

郭婷婷,周晓婴,张 维,等. 甘蓝型油菜离体培养再生体系的优化[J]. 江苏农业科学,2016,44(7):76-79.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.07.021

# 甘蓝型油菜离体培养再生体系的优化

郭婷婷<sup>1,2</sup>, 周晓婴<sup>2</sup>, 张 维<sup>2</sup>, 陈 锋<sup>2</sup>, 彭 琦<sup>2</sup>, 陈 松<sup>2</sup>, 张洁夫<sup>2</sup>

(1. 南京农业大学作物遗传与种质创新国家重点实验室, 江苏南京 210095;

2. 江苏省农业科学院经济作物研究所/农业部长江下游棉花与油菜重点实验室, 江苏南京 210014)

**摘要:**为优化甘蓝型油菜离体培养再生体系,本研究分析了影响再生频率的多个关键因素,包括品种、外植体类型、苗龄、预培养时间以及激素浓度与配比等。结果表明:品种对再生频率影响较大,Westar 的外植体再生频率高于宁油 18 号和中双 11 号;不同外植体再生频率也存在差异,子叶柄的再生频率显著高于下胚轴;苗龄以 4 d 较好,预培养时间以 2 d 较适宜;预培养基中激素 2,4-D 最适浓度为 1 mg/L,分化培养基中,6-BA/NAA 比例为 10:1 时子叶柄的再生频率最高,为 70.79%,6-BA/NAA 比例为 9:1 时下胚轴的再生频率最高,达到 96.73%。经过优化后,油菜外植体再生频率得到显著提高。

**关键词:**油菜;离体培养;再生;优化;影响因素

**中图分类号:** S634.304<sup>+</sup>.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)07-0076-04

油菜为世界第二大油料作物<sup>[1-3]</sup>,也是我国重要油料作物之一,在人类的生活和农业生产上有着极其重要的作用。油菜花具有一定观赏价值,可用作旅游资源;油菜的茎叶可食用,还可用来饲养动物;油菜种子不仅可用来榨取食用油,饼粕还可用来做饲料。此外,油菜属于可再生资源,低芥酸菜籽油中的脂肪酸碳链组成与柴油分子碳数相近,因此被认为是生物柴油最理想的原料<sup>[4]</sup>。当今育种学家把提高油菜产量和品质,培育抗病和抗逆油菜新品种作为重要内容来研究<sup>[5]</sup>。

目前,组织培养技术被广泛地应用到油菜育种中<sup>[6]</sup>,并得到了大量不同优良特性的油菜种质资源<sup>[7-12]</sup>。高效的植株再生体系是油菜基因工程育种中的重要环节。在已有的研究报道中<sup>[13-18]</sup>,油菜可用下胚轴、子叶柄、根、茎、小孢子等作为外植体来进行组织培养。经过多年研究,国内外许多机构已建立了较为成熟的油菜离体培养再生体系<sup>[19-21]</sup>。然而,研究表明,在油菜组织培养中,不同基因型、不同外植体之间的最佳再生条件存在差异,这在一定程度上阻碍了油菜转基因研究的发展。本研究主要对影响油菜离体培养再生体系的关键因素进行分析,以期摸索出一套稳定、高效的油菜遗传转化体系,为油菜组织培养提供基础数据,并进一步为通过植物转基因技术获得预期优良性状的油菜新种质奠定基础。

收稿日期:2015-06-10

基金项目:国家科技支撑计划(编号:2010BAD01B10);江苏省科技支撑计划(编号:BE2013435);江苏省农业科技自主创新资金[编号: CX(13)2023]。

作者简介:郭婷婷(1989—),女,安徽蚌埠人,硕士研究生,研究方向为油菜遗传育种。E-mail:954640585@qq.com。

通信作者:张洁夫,博士,研究员,主要从事油菜遗传育种研究。E-mail:jjefu\_z@163.com。

## 3 结论与讨论

本研究以蓬蘽悬钩子嫩梢为试验材料,将带腋芽茎段用 75% 乙醇消毒 30 s,再用 0.1% HgCl<sub>2</sub> 溶液消毒 10 min,最后,接种到 MS 培养基上。最佳的增殖培养基为 MS + 1.0 mg/L 6-BA + 0.2 mg/L NAA,其次为 MS + 1.5 mg/L 6-BA + 0.1 mg/L NAA;进行壮苗培养时,最适宜的培养基为 MS + 0.5 mg/L 6-BA + 0.2 mg/L NAA 或者 MS + 0.5 mg/L 6-BA + 0.1 mg/L NAA;瓶内生根最适培养基为改良的 1/2MS + 0.10~0.15 mg/L NAA,生根率为 100%,平均根数最多可达 11.21 条/株,平均根长最长可达 4.86 cm,根粗壮。对组培苗当年植株生长发育情况调查发现,以 6 月中旬移栽到大田的生长发育状态最佳。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试油菜品种有 Westar、宁油 18 号、中双 11 号,由江苏省农业科学院经济作物研究所提供。

蓬蘽悬钩子因其具有较高营养保健价值,日益受到人们的青睐,对其进行组织培养快繁技术研究,可实现野生资源的最大化利用。本研究以蓬蘽悬钩子带腋芽茎段为试材,采用不同培养基、植物激素及其浓度组合,建立了稳定的离体快繁体系,为今后组培苗的工厂化生产提供技术指导,更重要的是可对优质品种的推广利用提供经验借鉴。

## 参考文献:

- [1] 赵伟伟,李爱民,张正海,等. 野生树莓蓬蘽悬钩子光合特性研究[J]. 中国果树,2014(1):28-30.
- [2] 和加卫,唐开学,杨静全,等. 云南省悬钩子属药用植物资源研究[J]. 中草药,2005,36(7):1078-1081.
- [3] 解瑞彬,李秋菊,曹媛媛,等. 树莓的组织培养快繁研究[J]. 天津农业科学,2009,15(3):23-25.

1.2 试验方法

本试验主要研究油菜离体培养再生体系的关键影响因素,包括:品种、外植体类型、苗龄、预培养时间、激素浓度和配比等。其中品种有 3 个,即:Westar、宁油 18 号、中双 11 号;外植体类型包括子叶柄和下胚轴;苗龄分为 4、5、6 d,预培养时间分为 1、2、3 d;2,4-D 浓度分别为 0.5、1.0、1.5 mg/L;在固定 NAA 或 6-BA 浓度的基础上(NAA 基本浓度为 0.4 μmol/L,6-BA 基本浓度为 4 μmol/L),将 6-BA/NAA 的配比分别调整为 9:1、10:1、11:1。以期从上述组合中筛选出最适合的油菜离体培养再生体系。

1.3 培养基配方

无菌苗生长培养基:1/2MS + 20 g/L 蔗糖 + 0.8% 琼脂, pH 值 5.8;预培养基:MS + 1.0 mg/L 2,4-D + 9.8 μg/L AS (乙酰丁香酮),pH 值 5.8;芽诱导培养基:MS + 0.4 μmol/L NAA + 4 μmol/L 6-BA + 0.2 g/L PVP (聚乙烯吡咯烷酮) + 5 μmol/L MES (乙-吗啉乙磺酸) + 200 μmol/L AdSO<sub>4</sub> (硫酸腺嘌呤) + 15 μmol/L AgNO<sub>3</sub> + 250 mg/L Carb (羧苄青霉素) + 0.2 μmol/L GA<sub>3</sub> + 30 g/L 蔗糖 + 2 g/L Gelrite (植物凝胶),pH 值 5.8;MS 培养基:MS + 30 g/L 蔗糖 + 250 mg/L Carb + 2 g/L Gelrite,pH 值 5.8。

1.4 离体培养程序

1.4.1 无菌苗培养 取大离心管 1 支,倒入种子,加适量的“84 消毒液”灭菌,不停振荡 20 min,再用无菌水冲洗 5 遍,每次 30 s。清洗完的种子铺在 MS 培养基中,每瓶培养基 50~60 粒,然后将培养瓶在(25±1)℃黑暗条件下培养 3 d。后移至光下培养 1 d,在 25℃、光照度为 2 000 lx、16 h/d 光照条件下培养,待用。

1.4.2 预培养 将培养 4~6 d 的无菌苗,在底部放置了 MS 湿润滤纸的灭菌培养皿中,用解剖刀切下 2 个子叶中较大的子叶柄和下胚轴,下胚轴切成 5~10 mm 的小段,将切下的外植体置于预培养基上预培养 2 d。

1.4.3 芽诱导培养 预培养后,将外植体转入芽诱导培养基中,在强光照下 25℃培养 4 周。每隔 2 周换 1 次新鲜培养基,以保证芽的正常生长。

1.4.4 壮芽生长 将外植体转移至壮苗培养基上继续培养 2~4 周,16 h/d 光照,25℃;待芽长至 2~4 cm 时,切分芽于 MS 培养基上,进一步生长。

2 结果与分析

2.1 品种和外植体对油菜离体培养再生频率的影响

采用 4 d 苗龄、在预培养基上预培养 2 d 的不同油菜品种子叶柄和下胚轴,在芽诱导分化培养基上进行诱导培养。1 周左右,切口处膨大突起,陆续长出质地紧密、大小不一的浅绿色愈伤组织,10 d 左右愈伤组织分化出青绿色的嫩芽。不同油菜品种离体培养再生频率存在显著差异(表 1),Westar、宁油 18 号和中双 11 号 3 个品种子叶柄的平均再生频率分别为 70.79%、50.05%、35.18%,下胚轴的平均再生频率分别为 58.53%、28.15%、13.74%。可以看出,无论是子叶柄,还是下胚轴,Westar 的再生频率均显著高于宁油 18 号和中双 11 号,并且子叶柄的再生频率显著高于下胚轴。

表 1 不同油菜品种子叶柄和下胚轴的再生频率

品种	子叶柄				下胚轴			
	外植体数 (个)	出芽数 (个)	再生频率 (%)	平均 (%)	外植体数 (个)	出芽数 (个)	再生频率 (%)	平均 (%)
Westar	105	77	73.33	70.79a	42	26	61.90	58.53a
	99	72	72.73		46	27	58.70	
	95	63	66.32		40	22	55.00	
宁油 18 号	38	18	47.37	50.05b	39	10	25.60	28.15b
	38	19	50.00		42	12	28.60	
	36	19	52.78		43	13	30.20	
中双 11 号	58	19	32.76	35.18c	81	12	14.81	13.74c
	62	22	35.48		78	9	11.54	
	59	22	37.29		74	11	14.86	

注:同列数据后不同小写字母表示在 0.05 水平上差异显著。下同。

2.2 苗龄对油菜离体培养再生频率的影响

选取不同苗龄的子叶柄和下胚轴,在预培养 2 d 后进行分化培养,研究苗龄对油菜离体培养再生频率的影响,结果表明,4 d 苗龄的子叶柄离体培养再生频率最高,为 70.79%,显著大于 5 d 苗龄的再生频率再生频率,但与 6 d 苗龄差异不显著。苗龄对下胚轴离体培养再生频率的影响与子叶柄相似,以 4 d 苗龄的下胚轴再生频率最高,为 58.53%,显著大于 5 d 苗龄的再生频率,但与 6 d 苗龄的再生频率差异不显著(表 2)。

表 2 苗龄对油菜子叶柄和下胚轴再生频率的影响

苗龄 (d)	子叶柄				下胚轴			
	外植体数 (个)	出芽数 (个)	再生频率 (%)	平均 (%)	外植体数 (个)	出芽数 (个)	再生频率 (%)	平均 (%)
4	105	77	73.33	70.79a	42	26	61.90	58.53a
	99	72	72.73		46	27	58.70	
	95	63	66.32		40	22	55.00	
5	129	76	58.91	55.98b	185	96	51.89	49.26b
	125	68	54.40		184	90	48.91	
	119	65	54.62		198	93	46.97	
6	38	25	65.79	66.95a	48	26	54.17	51.02ab
	40	27	67.50		46	23	50.00	
	37	25	67.57		45	22	48.89	

2.3 预培养时间对油菜离体培养再生频率的影响

采用 4 d 苗龄的油菜子叶柄和下胚轴,在预培养基上预培养 1、2、3 d,然后转入分化培养基,待外植体诱导出芽,分别统计再生频率。结果表明,预培养时间对子叶柄的离体培养再生频率的影响不显著,1~3 d 的再生频率变幅为 62.60%~70.79%。预培养时间对下胚轴的离体培养再生频率的影响达显著水平,以预培养 2 d 效果较好,再生频率为 58.53%,显著大于 3 d 的再生频率,预培养 1 d 和 2 d 间差异不显著(表 3)。

2.4 2,4-D 浓度对油菜离体培养再生频率的影响

采用 4 d 苗龄的外植体,切下子叶柄和下胚轴分别于不同 2,4-D 浓度的预培养基上预培养 2 d,然后转到芽诱导培养基上进行分化培养,统计再生频率。结果表明,2,4-D 浓度为 1.0 mg/L 的共培养基对子叶柄再生频率最高,为 70.79%,显著大于 0.5 mg/L 和 1.5 mg/L 的浓度;2,4-D 浓度对下胚轴再生频率的影响与子叶柄相同,以 1.0 mg/L 浓度

表 3 预培养时间对子叶柄和下胚轴再生频率的影响

预培养 时间 (d)	子叶柄				下胚轴			
	外植 体数 (个)	出芽 数 (个)	再生 频率 (%)	平均 (%)	外植 体数 (个)	出芽 数 (个)	再生 频率 (%)	平均 (%)
1	46	32	69.57	62.60a	40	22	55.00	57.78ab
	43	26	60.47		34	20	58.82	
	45	26	57.78		42	25	59.52	
2	105	77	73.33	70.79a	42	26	61.90	58.53a
	99	72	72.73		46	27	58.70	
	95	63	66.32		40	22	55.00	
3	110	79	71.82	70.61a	131	62	47.33	50.01b
	105	72	68.57		142	69	48.59	
	98	70	71.43		122	66	54.10	

最佳,再生频率为 58.53%,显著高于 2,4-D 浓度为 0.5、1.5 mg/L 的处理(表 4),因此,无论是子叶柄还是下胚轴,培养基中 2,4-D 最适浓度为 1.0 mg/L。

2.5 6-BA/NAA 对油菜离体培养再生频率的影响

采用 4 d 苗龄、2 d 预培养的子叶柄和下胚轴,通过固定 6-BA 和 NAA 其中之一的浓度,并调节另一种激素的浓度,形成 6-BA/NAA 的不同配比,在激素比例不同的分化培养基上进行分化培养,待外植体诱导出芽,统计再生频率。结果(表 5)表明,固定 NAA 浓度的 3 个 6-BA/NAA 配比分化培

表 4 2,4-D 浓度对油菜子叶柄和下胚轴再生频率的影响

2,4-D 浓度 (mg/L)	子叶柄				下胚轴			
	外植 体数 (个)	出芽 数 (个)	再生 频率 (%)	平均 (%)	外植 体数 (个)	出芽 数 (个)	再生 频率 (%)	平均 (%)
0.5	39	20	51.28	53.65a	37	13	35.14	38.82a
	46	24	52.17		33	14	42.42	
	40	23	57.5		36	14	38.89	
	105	77	73.33	70.79b	42	26	61.90	58.53b
1.0	99	72	72.73		46	27	58.70	
	95	63	66.32		40	22	55.00	
	44	21	47.73	48.08a	38	13	34.21	41.00a
1.5	44	21	47.73		35	15	42.86	
	41	20	48.78		37	17	45.95	

养基的效果好于固定 6-BA 浓度的 3 个配比。在固定 NAA 浓度时,6-BA/NAA 为 10:1 的分化培养基对子叶柄再生频率最好,为 70.79%,显著大于 9:1 和 11:1 的比例;而下胚轴却出现相反的结果,6-BA 与 NAA 比例 10:1 时的再生频率显著低于其他 2 个浓度比值,6-BA/NAA 比例为 9:1 时,再生频率达到 96.73%。推测在 6-BA/NAA 为 10:1 时,有利于下胚轴愈伤组织的生长,愈伤组织越长越大,越不利于愈伤组织分化出芽,从而致使再生频率较低。

表 5 6-BA/NAA 对油菜子叶柄和下胚轴再生频率的影响

浓度不变的激素	6-BA/ NAA 比值	子叶柄				下胚轴			
		外植体数 (个)	出芽数 (个)	再生频率 (%)	平均 (%)	外植体数 (个)	出芽数 (个)	再生频率 (%)	平均 (%)
NAA	9:1	39	23	58.97	59.81a	35	34	97.14	96.73a
		42	26	61.90		34	33	97.06	
		41	24	58.54		25	24	96.00	
	10:1	105	77	73.33	70.79b	42	26	61.90	58.53b
		99	72	72.73		46	27	58.70	
		95	63	66.32		40	22	55.00	
	11:1	37	15	40.54	40.52c	46	38	82.61	87.40a
		40	16	40.00		41	34	82.93	
		39	16	41.03		30	29	96.67	
6-BA	9:1	40	21	52.50	53.45a	39	27	69.23	73.10a
		49	25	51.02		46	36	78.26	
		44	25	56.82		39	28	71.79	
	10:1	105	77	73.33	70.79b	42	26	61.90	58.53b
		99	72	72.73		46	27	58.70	
		95	63	66.32		40	22	55.00	
	11:1	36	17	47.22	52.11a	53	38	71.70	68.71a
		46	25	54.35		47	30	63.83	
		42	23	54.76		51	36	70.59	

3 讨论与结论

前人研究结果表明,油菜离体培养再生频率与品种、外植体类型、苗龄、预培养时间、2,4-D 浓度、生长素(NAA)和细胞分裂素(6-BA)的比值都有密切的关系<sup>[15-16,21]</sup>,本研究是在前人研究的基础上开展的,试验中,培养基中其他必要成分,如 AgNO<sub>3</sub> 和 GA<sub>3</sub> 等的添加均参照其他研究者的经验<sup>[5,13,15]</sup>,试验条件的设定也比对前人的结果。

本研究表明,不同油菜基因型的离体培养再生频率存在显著差异,Westar 的再生频率显著大于中双 11 号和宁油 18 号,并且子叶柄的再生频率普遍高于下胚轴。推测可能由于不同的基因型对愈伤组织的形成产生一定的影响,从而导致再生频率的差异。子叶柄与下胚轴再生频率存在差异的原因在于,相对于下胚轴,子叶柄有子叶在培养初期为其提供营养,并且子叶中所含的内源激素对切口处细胞分化与再生具有一定的协调促进作用,子叶柄的切割伤口也远小于下胚轴,

因此子叶柄具有较强的再生能力。研究中笔者还发现,在芽诱导培养过程中,应确保子叶柄插入培养基中而子叶仍保留在培养基的上方,待培养10 d左右,转到继代培养基时,再切除子叶,这样更有利于芽的分化。

苗龄的长短对外植体的再生频率产生显著差异,本研究结果表明,苗龄4 d的子叶柄再生频率最高,与下胚轴得到的结果相似。预培养基中的2,4-D有刺激外植体切口处膨大的作用,研究发现,预培养时间的长短对子叶柄没有显著影响,而对下胚轴再生频率则存在影响,预培养2 d处理的再生频率显著大于3 d,与1 d的差异不显著。苗龄和预培养试验的结果与杜坤等的结论<sup>[5]</sup>存在差异。

植物生长调节剂对外植体形成愈伤组织,进而分化成芽具有重要意义<sup>[19-20]</sup>。在植物离体培养的过程中,植物本身的内源激素水平会不断发生变化;分化培养基加入的植物生长调节剂(6-BA和NAA)也直接影响和改变着外植体内源激素的水平,而且6-BA与NAA之间也可能相互影响。内源激素和外源激素之间的相互影响,与愈伤组织的形成和芽的诱导具有密切关系<sup>[22-24]</sup>。本研究表明,子叶柄在6-BA与NAA含量的比值为10:1时,其再生频率显著大于其他2个水平,而下胚轴的结果却相反,推测可能是因为该比例不适于下胚轴的分化,上述结果与杨长友等的试验结果<sup>[15]</sup>相似,下胚轴对外源激素配比较敏感,当6-BA/NAA为10:1时抑制了下胚轴愈伤组织的活性,具体原因还有待进一步研究。

再生芽的诱导过程中,出现大量的玻璃化再生苗,这种再生苗,生长迟缓,叶片厚、呈深绿色,含水量较大,透明或半透明状,叶片绿化作用小,并且慢慢会黄化,直至死亡,但通过适当处理,可以使玻璃化现象慢慢变弱,最后转化为正常植株,该方面结果已申请国家发明专利。本研究结果进一步优化了油菜离体培养条件,获得了最适合的离体培养再生体系,外植体再生频率最高达到96.73%,显著高于其他研究结果,为进一步利用转基因技术获得预期优良性状的油菜新种质奠定了基础。

## 参考文献:

- [1] Ben Ghnaya A, Charles G, Branchard M. Rapid shoot regeneration from thin cell layer explants excised from petioles and hypocotyls in four cultivars of *Brassica napus* L. [J]. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 2008, 92(1): 25-30.
- [2] Maheshwari P, Selvaraj G, Kovalchuk I. Optimization of *Brassica napus* (canola) explant regeneration for genetic transformation [J]. New Biotechnology, 2011, 29(1): 144-155.
- [3] Tang G X, Zhou W J, Li H Z, et al. Medium, explant and genotype factors influencing shoot regeneration in oil seed *Brassica* spp. [J]. Journal of Agronomy and Crop Science, 2003, 189(2): 351-358.
- [4] 管伟萍, 肖弥彰, 王国槐. 油菜作为生物柴油原料的研究进展

- [J]. 作物研究, 2006, 20(增刊1): 453-455.
- [5] 杜坤, 范芸, 吴冕, 等. 提高甘蓝型油菜下胚轴愈伤组织诱导率的研究 [J]. 扬州大学学报: 农业与生命科学版, 2012, 33(2): 58-61.
- [6] 傅荣昭. 植物遗传转化技术手册 [M]. 北京: 中国科学技术出版社, 1994.
- [7] Voelker T A, Worrell A C, Anderson L, et al. Fatty acid biosynthesis redirected to medium chains in transgenic oilseed plants [J]. Science, 1992, 257(566): 72-74.
- [8] Jones A, Davies H M, Voelker T A. Palmitoyl-acyl carrier protein (ACP) thioesterase and the evolutionary origin of plant acyl-ACP thioesterases [J]. The Plant Cell, 1995, 7(3): 359-371.
- [9] 王景雪, 赵福永, 徐培林, 等. 油菜转抗草甘膦、抗虫基因获得双抗植株 [J]. 遗传学报, 2005, 32(12): 1293-1300.
- [10] 韩德俊, 陈耀锋, 李春莲, 等. 转甜菜碱醛脱氢酶基因油菜的获得及其耐盐性研究 [J]. 干旱地区农业研究, 2007, 25(4): 6-11.
- [11] 付绍红, 张汝全, 牛应泽. Floral-dip 转化法将 *PEPC* 基因 *ihpRNA* 干扰表达载体导入甘蓝型油菜 [J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2009, 25(8): 764-769.
- [12] 夏鸿亮, 汪洪. 沪油16号油菜的组织培养和植株再生 [J]. 种子, 2011, 30(10): 92-93.
- [13] 周晓馥, 吕杰, 苗璐, 等. 紫花苜蓿组织培养体系的建立及其遗传转化 [J]. 生物技术通报, 2013(4): 63-68.
- [14] 张立军, 赵成昊, 葛超. 玉米再生体系建立及其影响因素的研究 [J]. 玉米科学, 2008, 16(2): 77-79, 87.
- [15] 杨长友, 袁中厚, 郑小敏, 等. 甘蓝型油菜高效离体再生体系的建立 [J]. 生物技术通报, 2013(1): 111-115.
- [16] 刘晓庆, 沈源, 蔡小宁, 等. 甘蓝型油菜下胚轴离体培养再生植株研究 [J]. 安徽农业科学, 2008, 36(31): 13547-13548, 13582.
- [17] 田志宏, 孟金陵. 甘蓝型油菜原生质体培养及植株再生的研究 [J]. 中国油料作物学报, 2002, 24(2): 10-13.
- [18] 王仙萍, 沈奇, 曾章丽, 等. 油菜组织培养过程及常见问题研讨 [J]. 耕作与栽培, 2012(4): 59-60.
- [19] 王景雪, 孙毅, 崔贵梅. 在油菜组织培养中激素及基因型对下胚轴分化的影响 [J]. 中国油料作物学报, 2000, 22(1): 11-13.
- [20] 孙洁, 黄团, 李加纳, 等. 农杆菌培养方式和预培养基激素配比对甘蓝型油菜下胚轴转化效应分析 [J]. 西南大学学报: 自然科学版, 2007, 29(12): 49-53.
- [21] 刘海燕, 隆小华, 刘兆普. 南盐油1号油菜的组织培养及植株再生研究 [J]. 江苏农业科学, 2010(3): 59-61.
- [22] 张悦, 张正海, 李爱民, 等. 优质观赏百合品种“索邦”愈伤组织培养研究 [J]. 江苏农业科学, 2015, 43(8): 49-51.
- [23] 苏慧慧, 韩兴杰, 李同建, 等. 三叶木通下胚轴愈伤组织诱导及分化 [J]. 江苏农业科学, 2015, 43(7): 50-52.
- [24] 刘思言, 高玮, 夏海丰, 等. 植物激素对大豆愈伤组织诱导和继代培养的影响 [J]. 江苏农业科学, 2014, 42(4): 40-42.