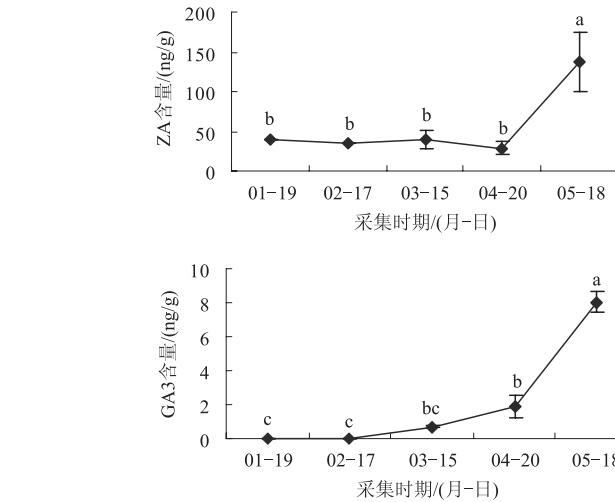


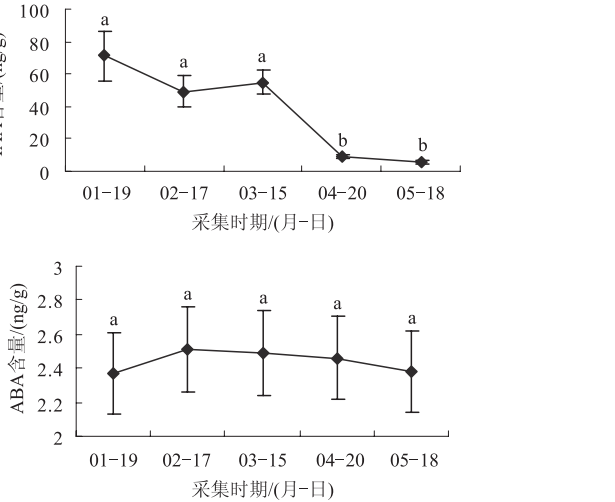
图 3 不同采集时期红叶樱花外植体内源激素含量变化

IAA 含量在整个采集时期呈现下降趋势,1—3 月外植体中 IAA 含量差异不显著,但均显著高于 4 月和 5 月外植体 IAA 含量。1 月采集的外植体 IAA 含量最高,这可能是植物内源激素 IAA 对低温的应激响应,低温影响 IAA 极性运输,同时抑制了 IAA 氧化酶活性;随着温度回升,树液流动,IAA 在植株内极性向下运输,鳞芽中 IAA 含量逐渐下降,3 月中旬到 4 月中旬鳞芽萌发形成幼嫩新梢,外植体中 IAA 含量急剧下降,4 月中旬到 5 月中旬,新梢生长旺盛,IAA 合成较多,外植体内的 IAA 含量下降趋势变缓。

GA3 含量在 1 月中旬到 5 月中旬呈上升趋势,在 1 月中旬和 2 月中旬的外植体中未检测出来,从 3 月中旬的外植体中检测到少量的 GA3,4 月到 5 月新萌枝条生长加快,外植体中的 GA3 含量大幅增加,其中 3 月和 4 月外植体中 GA3 含量差异不显著,但均显著低于 5 月的 GA3 含量。

2.4 不同采集时期对红叶樱花外植体内源激素含量的影响

随着红叶樱花外植体采集时期的不同,植物内源激素 ZA、IAA、GA3 和 ABA 含量也有明显的变化(图 3)。ZA 含量总体呈现上升趋势,其中在 1—4 月外植体 ZA 含量差异不显著,5 月外植体中 ZA 含量显著高于其他 4 个处理。1 月中旬到 3 月中旬,外植体中 ZA 含量基本上在 39.07 ng/g 左右;到 4 月中旬,ZA 含量降至 28.98 ng/g 后;之后开始急剧上升至 137.18 ng/g。3 月中旬到 4 月中旬外植体中 ZA 含量略微下降,此时休眠鳞芽开始萌发,细胞分裂素的作用是解除芽的休眠并促进细胞分裂,因此含量有所下降,4 月之后新梢形成,根尖和嫩梢是其合成的主要部位,外植体中的 ZA 含量也大幅上升。



ABA 含量在整个采集时期中变化幅度较小,介于 2.37 ~ 2.51 ng/g,呈现先缓慢上升然后缓慢下降的趋势,各处理间差异不显著。从 1 月中旬到 2 月中旬,ABA 含量略微上升,2 月中旬之后,ABA 含量开始下降。ABA 往往是 IAA、CA3 和 ZA 的拮抗物,它的消长过程大体上和生长进程是相反的。

2.5 不同采集时期红叶樱花外植体内源激素含量比值的变化

从图 4 可以看出,1 月中旬到 5 月中旬,GA3/ABA、ZA/ZAA 比值均呈上升趋势。在 1 月中旬到 2 月中旬采集的外植体中,GA3/ABA、ZA/IAA 比值均很低,GA3/ABA 比值在 2 月中旬之后开始缓慢上升,ZA/IAA 从 3 月中旬之后缓慢上升,两组比值在 4 月中旬开始大幅上升,说明 1 月中旬和 2 月中旬采集的外植体,仍处于休眠状态;3 月中旬采集的鳞芽已经开始萌动,GA3/ABA 比值虽然已经开始上升,但是 ZA/IAA 比值仍旧很低;4 月中旬之后采集的

外植体,GA3/ABA 和 ZA/IAA 均明显提高,此时外植

体接种后萌芽率也最高。

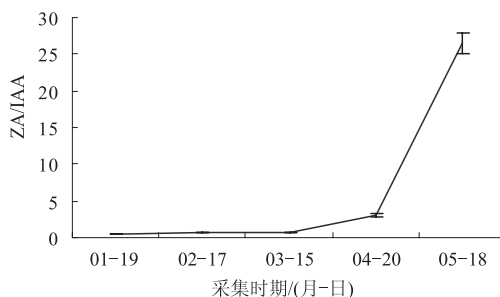
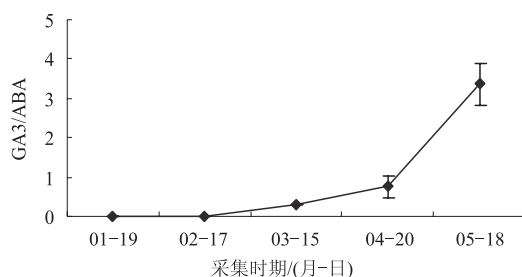


图4 不同采集时期红叶樱花外植体内源激素含量比值变化

3 结论与讨论

在植物组织培养中,外植体的萌发受年龄、生理状态、采集时期等多种因素影响,一般具有生长点且处于萌动状态的幼嫩外植体容易诱导萌芽,处于旺盛生命活动的外植体萌芽率高,多数木本植物选择春季采集新萌发枝条作为外植体^[14],也有一些木本植物会避开酚类物质含量多的时期,避免褐化伤害^[15]。1月中旬到3月中旬采集的红叶樱花外植体,萌芽率较低,并且外植体萌发后处于生长停滞状态,主要表现为叶片展开小,茎短缩;4—5月采集外植体,萌芽率高,能够正常展叶抽茎,但5月酚类物质含量增加,褐化伤害加重,而4月中旬外植体萌芽率最高,是最适的采集时期,这与郭文久^[16]、胡雪雁等^[17]的研究结论一致。

植物内源激素是调节芽休眠与萌发的重要因子,Horvath等^[18]认为休眠是由内源激素中促进生长物质和抑制物质之间的平衡状态决定的,ABA和GA3在促进植物适应低温胁迫中发挥重要作用,IAA代谢也是植物抗寒力调控系统的一部分^[19]。低温胁迫能够降低植物体内IAA氧化酶含量,一般情况下,IAA氧化酶活性越高,IAA含量越少,生长受抑制的程度越高,低温同时也抑制IAA的向下运输^[19-20]。1—2月中旬红叶樱花枝条腋芽的IAA含量降低,2—3月中旬IAA含量升高,表明2月中旬红叶樱花开始慢慢解除低温胁迫,与ABA变化时期相一致、变化方向相反。ABA是重要的休眠因子,GA3是重要的解除休眠因子^[11]。在寒冷来袭,木本植物进入休眠时ABA不断积累直至解除休眠前达到最高,GA3在进入休眠时含量逐渐降低,在解除休眠前达到最低。红叶樱花不同时期的腋芽中内源激素ABA和GA3含量呈现不同的变化,其中ABA含量在1—2月中旬缓慢上升后缓慢下降,GA3含量在3月中旬开始提高。表明红叶樱花解除休眠从2月中旬开始,ABA含量的降低优先于GA3含量的升

高,GA3/ABA比值在3月中旬大幅提高,腋芽萌发出幼嫩绿芽,进一步表明了ABA、GA3以及GA3/ABA比值在指示红叶樱花腋芽萌发中的重要作用。ZA能够促进细胞分裂和扩大,诱导芽分化,在红叶樱花的5个采集时期中,前3个时期变化不大,从4月中旬开始增加,整体来看,ZA对外植体萌芽起促进作用,这与牡丹打破休眠中的变化规律一致^[11]。

此外,本研究表明,GA3/ABA比值和ZA/IAA比值不仅反应出腋芽休眠、萌发的状态,也对红叶樱花组培生产具有重要指导作用。在红叶樱花的不同采集时期中,GA3/ABA比值在1月中旬和2月中旬很低,说明此时的外植体仍处于休眠状态;在3月中旬,GA3/ABA比值开始上升,外植体休眠解除,开始萌动,3月中旬采集的外植体,其萌芽率比1月中旬和2月中旬高,但是外植体萌发后生长缓慢,能够展叶但是茎短缩,影响后期的增殖培养;在4月中旬,ZA/IAA比值开始上升,植株处于旺盛生长时期,新梢形成并伸长生长,此时取外植体萌芽率最高。

综合上述,可溶性糖、可溶性蛋白、内源激素(IAA、ABA、GA3和ZA)在红叶樱花低温胁迫和休眠、萌发的过程中都具有重要作用,同时具有着一定的规律,1—2月中旬红叶樱花处于休眠期;2—3月中旬ABA、IAA和可溶性蛋白含量开始反向变化,慢慢解除休眠,3月中旬解除休眠因子GA3和可溶性糖含量大幅增加,GA3/ABA比值大幅上升;4月ZA/IAA比值开始上升,是影响红叶樱花外植体萌发的重要因素,表明GA3和GA3/ABA比值在指示红叶樱花休眠中具有重要作用,ZA和ZA/IAA比值在红叶樱花腋芽组培生产中具有重要指导作用。春季新萌枝条适宜作为红叶樱花组织培养的外植体,排除酚类物质引起的褐化影响,最适的采集时期是4月中旬。

参考文献:

[1] 王永清,汤浩茹,邓群仙,等. 樱花离体培养芽外植体

- 的建立[J]. 四川农业大学学报, 1997, 15(3): 341-344, 387.
- [2] 冷天波, 李乐辉, 柴德勇, 等. 樱花组织培养育苗技术[J]. 河南林业科技, 2011, 31(8): 53-54, 56.
- [3] 及华. 樱花的离体快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 1998, 34(4): 269.
- [4] 李艳敏, 孟月娥, 赵秀山, 等. 红叶樱花的组织培养和快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 2008, 44(6): 1163-1164.
- [5] 吕月良, 陈璋, 施季森, 等. 福建山樱花不定芽诱导和植株再生规模化繁殖试验[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2006, 30(3): 105-108.
- [6] 王光平, 黄敏仁. 福建山樱花的组织培养及植株再生[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2002, 26(2): 73-75.
- [7] 黄宇翔, 刘金燕, 卓小丽, 等. 福建山樱花组培快繁研究[J]. 中国农学通报, 2006, 22(8): 162-164.
- [8] 黄守印, 池井存, 苏淑欣, 等. 雾灵山地区野生樱花的组织培养与快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 2003, 39(3): 228.
- [9] 王泽华, 秦伟, 马依努尔姑·吐地. 不同天然居群新疆野苹果休眠枝条可溶性蛋白和保护酶活性对低温的响应[J]. 新疆农业大学学报, 2016, 39(3): 186-190.
- [10] 梁锁兴, 孟庆仙, 石美娟, 等. 平欧榛枝条可溶性蛋白及可溶性糖含量与抗寒性关系的研究[J]. 中国农学通报, 2015, 31(13): 14-18.
- [11] 高燕, 蒋昌华, 高焱, 等. 牡丹‘洛阳红’芽休眠低温解除中需冷量和生理生化动态变化[J]. 林业科技开发, 2015, 29(3): 30-34.
- [12] 齐海坤, 严根土, 王宁, 等. 棉花玉米素(Zeatin)和吲哚乙酸(Indoleacetic acid)的时空变化[J]. 中国棉花, 2016, 43(6): 21-24.
- [13] 邹琦. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 中国农业出版社, 2003: 111, 129.
- [14] 曹孜义, 刘国民. 实用植物组织培养技术教程[M]. 3版. 兰州: 甘肃科学技术出版社, 2002.
- [15] 宋春丽, 马俊莲, 刘月英, 等. 取材时期和BA浓度对磨盘柿初代组培建立的影响[J]. 河北林果研究, 2007, 3(9): 309-313.
- [16] 郭文久. 珙桐的外植体选材及组培快繁启动[J]. 农学学报, 2016, 6(2): 92-95.
- [17] 胡雪雁, 胡业华, 管倩, 等. 加拿大红枫培养条件的优化[J]. 湖北农业科学, 2012, 17(9): 3872-3875.
- [18] Horvath D P, Anderson J V, Chao W S, et al. Knowing when to grow signals regulating bud dormancy[J]. Trends in Plant Science, 2003, 8(11): 534-540.
- [19] 李静, 崔继哲, 弭晓菊. 生长素与植物逆境胁迫关系的研究进展[J]. 生物技术通报, 2012(6): 13-17.
- [20] Shibasaki K, Uemura M, Tsurumi S, et al. Auxin response in *Arabidopsis* under cold stress: Underlying molecular mechanisms[J]. The Plant Cell, 2009, 21(12): 3823-3838.