

# 影响聊红槐离体叶片再生因子的研究

邱艳昌<sup>1</sup>, 段祖安<sup>2</sup>, 张金芳<sup>2</sup>, 张现广<sup>1</sup>, 刘玮<sup>1</sup>

(1. 山东聊城大学, 山东 聊城 252000 2. 山东农业大学, 山东 泰安 271000)

**摘要:** 蔗糖浓度对聊红槐试管苗的增殖倍数的影响较小, 但影响试管苗的生长形态, 在 WPM 培养基中蔗糖浓度由原来  $20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  增加到  $60 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  时, 叶片由皱褶变为正常, 颜色变为深绿。经过以下培养程序可以建立叶片再生体: 将聊红槐增殖分化苗接种于 WPM (附加  $6\text{-BA } 2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{NAA } 0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{蔗糖 } 20 \sim 60 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} + \text{琼脂 } 7.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 上, 继代培养 20 d 获得分化型试管苗; 剪取叶片投入  $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  VC 无菌水浸泡 1~3 min 接入 WPM (附加  $6\text{-BA } 2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{NAA } 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{蔗糖 } 40 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} + \text{琼脂 } 7.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 上, 光照培养 30~40 d 获得剪切口组织脱分化; 环境控制 (光照时间 12 h, 暗培养 12 h, 光强 2000 lx, 温度 25℃; 黑暗温度 15℃, pH 值 5.8) 下培养 20~30 d 诱导出绿色愈伤组织; 转接 WPM 培养基 (附加  $6\text{-BA } 4.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{NAA } 0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{GA } 2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{蔗糖 } 60 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} + \text{琼脂 } 7.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 上, 培养后由绿色愈伤组织萌发出不定芽, 再生不定芽率为 89%。

**关键词:** 影响因素; 聊红槐; 叶片; 再生体

中图分类号: S722.3 文献标识码: A

## Study on the Factors Affecting the Regeneration of *in vitro* Leaves of *Sophora japonica* f. 'Liao Hong'

QIU Yan-chang<sup>1</sup>, DUAN Zu-an<sup>2</sup>, ZHANG Jin-fang<sup>2</sup>, ZHANG Xian-guang<sup>1</sup>, LIU Wei<sup>1</sup>

(1. Liaocheng University of Shandong Liaocheng 252000 Shandong China

2. Shandong Agricultural University Tai'an 271000 Shandong China)

**Abstract** The propagational multiple of *Sophora japonica* f. 'Liao Hong' tube seedlings was less affected by the concentration of sucrose, but the concentration of sucrose affected the growth morphology of tube seedlings. When the sucrose concentration increased from  $20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  to  $60 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  in WPM media, the leaves turned to normal from crinkled and became dark green. The procedures of leave regeneration culture are as follows: The differentiated seedlings of *S. japonica* were inoculated on WPM (with  $6\text{-BA } 2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{NAA } 0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{sucrose } 20 \sim 60 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} + \text{agar } 7.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ), after cultured for 20 days, the differentiated tube seedlings were obtained. The leaves sheared were put into aseptis water with  $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  Vitamin C and soaked for 1~3 minutes, then planted on to WPM (with  $6\text{-BA } 2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{NAA } 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{sucrose } 40 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} + \text{agar } 7.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ), and cultured under illumination for 30~40 days, the differentiated cutting tissues were got. Cultured under controlled environment (illumination time 12 hours, dark culture for 12 hours, light intensity 2000 lx, temperature 25℃, dark culture temperature 15℃, pH 5.8) for 20~30 days, the green callus were induced, then they were transplanted on WPM media (with  $6\text{-BA } 4.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{NAA } 0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{GA } 2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{sucrose } 60 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1} + \text{agar } 7.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ), the adventitious buds were geminated from green callus tissues, and the regenerated adventitious buds rate was 89%.

**Key words** affecting factors; *Sophora japonica* f. 'Liao Hong'; leave; regeneration

收稿日期: 2007-06-28

作者简介: 邱艳昌 (1954—), 男, 山东莘县人, 副教授。

聊红槐 (*Sophora japonica* Linn f 'Liao Hong') 是山东聊城大学选育的抗病性强、绿化效果好的新品种<sup>[1-3]</sup>。同等条件下速生优质、烂皮病发病轻、天牛的虫口密度低,绿化效果也日益引起园林工作者的重视<sup>[4-6]</sup>。普通国槐 (*Sophora japonica* Linn) 栽培面积大,品种单一导致大面积病虫害发生的危险性日趋严重,培育高抗品种和异花品种成为亟待解决的紧迫问题。随着育种手段的多样化,转基因研究成为培育国槐抗性品种的有效途径之一,目前公认为离体叶片农杆菌介导转基因是有效的转基因途径之一<sup>[7-9]</sup>,新生叶片的优劣直接影响到新生芽体的再生<sup>[10-14]</sup>。培养基的种类是提供植物生长的适宜载体,蔗糖是提供植物生长所需的炭源物质,激素是启动培养和分化培养的关键成分。过去人们形成了固定模式组织培养的习惯,蔗糖浓度因素往往被忽视,而对其他因素则考虑比较多<sup>[15,16]</sup>。蔗糖具有调节渗透压、甚至对一些基因的合成起作用。笔者在进行聊红槐新生叶片再生研究中发现,由于聊红槐和普通国槐的基因型不同,因而聊红槐再生体系建立比普通国槐困难<sup>[17,18]</sup>,以激素浓度比为切入点,进行了一系列研究后认为:各阶段培养中激素的浓度比是获得成功的技术关键<sup>[19,20]</sup>。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

2005年6月在实验室取聊红槐继代试管苗为再生体系材料。

### 1.2 方法

1.2.1 再生体系组织培养程序 对继代培养的试管苗进行增殖分化培养→新生叶片脱分化→新生叶片的愈伤组织诱导及其环境控制→赤霉素处理→通气性能对愈伤组织的影响→细胞分裂素对再生体系的影响。每个供试样品接种30瓶,每瓶接种两个试样,重复3次,取其平均值。

1.2.2 继代培养试验 基本培养基为MS附加激素(包括细胞分裂素和生长素)6-BA 2.0 mg·L<sup>-1</sup>+NAA 0.05 mg·L<sup>-1</sup>+GA<sub>3</sub> 0.2 mg·L<sup>-1</sup>琼脂 7.0 g·L<sup>-1</sup>, pH值 5.8 处理项蔗糖浓度分别为:20 30 40 50 60 g·L<sup>-1</sup>。再生培养试验:基本培养基为WPM,附加6-BA 4.0 mg·L<sup>-1</sup>+NAA 0.2 mg·L<sup>-1</sup>,琼脂 7.0 g·L<sup>-1</sup>, pH值 5.4 处理项蔗糖浓度分别为:20 30 40 50 60 g·L<sup>-1</sup>。

1.2.3 环境控制处理对再生叶片的影响 控制培养环境来观察对脱分化的影响,采用如下处理方式:处理1:12 h光照,光强 2 000 k,温度 25 ℃;暗培养 12 h,温度 15 ℃。处理2:12 h光照,光强 2 000 k,温度 25 ℃;暗培养 12 h,温度 25 ℃。处理3:全光照 2 000 k,恒温 25 ℃。处理4:全暗期,恒温 25 ℃。培养 30 d后,剪取上部展开的叶片,横切 2~3 刀后,转接到再生培养基培养,50 d后调查继代试管苗情况和小叶片再生不定芽发生率。

1.2.4 脱分化 采用的脱分化培养基为MS、White WPM附加激素。脱分化MS、White WPM附加激素6-BA 2~4 mg·L<sup>-1</sup>+2,4-D 0.02~0.1 mg·L<sup>-1</sup>,或者6-BA 2~4 mg·L<sup>-1</sup>+NAA 0.05~0.1 mg·L<sup>-1</sup>培养 50 d。选择上部展开幼叶,将叶片中脉剪断 2到3处,剪后处理方式有3种:(1)剪下立即投进无菌水中;(2)放进新鲜培养基三角瓶里暂时存放;(3)剪下立即投进添加 1 g·L<sup>-1</sup>维生素C无菌水(VC因不耐高温灭菌需要过滤配制)中。浸泡 1~3 min,然后接到脱分化培养基中培养 30~40 d。

1.2.5 大量元素对小叶片愈伤组织诱导的影响 试验条件在1/2大量元素、全量大量元素、2倍大量元素的WPM培养基中附加激素为6-BA 2~4 mg·L<sup>-1</sup>+NAA 0.1 mg·L<sup>-1</sup>,蔗糖 40 g·L<sup>-1</sup>。

1.2.6 赤霉素处理 培养基WPM附加6-BA 4 mg·L<sup>-1</sup>+NAA 0.05 mg·L<sup>-1</sup>+GA 2 mg·L<sup>-1</sup>的赤霉素培养基,培养胚状体愈伤组织,对照为WPM培养基附加6-BA 4.0 mg·L<sup>-1</sup>+NAA 0.05 mg·L<sup>-1</sup>,环境条件为环境控制处理1。

1.2.7 培养瓶的透气性 培养瓶的封口膜采用上海稼丰园艺厂生产的透气性封口膜为试验材料。每种封口类型接种30瓶,重复3次,40 d后调查分化情况,计算平均值。

1.2.8 细胞分裂素的影响 试验中分析了6-BA、KT、ZT 3种不同的分裂素的不同浓度对聊红槐再分化的影响。

1.2.9 统计方法 叶片再生率=长出 不定芽的叶片数/接种的叶片数×100%;叶片的再生性=平均不定芽×不定芽再生率;增殖倍数=不定芽数/接种叶片数。

## 2 结果和分析

### 2.1 不同蔗糖浓度在继代培养中的影响

随着蔗糖浓度的提高试管苗形态明显得到改

善, 玻璃化现象消失, 叶片的绿色度提高, 对叶片的再生起到了重要作用, 但分化率无明显差异, 见表 1。

表 1 不同蔗糖浓度对聊红槐继代增殖的影响

蔗糖浓度 / ( $g \cdot L^{-1}$ )	20	30	40	50	60
玻璃化程度	有	无	无	无	无
叶片面积 / $mm^2$	7~9	5~6	5~8	6~9	7~9
叶片形状	卵圆形	卵圆形	卵圆形	卵圆形	卵圆形
叶片颜色	浅黄色	浅绿	绿	绿	绿
叶片光泽	无	无	有	有	有
株高 / $cm$	4~6	3~4	3~5	3~4	3
径粗度 / $mm$	1~1.5	1.4~1.3	1.5~1.6	1.2~1.3	1.4~1.6
整齐度	极不整齐	不整齐	整齐	整齐	整齐
增殖倍数	2~3	2~3	3~3.5	2~2.5	1.5~2.0
叶片再生率 /%	85~90	85~90	90	89	86
叶片再生性能	87	88	89	79	76
评价	一般	好	好	一般	一般

由表 1 可以看出: 随着蔗糖浓度的增加, 叶片大小和形状保持不变, 叶片的颜色由浅黄变为绿色, 分化率不明显, 玻璃化现象明显改善, 但以蔗糖保持于  $40 g \cdot L^{-1}$  为理想。随着蔗糖浓度的再提高, 增殖倍数有降低的趋势。不同蔗糖浓度对聊红槐组织培养中分化苗的形态有一定的影响, 但影响程度并不明显。

## 2.2 去赤霉素培养后对继代培养的影响

为了进一步提高再生率, 根据赤霉素不利于器官发生的理论, 将赤霉素从培养基里除去, 在去赤霉素培养中, 采用的培养基为 WPM 的不同配比的两种培养基, 这两种培养基的基本培养基为 WPM 蔗糖浓度为  $40 g \cdot L^{-1}$  和  $60 g \cdot L^{-1}$  附加  $6-BA 2.0 mg \cdot L^{-1} + NAA 0.05 mg \cdot L^{-1}$ , 琼脂  $7.0 g \cdot L^{-1}$ , pH 值 5.8, 及在此基础之上添加  $B_9 0.1 mg \cdot L^{-1}$  (见表 2)。

表 2 去赤霉素后对聊红槐继代培养的影响

基本培养基	WPM	WPM	WPM	WPM	WPM
蔗糖 /( $g \cdot L^{-1}$ )	40	40	60	60	60
激素 (BA, NAA, GA, $B_9$ ) /( $mg \cdot L^{-1}$ )	0, 0, 0, 0	2, 0, 0, 0.05, 0, 0	2, 0, 0.05, 0, 0, 1	2, 0, 0.05, 0, 1, 0	2, 0, 0.05, 0, 1, 0, 1
玻璃化程度	无	无	无	无	无
叶片面积 / $mm^2$	7~9	5~6	5~8	6~9	7~9
叶片形状	卵圆形	卵圆形	卵圆形	卵圆形	卵圆形
叶片颜色	浅黄色	浅绿	绿	绿	绿
叶片光泽	无	无	有	有	有
株高 / $cm$	4~6	3~4	3~5	3~4	3~3.5
径粗度 / $mm$	1~1.5	1.4~1.3	1.5~1.6	1.2~1.3	1.4~1.6
整齐度	极不整齐	不整齐	整齐	不整齐	不整齐
增殖倍数	2~3	2~3	3~4	2~3	1.5~2.0
叶片再生率 /%	85~90	85~90	90~92	89~90	86~88
叶片再生性能	80	88	89	79	76
评价	较好	好	好	一般	一般

表 2 表明, 随着培养基中赤霉素含量的变化, 继代培养分化苗的形态指标发生变化, 玻璃化现象消失, 叶片面积没变, 叶片绿色度提高, 光泽度增加, 增殖倍数、叶片的再生率和再生性能在 WPM (BA, NAA, GA,  $B_9$ ; 2, 0, 0.05, 0, 0, 1) 最好。同时  $B_9$  能使试管苗矮化, 茎粗度增加, 叶片变小。

## 2.3 剪叶方式对叶片再生的影响

按照 1.2.4 脱分化中要求的剪叶方式剪取叶片, 投入到培养基中培养, 结果见表 3。

表 3 剪叶方式对叶片再生的影响

剪叶方式	1	2	3
叶片初生愈			
伤组织的颜色	暗黄色	黑色	鲜绿色
叶片再生率 /%	0	0	86.3
增殖倍数	0	0	6.9

表 3 表明, 剪叶方式 1 及 2 初培叶片颜色变褐, 直接影响其再生率; 剪叶方式 3 叶片一直保持鲜绿色, 叶片再生率高达 86.3%。说明剪叶瞬间保湿隔离空气层, 剪口不褐色, 而且用  $1 g \cdot L^{-1}$  VC 无菌水

浸泡, 对叶片不定芽有良好的促进作用。

#### 2.4 蔗糖浓度与小叶片再生

以 WPM 为基本培养基附加 6-BA  $4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  和 NAA  $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的不同蔗糖浓度, 进行聊红槐小叶片再生培养, 小叶片再生率, 以  $40 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  的蔗糖浓度再生率最高, 为 86.4% (见表 4)。

表 4 不同蔗糖浓度的小叶片再生率

蔗糖浓度 $/( \text{g} \cdot \text{L}^{-1} )$	20	30	40	60
叶片再生率 %	78.6	79.3	86.4	81.4
增殖倍数	1.85	2.0	2.1	1.76

从上面结果看出蔗糖浓度在继代和再生两个阶段都起到一定的作用, 以蔗糖浓度为  $40 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  时的聊红槐的继代培养和再生体系的建立为最好。

#### 2.5 大量元素含量对小叶片再生的影响

在 1/2 大量元素、全量大量元素、2 倍大量元素为变量的 WPM 培养基上, 小叶片再生明显不同, 当 1/2 大量元素处理下小叶片再生率为 86%, 而 2 倍大量元素处理下小叶片的再生率为 84%, 全量元素小叶片的再生率为 87%, 表明降低或提高大量元素都不利于不定芽的形成, 以常量为最好 (见表 5)。

表 5 大量元素含量对叶片再生体系的影响

大量元素	1/2	全量	2 倍
叶片再生率 %	86	87	84
增殖倍数	1.6	1.8	1.55

#### 2.6 环境因素对小叶片再生的影响

按照 1.2.3 环境控制对叶片再生影响处理方法, 进行 4 种处理。结果表明, 处理 1 明显好于其它处理, 说明有光暗周期变化和低温温度周期变化有利于小叶片再生, 再生率达到 78% (见表 6)。

#### 2.7 赤霉素对叶片胚状体愈伤组织的影响

在赤霉素处理 30 d 后小叶片普遍发生不定芽,

小叶片再生率 89% (见表 7)。而没有赤霉素处理的不定芽发生率为 76%, 表明赤霉素在聊红槐再生分化过程的最后阶段起到了催化作用。

表 6 环境控制对再生叶片分化的影响

环境处理	小叶片愈伤		小叶片再生不定芽	
	面积 $/ \text{mm}^2$	颜色	再生率 %	增殖倍数
1	5~6	亮绿色	78	1.9
2	3~4	暗绿色	56	1.2
3	2~3	白色	43	0.6
4	1~2	浅白色	12	0.2

表 7 赤霉素处理对小叶片再生体系的影响

处理	小叶片愈伤		小叶片再生不定芽	
	面积 $/ \text{mm}^2$	颜色	再生率 %	增殖倍数
赤霉素	5	绿色	89	1.8
无	2	浅绿	76	1.5

#### 2.8 通气性能对再生体系分化的影响

将小叶片植入培养瓶中, 40 d 后调查小叶片愈伤的平均面积和小叶片的平均不定芽数, 结果发现, 两种处理对再生体系的分化和再生并无多大影响 (见表 8)。

表 8 封口材料的不同对愈伤组织的影响

处理	小叶片愈伤		小叶片再生不定芽	
	面积 $/ \text{mm}^2$	颜色	再生率 %	增殖倍数
透气性封口膜	4	绿色	90	1.68
瓶盖	3.5	绿色	89	1.65

#### 2.9 细胞分裂素对愈伤组织形成的影响

在生长素为 NAA ( $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) WPM 培养基中, 加入不同浓度的细胞分裂素, 40 d 后调查新生叶片的分化情况。随着分裂素浓度的提高, 愈伤组织增殖变大, 但当 BA 的浓度高达  $4.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  后, 愈伤组织有变小的趋势 (见表 9)。

表 9 不同浓度的分裂素对愈伤组织的影响

培养基	愈伤质地	愈伤颜色	细胞分裂素 (BA)	愈伤面积 $/ \text{mm}^2$	愈伤的形成 %
WPM	坚硬	浓绿	0.5	1	15
	硬	深绿	1.5	1.2	25
	较硬	绿	2.5	1.6	32
	较疏松	较绿	3.5	3.2	42
	疏松	深黄色	4.0	4.0	89
	具孔	黄色	4.5	3.8	79

### 3 结论和讨论

聊红槐离体叶片再生试验,实际上涉及到多重因素和步骤,不同阶段所采用的培养基,或基本培养基不同,或激素不同,并且在时间上和程序上的要求都有比较严格的规定,操作细节对其再生的分化效果影响也很大。一旦某个环节的某个细节上出现问题,试验就会导致失败。只有细心观察,随时掌握再生体系的分化空间和分化时间,才能使聊红槐的分化成功。

(1)蔗糖浓度对聊红槐继代培养和离体小叶片再生的影响很小,适当提高蔗糖浓度能够改善试管苗生长形态,消除玻璃化现象的影响,生长性状得到明显的改善,蔗糖浓度  $40 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  为比较理想的浓度,连续继代多次,仍然能够保持稳定的良好生长状态。说明蔗糖是植物生长和能量来源的重要物质,它能调节培养基的渗透压,协调植物的稳定生长。

(2)WPM 大量元素和大量元素减半,小叶片再生率无明显差异,但 2 倍大量元素对分化有负面影响。环境控制和隔离空气剪叶时用  $1.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  Vc 浸泡后培养,赤霉素处理等也是对聊红槐小叶片再生的关键性技术措施。

(3)聊红槐离体小叶片再生各阶段培养基中激素采用:脱分化 ( $6\text{-BA } 2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{NAA } 0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ); 诱导产生红色愈伤组织 ( $6\text{-BA } 4.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{NAA } 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ); 诱导不定芽发生 ( $6\text{-BA } 4.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{NAA } 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{GA } 2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )。

#### 参考文献:

- [1] 赵燕,侯桂玲,张秀省,等. 国槐及其变种、变型花粉形态的比较研究 [J]. 聊城大学学报(自然科学版), 2007, 20(1): 53~55
- [2] 冷平生,马世超,李树蓉. 增施 CO<sub>2</sub> 气肥对国槐幼苗生长与生理特性的影响 [J]. 林业科学, 2002, 38(1): 44~49
- [3] Gevrenova R, Kitanov G, Ilieva D. Ontogenetic and seasonal variation

- in the flavonoid composition of *Sophora japonica* cultivated in Bulgaria [J]. Pharmaceutica Biologia, 2007, 45(2): 149~155
- [4] 魏红敏,王燕军,吴荣德. 国槐溃疡病的发生规律与防治措施 [J]. 河南林业科技, 2003, 23(2): 52
- [5] 闫家河,李双云,何邦今. 国槐新害虫——鸡血藤棕麦蛾生物学特性及防治 [J]. 山东林业科技, 2007(2): 20~22
- [6] 赵化奇,桑景柱,孙丹萍,等. 锈色粒肩天牛卵空间分布型及抽样技术初步研究 [J]. 植物保护, 2007, 33(1): 78~82
- [7] 阎国华,周宇,张开春. 核果类果树转基因研究进展 [J]. 果树科学, 2001, 18(6): 358~365
- [8] 张晓英,王华芳,朱祯,等. 国槐离体再生及抗虫基因 *sck* 的转导 [J]. 林业科学, 2006, 42(9): 34~38
- [9] Ito Y. Occurrence of lectins in leaves and flowers of *Sophora japonica* [J]. Plant Science, 1986, 47(2): 77~82
- [10] 王桂兰,陈超,李伟,等. 红掌叶片愈伤组织和气生根再生团块的细胞学研究 [J]. 园艺学报, 2006, 33(3): 587~591
- [11] 李文金,贾汇红,王均华,等. 欧洲樱桃矮化砧木 Rus-25 的组织培养与植株再生 [J]. 植物生理学通讯, 2004, 40(6): 718~718
- [12] 邱艳昌,段祖安. 聊红槐微体快繁技术 [J]. 林业实用技术, 2007(7): 20~22
- [13] Ozel C A, Arslan O. Efficient micropropagation of english shrub rose "heritage" under *in vitro* conditions [J]. International Journal of Agriculture and Biology, 2006, 8(5): 626~629
- [14] 孙清荣,李勃,张力思,等. 樱桃品种吉列玛叶片再生不定梢的研究 [J]. 落叶果树, 2001, 33(1): 10~11
- [15] 丁世萍,严菊强,季道藩. 糖类在植物组织培养中的效应 [J]. 植物学通报, 1998, 12(6): 115~117
- [16] 王玉华,杨清,陈敏,等. 植物糖感知和糖信号传导 [J]. 植物学通报, 2004, 21(3): 273~279
- [17] Tang Y P, Lou F C, Wang JH, et al. Four new isoflavone triglycosides from *Sophora japonica* [J]. Journal of Natural Products, 2001, 64(8): 1107~1110
- [18] 朱德蔚. 植物组织培养与脱毒快繁技术 [M]. 北京: 中国科学技术出版社, 2001: 147~150
- [19] 张晓英,尹伟伦,朱祯. 抗生素对国槐愈伤组织诱导和生长的影响 [J]. 北京林业大学学报, 2004, 26(6): 62~65
- [20] Min B, Oh S R, Lee H K, et al. Sophoricoside analogs as the IL-5 inhibitors from *Sophora japonica* [J]. Planta Medica, 1999, 65(5): 408~412