

# 不同培养基对红心杉组培苗增殖及其生理的影响

覃林海<sup>1</sup>, 韦素婕<sup>2</sup>, 王芳<sup>1</sup>, 蒋书华<sup>2</sup>, 黄建国<sup>1</sup>, 徐圆圆<sup>2</sup>, 杨梅<sup>2\*</sup>

(1. 广西国有维都林场, 广西 来宾 546100; 2. 广西大学 林学院, 广西 南宁 530005)

**摘 要:**以广西优良红心杉单株组培苗为试验材料, 采用  $L_9(3^3)$  正交试验设计研究不同基本培养基、TDZ、香蕉泥组合及其浓度对红心杉增殖及其生理的影响, 并探讨其增殖生长与叶绿素、可溶性糖、游离脯氨酸含量及抗氧化酶活性间的关系, 为优化红心杉无性系组培苗增殖培养条件提供参考。结果表明:基本培养基是影响红心杉组培苗增殖系数、叶绿素、可溶性糖含量的主要因子, TDZ 是影响红心杉组培苗游离脯氨酸含量、SOD、POD、PPO 活性的主要因子;红心杉组培苗的增殖系数随着基本培养基中大量元素浓度的增加呈上升趋势;随着基本培养基中大量元素、TDZ 浓度的增加, 叶绿素、可溶性糖、游离脯氨酸含量、抗氧化酶活性总体均呈现出下降趋势, 适当添加香蕉泥有利于红心杉组培苗叶绿素、可溶性糖、游离脯氨酸的积累及 POD、PPO 活性的提高;  $MS+TDZ\ 0.2\ mg \cdot L^{-1}+香蕉泥\ 100\ mg \cdot L^{-1}$  是较适宜红心杉组培苗增殖生长的培养基, 增殖系数与可溶性糖、游离脯氨酸含量、POD、CAT 活性间呈正向相关, 与叶绿素含量、PPO、SOD 活性间呈显著正相关。

**关键词:**红心杉;组培苗;增殖;生理

**中图分类号:**S723.139      **文献标志码:**A      **文章编号:**1001-7461(2017)03-0122-06

Effects of Different Media on the Seedling Growth and Physiology in *Cunninghamia lanceolata*

QIN Lin-hai<sup>1</sup>, WEI Su-jie<sup>2</sup>, WANG Fang<sup>1</sup>, JIANG Shu-hua<sup>2</sup>, HUANG Jian-guo<sup>1</sup>, XU Yuan-yuan<sup>2</sup>, YANG Mei<sup>2\*</sup>

(1. Weidu Forest Farm, Laibin, Guangxi 546100, China; 2. College of Forestry, Guangxi University, Nanning, Guangxi 530004, China)

**Abstract:** Effects of different basic media, thidiazuron (TDZ) concentration, amount of compounded banana mud added in the medium on the seedling growth and physiology of *Cunninghamia lanceolata* were studied by using  $L_9(3^4)$  orthogonal experimental design, with the excellent clones of *C. lanceolata* tissue culture seedlings. To investigate the relationship between seedling growth, the content of chlorophyll, soluble sugar, free proline content and enzyme activity were measured to provide a reference for the optimization of *C. lanceolata* multiplication culture. The results showed the basic medium was the main factor affecting the multiplication ratio, chlorophyll content and soluble sugar content, while the TDZ was the main factor affecting the proline content, SOD, POD, PPO activity of *C. lanceolata* seedlings. The multiplication ratio increased with the concentration of large elements in the basic medium. With the increase of large elements in the basic medium and TDZ concentration, the multiplication ratio and chlorophyll, soluble sugar, free proline content and antioxidant enzyme activity showed a trend of decrease. Appropriate addition of banana mud was conducive to the accumulation of chlorophyll, soluble sugar, free proline and the addition increased the POD and PPO activity. The best growth medium for the seedling growth of *C. lanceolata* was  $MS+TDZ\ 0.2\ mg \cdot L^{-1}+banana\ mud\ 100\ mg \cdot L^{-1}$ . There was positive correlations between the multiplication ratio and soluble sugar, free proline content, POD, CAT activity, and significant positive correlations be-

收稿日期:2016-09-14    修回日期:2016-11-30  
基金项目:广西科学研究与技术开发计划项目(桂科能 13278008);广西高校科学技术研究项目(2013LX011)。  
作者简介:覃林海,男,工程师,研究方向:林木遗传育种。E-mail:254779847@qq.com  
\*通信作者:杨梅,女,教授,博士,研究方向:森林培育。E-mail:fjyangmei@126.com

tween the multiplication ratio and the chlorophyll content,PPO,SOD activity.

**Key words:***Cunninghamia lanceolata*; tissue culture seedling; multiplication; physiology

红心杉是杉木(*Cunninghamia lanceolata*)的特殊变异类型,其抗逆性、适应性较强,生长较快,树干圆直,纹理细密,红心比率高、色泽独特,是我国南方重要的速生用材树种,广泛分布于我国亚热带地区<sup>[1]</sup>。噻二唑苯基脲(thidiazuron,TDZ)是一种人工合成的具有植物生长素和细胞分裂素双重作用化合物<sup>[2]</sup>,近年来应用在苹果、槭树、树莓、榕树植物组织培养中<sup>[3]</sup>。香蕉泥等天然添加物中含有氨基酸、植物生长调节物质、酶等有机复杂成分,对细胞的增殖有明显促进作用<sup>[4]</sup>。关于红心杉组织培养的研究不断增多,江青梅<sup>[5]</sup>等研究指出,1/2 MS+BA 1.5 mg·L<sup>-1</sup>+NAA 0.5 mg·L<sup>-1</sup>+适量有机物有利于陈山红心杉增殖培养,增殖系数可达 4.5;MS+6-BA 0.5 mg·L<sup>-1</sup>+2,4-D 1.0 mg·L<sup>-1</sup>有利于陈山红心杉胚性愈伤组织的培养<sup>[6]</sup>。MS+6-BA 0.6 mg·L<sup>-1</sup>+IBA 0.3 mg·L<sup>-1</sup>+KT 1.0 mg·L<sup>-1</sup>是较适宜广西红心杉增殖培养的生长调节剂组合,茎段增殖倍数达 4.55<sup>[7]</sup>。用于红心杉组织培养的植物生长调节剂主要有 IBA、6-BA、NAA、KT 等,而应用 TDZ、天然复合物香蕉泥等对红心杉进行增殖培养仍较少,不同培养基对红心杉组培苗增殖及生理生化的影响未见报道,本试验采用 L<sub>9</sub>(3<sup>3</sup>)正交试验设计探讨不同基本培养基、TDZ、香蕉泥组合及其浓度对红心杉增殖生长的影响,研究增殖生长与叶绿素含量、可溶性糖含量、游离脯氨酸含量及超氧化物歧化酶(SOD)活性、过氧化物酶(POD)、多酚氧化酶(PPO)、过氧化氢酶(CAT)活性等生理生化指标间的关系,以筛选红心杉无性系组培苗增殖培养基,优化红心杉无性系组培苗增殖培养条件。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

试验材料为红心杉第 12 代组培瓶苗,外植体材料取自贺州市八步区大宁镇宫保村红心杉林分。

### 1.2 试验方法

1.2.1 试验设计 采用 L<sub>9</sub>(3<sup>3</sup>)正交试验设计,设 3 个因素、3 个水平(表 1),附加活性炭(Ac)0.3 g·L<sup>-1</sup>,蔗糖(Su)30 g·L<sup>-1</sup>,琼脂(Ag)5.5 g·L<sup>-1</sup>,取 1.5 cm 长带芽茎段接种,每处理接种 20 瓶,每瓶接种 6 个茎段,3 次重复,在 25±1 ℃培养 30 d,光照 12 h·d<sup>-1</sup>,于处理的第 30 天取样测定相关指标。

1.2.2 指标的测定及方法

增殖系数=腋芽萌发总数/接种数 (1)

叶绿素含量采用丙酮乙醇提取法进行测定<sup>[8]</sup>,可溶性糖含量采用蒽酮浓硫酸法进行测定<sup>[9]</sup>,游离脯氨酸含量采用酸性茚三酮法进行测定<sup>[10]</sup>,SOD 活性采用氮蓝四唑比色法进行测定<sup>[11]</sup>,POD 活性采用愈创木酚法进行测定<sup>[12]</sup>,PPO 活性采用邻苯二酚法进行测定<sup>[13]</sup>,CAT 活性采用紫外吸收法进行测定<sup>[14]</sup>。

表 1 L<sub>9</sub>(3<sup>3</sup>)试验因素水平

Table 1 L<sub>9</sub>(3<sup>3</sup>) Factors and levels in orthogonal experiment design

水平	因素		
	基本培养基	TDZ/(mg·L <sup>-1</sup> )	香蕉泥/(g·L <sup>-1</sup> )
1	MS	0	0
2	3/4 MS	0.2	100
3	1/2 MS	0.4	200

### 1.3 数据处理方法

采用 Excel 2007 软件对数据进行统计及极差分析,运用 SPSS 21.0 软件进行方差分析和多重比较(Duncan 法),对各指标进行 Pearson 相关性分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同培养基对红心杉组培苗增殖系数的影响

不同培养基处理下红心杉组培苗的增殖系数极差分析表明,各因素对增殖系数影响的大小次序为基本培养基>香蕉泥>TDZ,红心杉组培苗的增殖系数随着基本培养浓度的增加呈上升趋势,TDZ、香蕉泥对增殖系数的影响不大,处理 2(MS+0.2 mg·L<sup>-1</sup>+香蕉泥 100 mg·L<sup>-1</sup>)为最优组合,其增殖系数极显著大于其他处理,为 2.72(表 2)。

表 2 不同培养基对红心杉组培苗增殖系数的影响

Table 2 Effect of different culture media on multiplication ratio of *C. lanceolata* seedlings

处理	基本培养基	TDZ/(mg·L <sup>-1</sup> )	香蕉泥/(g·L <sup>-1</sup> )	增殖系数
1	MS	0	0	2.15±0.05 cC
2	MS	0.2	100	2.72±0.08 aA
3	MS	0.4	200	1.95±0.05 dD
4	3/4 MS	0	100	2.45±0.05 bB
5	3/4 MS	0.2	200	1.95±0.05 dD
6	3/4 MS	0.4	0	1.85±0.05 deDE
7	1/2 MS	0	200	1.75±0.05 efE
8	1/2 MS	0.2	0	1.72±0.08 fE
9	1/2 MS	0.4	100	1.80±0.05 efE
R增殖系数	0.52	0.26	0.44	

注:不同大、小写字母表示不同处理间在 0.01、0.05 水平上差异显著,下同。

## 2.2 不同培养基对红心杉组培苗叶绿素、可溶性糖、游离脯氨酸含量的影响

基本培养基是影响红心杉组培苗叶绿素、可溶性糖含量的主要因子,TDZ 是影响红心杉组培苗游离脯氨酸含量的主要因子;基本培养基对红心杉组培苗叶绿素、可溶性糖含量的影响较大,且叶绿素、

可溶性糖、游离脯氨酸含量随基本培养基浓度的增加呈下降趋势,处理 7(1/2 MS+香蕉泥 200 mg · L<sup>-1</sup>)下红心杉组培苗叶绿素含量最高,为 2.53 mg · g<sup>-1</sup>,显著大于其他处理,处理 1(MS)下红心杉组培苗可溶性糖、游离脯氨酸含量达到最大,分别为 33.84、5.49 mg · g<sup>-1</sup>(表 3)。

表 3 不同培养基对红心杉组培苗叶绿素、可溶性糖、游离脯氨酸含量的影响

Table 3 Effect of different culture media on chlorophyll, soluble sugar, free proline contents of *C. lanceolata* seedlings

处理	基本培养基	TDZ /(mg · L <sup>-1</sup> )	香蕉泥 /(g · L <sup>-1</sup> )	ω(叶绿素) /(mg · g <sup>-1</sup> )	ω(可溶性糖) /(mg · g <sup>-1</sup> )	ω(游离脯氨酸) /(mg · g <sup>-1</sup> )
1	MS	0	0	1.81±0.11efFG	33.84±4.57aA	5.49±0.01aA
2	MS	0.2	100	1.71±0.05fG	28.41±1.37abcABC	5.35±0.01fE
3	MS	0.4	200	1.91±0.05deEF	28.96±2.97abcABC	5.46±0.01bB
4	3/4 MS	0	100	2.45±0.13abAB	33.47±3.37aAB	5.47±0.02abAB
5	3/4 MS	0.2	200	2.31±0.03bBC	33.02±9.67abAB	5.43±0.01cC
6	3/4 MS	0.4	0	1.99±0.08dDEF	23.11±1.19cdBC	5.38±0.01deD
7	1/2 MS	0	200	2.53±0.09aA	25.86±0.56bcdABC	5.40±0.02dCD
8	1/2 MS	0.2	0	2.16±0.09cCD	20.73±0.72dC	5.38±0.01eDE
9	1/2 MS	0.4	100	2.03±0.07cdDE	20.68±2.21dC	5.39±0.01deD
R <sub>叶绿素</sub>	0.44	0.28	0.26			
R <sub>可溶性糖</sub>	7.98	6.81	3.38			
R <sub>游离脯氨酸</sub>	0.04	0.07	0.02			

## 2.3 不同培养基对红心杉组培苗抗氧化酶活性的影响

TDZ 是影响红心杉组培苗 SOD、POD、PPO 活性的主要因子,基本培养基是影响红心杉组培苗 CAT 活性的主要因子;不同处理间,各种抗氧化酶活性相差较大,处理 1(MS)下红心杉组培苗 SOD

活性达到最大,为 321.17 U · min<sup>-1</sup> · g<sup>-1</sup>,与其他处理间存在极显著性差异,POD 活性在处理 4(3/4 MS+香蕉汁 100 g · L<sup>-1</sup>)下达到最大,PPO 活性在处理 5(3/4 MS+TDZ 0.2 mg · L<sup>-1</sup>+香蕉汁 200 g · L<sup>-1</sup>)下达到最大,CAT 活性在处理 3(MS+TDZ 0.4 mg · L<sup>-1</sup>+香蕉汁 200 g · L<sup>-1</sup>)下达到最大(表 4)。

表 4 不同培养基对红心杉组培苗抗氧化酶活性的影响

Table 4 Effect of different culture media on antioxidant enzyme activity of *C. lanceolata* seedlings

处理	基本培养基	TDZ /(mg · L <sup>-1</sup> )	香蕉泥 /(g · L <sup>-1</sup> )	SOD 活性 /(U · min <sup>-1</sup> · g <sup>-1</sup> )	POD 活性 /(U · min <sup>-1</sup> · g <sup>-1</sup> )	PPO 活性 /(U · min <sup>-1</sup> · g <sup>-1</sup> )	CAT 活性 /(U · min <sup>-1</sup> · g <sup>-1</sup> )
1	MS	0	0	321.17±3.21aA	71.67±4.16gF	1047.89±18.74bB	191.42±5.13aA
2	MS	0.2	100	292.56±6.48bB	86.33±4.51gF	803.11±10.84fF	121.42±1.66bcBC
3	MS	0.4	200	228.93±6.79fgEF	753.00±46.49bB	811.33±9.26fF	132.67±9.274bB
4	3/4 MS	0	100	244.11±3.08dD	944.00±20.07aA	933.56±6.06cC	104.58±4.86cdCD
5	3/4 MS	0.2	200	233.43±9.99efDEF	160.00±11.00fE	1 115.78±4.86aA	114.58±14.26cBCD
6	3/4 MS	0.4	0	241.44±4.18deDE	255.33±21.55eD	859.78±23.83eE	93.83±18.82dD
7	1/2 MS	0	200	267.89±6.43cC	494.33±4.04dC	922.22±2.22cdCD	117.25±4.02bcBC
8	1/2 MS	0.2	0	221.86±1.19gF	543.20±30.24cC	901.00±12.89dD	29.47±3.93fE
9	1/2 MS	0.4	100	207.70±5.25hG	183.43±3.00fE	853.07±7.37eE	48.93±6.38eE
R <sub>SOD活性</sub>	48.40	51.69	18.07				
R <sub>POD活性</sub>	149.44	240.16	179.04				
R <sub>PPO活性</sub>	82.26	126.50	86.53				
R <sub>CAT活性</sub>	83.28	49.26	29.86				

## 2.4 增殖系数与生理指标相关性分析

增殖系数与可溶性糖、游离脯氨酸含量、POD、CAT 活性间存在正向相关关系,与叶绿素含量、PPO、SOD 活性间存在正向相关关系,相关关系均

为达到显著水平;可溶性糖含量与游离脯氨酸含量、CAT 活性,POD 活性与 CAT 活性间均存在显著正相关关系(表 5)。

表 5 红心杉组培苗增殖系数与生理指标间的相关系数

Table 5 Correlation coefficient between proliferation coefficient and physiological indexes of *C. lanceolata* tissue culture seedling

指标	增殖系数	叶绿素含量	可溶性糖含量	游离脯氨酸含量	POD 活性	PPO 活性	SOD 活性	CAT 活性
增殖系数	1							
叶绿素总含量	−0.336	1						
可溶性糖含量	0.569	0.052	1					
游离脯氨酸含量	0.072	0.133	0.729 *	1				
POD 活性	0.535	−0.349	0.532	0.223	1			
PPO 活性	−0.036	0.523	0.081	0.352	−0.387	1		
SOD 活性	−0.121	0.360	0.574	0.506	−0.230	−0.239	1	
CAT 活性	0.414	−0.271	0.792 *	0.610	0.797 *	−0.188	0.351	1

注: \* : $P<0.05$ 。

3 结论与讨论

不同类型培养基的组成差异很大,对植物的生长影响较大<sup>[15]</sup>,MS 培养基是植物组织培养中最为常用的基本培养基之一,其内含大量元素和微量元素、有机元素、铁,在植物生长发育及光合作用、呼吸作用、能量代谢等重要生理过程中起着至关重要的作用<sup>[16]</sup>。本试验中,基本培养基是影响红心杉组培苗增殖系数、叶绿素、可溶性糖含量的主要因子,其增殖系数随着基本培养基中大量元素含量的增加呈上升趋势,而叶绿素、可溶性糖、游离脯氨酸含量则呈下降趋势,说明基本培养基中大量元素含量高,红心杉组培苗可利用的养分较多,可促进其体内叶绿素、可溶性糖、游离脯氨酸的利用,使其增殖生长加快。

植物生长调节剂在组织培养中起着重要的调节作用。TDZ 是一种人工合成的植物生长调节剂,具有生长素和细胞分裂素双重作用,对木本植物具有突出效果<sup>[17]</sup>。TDZ 具有很强的类细胞分裂素活性,对愈伤组织的形成、胚或不定芽的产生有强烈的促进作用,可代替 6-BA 和 2iP 等细胞分裂素用于离体培养的建立和不易繁殖物种的增殖培养<sup>[18-20]</sup>,与其他植物生长调节剂相似,具有一定的作用范围,表现出低浓度促进高浓度抑制,在红掌<sup>[21]</sup>、杜鹃<sup>[22]</sup>、枣树<sup>[23]</sup>、香椿<sup>[23]</sup>的植物组织培养中均有相似表现。TDZ 是影响红心杉组培苗游离脯氨酸含量、SOD、POD、PPO 活性的主要因子。适宜种类及浓度的细胞分裂素可诱导叶绿体中与光合作用有关的多肽的形成,提高可溶性糖和游离脯氨酸含量<sup>[24]</sup>,外施 TDZ 可使铁皮石斛内源多胺代谢发生变化,有利于花芽的形态建成<sup>[25]</sup>;适量 TDZ 可提高喜树愈伤组织叶绿素含量<sup>[2]</sup>;TDZ 可抑制离体培养桑树叶片的脂质过氧化作用和 POD 的活性,阻止叶绿素的降解,延缓叶片的衰老,提高其再生效率<sup>[17]</sup>。添加外源 NAA、IBA 等生长素可影响大花序桉体内 POD、

IAAO 和 PPO 等酶活性的变化,3 种氧化酶相互作用,使细胞朝着有利于生根的方向发展<sup>[26]</sup>。随着 TDZ 浓度的增加,增殖系数及叶绿素、可溶性糖、游离脯氨酸含量、抗氧化酶活性总体呈现出下降趋势,说明 TDZ 在 0.2 mg · L<sup>−1</sup>时就有可能抑制红心杉组培苗增殖生长。通常细胞分裂素对组培苗的影响是通过影响其酶的活性来实现的<sup>[27-28]</sup>,TDZ 浓度过高可使红心杉组培苗 SOD 等抗氧化酶及与其细胞分化有关的各种酶的活性下降,影响了红心杉组培苗体内的叶绿素、可溶性糖、游离脯氨酸等有机物的积累,不利用其增殖。

香蕉泥、椰子汁、苹果汁等是一类含有氨基酸、激素和酶等有机物及成分较为复杂的天然复合物,它们对细胞和组织的增殖和分化有明显的促进作用<sup>[29-30]</sup>。在培养基中添加适当的香蕉泥可促进铁皮石斛类原球茎的分化<sup>[4]</sup>,促进兰科植物的生根<sup>[31]</sup>。香蕉泥对红心杉组培苗增殖生长的影响不明显,但是随着香蕉汁浓度的增加,红心杉组培苗的叶绿素、可溶性糖、游离脯氨酸含量及 POD、PPO 活性都有所提高,这可能是因为香蕉泥富含各种营养物质和天然植物激素,有利于苗木吸收与利用,促进其芽、叶片等的生长,同时,其体内叶绿素、可溶性糖、游离脯氨酸含量增加<sup>[32-33]</sup>。

在植物组织培养中不同浓度的细胞分裂素与生长素的对比对植物组织的形态分化起着主导作用,细胞分裂素有利于外植体的增殖与分化,生长素有利于根的分化,两者比值高有利于芽的产生<sup>[34]</sup>。TDZ 结合 NAA 培养较单独应用 TDZ 相比,喜树愈伤组织叶绿素的积累及愈伤组织生长明显提高<sup>[2]</sup>,BA 与 IBA 结合使用有利于树莓组培苗增殖生长<sup>[35]</sup>。MS+TDZ 0.2 mg · L<sup>−1</sup>+香蕉泥 100 mg · L<sup>−1</sup>处理下,红心杉组培苗增殖系数为 2.72,极显著大于其他处理,而与江香梅等在红心杉增殖培养中利用 BA、NAA 等植物生长调节剂的增殖效果相比,仅在培养基中使用 TDZ 不利于其增殖生长,所

以后续研究可在使用 TDZ 与香蕉泥的基础上添加适当浓度的 IBA、6-BA、KT 与 NAA 等其他植物生长调节剂,以寻找更适宜红心杉增殖生长的培养基。

参考文献:

[1] 徐圆圆,杜佩莲,刘旭庆,等. 不同处理对红心杉微扦插苗木生根及叶绿素荧光参数的影响[J]. 北华大学学报:自然科学版, 2016,17(4):530-536.  
XU Y Y, DU P L, LIU X Q, *et al.* Effects of various stroma and root agent on seedling rooting and chlorophyll fluorescence parameters in *Cunninghamia lanceolata* [J]. Journal of BeiHua University: Natural Science, 2016, 17(4): 530-536. (in Chinese)

[2] 康大力,张洪利,莫小路,等. TDZ 对喜树愈伤组织生长及色素积累的影响[J]. 生物技术, 2012,22(1):83-85.  
KANG D L, ZHANG H L, MO X L, *et al.* Effect of TDZ on growth and pigment accumulation in *Camptotheca acuminata* Decne. tissue cultures [J]. Biotechnology, 2012, 22(1): 83-85. (in Chinese)

[3] 陈宗礼,齐向英,张向前,等. TDZ 和 6-BA 对枣树继代培养的影响[J]. 西北农业学报, 2006, 15(3): 162-165.  
CHEN Z L, QI X Y, ZHANG X Q, *et al.* Effect of TDZ and 6-BA on subculture of *Zizyphus jujuba* Mill[J]. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica, 2006, 15(3): 162-165. (in Chinese)

[4] 方中明,白根祥,曾祺森,等. 天然添加物对铁皮石斛类原球茎增殖、分化及生根的影响[J]. 北方园艺, 2015 (21): 107-110.  
FANG Z M, BAI G X, ZENG Q S, *et al.* Effect of natural additives on protocorm proliferation, differentiation and rooting of *Dendrobium* of ficinale [J]. Northern Horticulture, 2015 (21): 107-110. (in Chinese)

[5] 江香梅,戴小英,彭锦云,等. 陈山红心杉优良无性系组培快速繁殖技术研究[J]. 江西林业科技, 2007 (6): 2-3.  
JIANG X M, DAI X Y, PENG J Y, Tissue culture and rapid propagation of fine clone for *Cunninghamia lanceolata* (Chenshan-red fir) [J]. Jiangxi Forestry Science and Technology, 2007 (6): 2-3. (in Chinese)

[6] 黄宝祥,符树根,陈山红心杉胚性愈伤组织的培养[J]. 江西林业科技, 2008 (6): 21-22.

[7] 杨家鸿. 红心杉组织培养及微扦插繁育技术的研究[D]. 南宁: 广西大学, 2015.

[8] 熊庆娥. 植物生理学试验教程[M]. 成都: 四川科学技术出版社, 2003.

[9] 张立军,樊金娟. 植物生理学试验教程[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2007.

[10] 刘红云,梁宗锁,刘淑明,等. 持续干旱及复水对杜仲幼苗保护酶活性和渗透调节物质的影响[J]. 西北林学院学报, 2007, 22 (3): 55-59.  
LIU H Y, LIANG Z S, LIU S M, *et al.* Effect of progressive drying and rewatering on protective enzyme activities and osmoregulatory molecules in leaves of *Eucommia ulmoides* seedling[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2007, 22 (3): 55-59. (in Chinese)

[11] 刘忠霞,刘建朝,胡景江. 干旱胁迫对苹果树苗活性氧代谢及

渗透调节的影响[J]. 西北林学院学报, 2013, 28(2): 15-19.  
LIU Z X, LIU J C, HU J J. Effects of drought stress on active oxygen metabolism and contents of osmotic adjustment substances in the leaves of apple seedling[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2007, 22(3): 55-59. (in Chinese)

[12] 王瑞刚,陈少良,刘力源,等. 盐胁迫下 3 种杨树的抗氧化能力与耐盐性研究[J]. 北京林业大学学报, 2005, 27(3): 46-52.  
WANG R G, CHEN S L, LIU L Y, *et al.* Genotypic differences in antioxidative ability and salt tolerance of three poplars under saltstress[J]. Journal of Beijing Forestry University, 2005, 27(3): 46-52. (in Chinese)

[13] 江萍,孙向宁. 华北落叶松酶活性及抗逆性机理研究[J]. 山西林业科技, 2004 (1): 11-13.

[14] 何文亮,黄承红,杨颖丽,等. 盐胁迫过程中抗坏血酸对植物的保护功能[J]. 西北植物学报, 2004, 24(12): 2196-2201.  
HE W L, HUANG CH H, YANG Y L, *et al.* Protective of ascorbic acid against salt stress [J]. Acta Botanica Boreali-occidentalia Sinica, 2004, 24(12): 2196-2201. (in Chinese)

[15] 王博,范桂枝,詹亚光. 不同培养基类型和植物生长调节剂配比对白桦愈伤组织中三萜积累的影响[J]. 林业科学, 2008, 44 (10): 153-158.  
WANG B, FAN G Z, ZHAN Y G. Effects of different medium types and plant growth regulator combination on accumulation of triterpenoids in birch (*Betula platyphylla*) calli[J]. Science Silvae Sinicae, 2008, 44(10): 153-158. (in Chinese)

[16] 崔广荣,何克勤,胡能兵,等. 微量元素及天然复合有机物对甜叶菊试管苗增殖和生长的影响[J]. 安徽科技学院学报, 2012, 26(4): 14-20.  
CUI G R, HE K Q, HU N B, *et al.* Effects of trace element and organic matter on propagation and growth of *Stevia Rebaudiana bertonii* shoots *in vitro* [J]. Journal of Anhui Science and Technology University, 2012, 26(4): 14-20. (in Chinese)

[17] 吴绪东,谢清忠,王彦文,等. 噻二唑苯基脲(TDZ)对离体培养桑树叶片的抗老化能力影响[J]. 蚕业科学, 2010, 36(4): 667-670.  
WU X D, XIE Q Z, WANG Y W, *et al.* Effects of thidiazuron (TDZ) on anti-aging activity of mulberry leaves cultured *in vitro* [J]. Science of Sericulture, 2010, 36(4): 667-670. (in Chinese)

[18] 聂王星,於丙军. TDZ 和 6-BA 对大豆子叶节再生体系中丛生芽诱导的效应[J]. 南京农业大学学报, 2012, 35(4): 130-134.  
NIE W X, YU B J. Effects of TDZ and 6-BA on inducing multiple shoots in soybean cotyledonary node regeneration system [J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 2012, 35(4): 130-134. (in Chinese)

[19] 朱丽芳,徐超,朱再标,等. TDZ 和 NAA 对老鸦瓣不定芽诱导和丛生芽增殖的影响[J]. 中国中药杂志, 2014, 39(16): 3030-3035.  
ZHU L F, XU CH, ZHU Z B, *et al.* Impact of TDZ and NAA on adventitious bud induction and cluster bud multiplication in *Tulipa edulis* [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2014, 39(16): 3030-3035. (in Chinese)

[20] PODWYSZYNSKA M, SOCHACKI D. Micropropagation of tulip: production of virus-free stock plant[J]. Poland: Humana Press, 2010.

[21] 张玉,李艳敏,张和臣,等. 蝴蝶兰叶片诱导类原球茎初探[J]. 河南农业科学,2012 (2):126-128,135.  
ZHANG Y,LI Y M,ZHANG H C,*et al.* Study on protocorn-like body induced from the leaves of *Plalaenopsis amabilis* [J]. Journal of Henan Agricultural Sciences,2012 (12):126-128,135. (in Chinese)

[22] 刘森,曹后男,宗成文,等. TDZ 对牛皮杜鹃叶片分化及继代增殖的影响[J]. 西北农业学报,2012,21(12):158-162.  
LIU M,CAO H N,ZONG C W,*et al.* Effect of TDZ on leaf differentiation and subculture multiplication of *Rhododendrom chrysanthum* Pall. [J]. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica,2012,21(12):158-162. (in Chinese)

[23] 张小红,张红燕,武军,等. TDZ 对香椿愈伤组织诱导及芽增殖生长等的影响[J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版,2002,30(5):35-39.  
ZHANG X H,ZHANG H Y,WU J,*et al.* Effect of TDZ on callus inducement and shoot growth in tissue culture of *Toona sinensis*[J]. Jour. of Northwest Sci-Tech Univ. of Agri. and For. :Nat. Sci. Ed. ,2002,30(5):35-39. (in Chinese)

[24] 王冬梅,黄学林,黄上志. 细胞分裂素类物质在植物组织培养中的作用基质[J]. 植物生理学通讯,1996,32(5):373-377.  
WANG D M,HUANG X L,HUANG S Z. The action mechanism of cytoklinns in plant tissue culture[J]. Plant Physiology Comunication,1996,32(5):373-377. (in Chinese)

[25] 黄作喜,陈熠,肖小君,等. TDZ 对铁皮石斛去根苗花芽形态建成中多胺含量变化的影响[J]. 植物研究,2012,32(1):120-123.  
HUANG Z X,CHEN Y,XIAO X J,*et al.* Effects of TDZ on polyamines concentration changes during the construction of floral-buds in derooted seedlings of *Dendrobium officinate* Kimuraet migo *in vitro* [J]. Bulletin of Botanical Research,2012,32(1):120-123. (in Chinese)

[26] 谭健晖,黄寿先. 大花序桉离体根培养过程中氧化酶活性分析[J]. 中南林业科技大学学报,2015,35(2):12-15.  
TAN J H,HUANG S X. Determination and analysis of oxidase activity in the course of in-vitro root cultures of *Eucalyptus cloeziana* [J]. Journal of Central South University of Forestry & Technology,2015,35(2):12-15. (in Chinese)

[27] KULAEVA O N. Cytokininaction on enzyme activities in plants [M]// SKOOG F. Plant Growth Substances. Berlin: Springer-Verlang,1979.

[28] 黄卓辉,魏家绵. 光合磷酸化偶联机制研究—Ⅷ. 6-苄氨基嘌呤对光合磷酸化的促进作用[J]. 植物生理学报,1984,10(2):161.  
HUANG Z H,WEI J M. Studies on the coupling mechanism of photophosphorylation Ⅷ. the stimulatory effect of 6-benzylaminopurine on photophosphorylation in chloroplasts isolated from spinach [J]. Acta Phytophysiology Sinica,1984,10(2):161. (in Chinese)

[29] 魏韩英,孟金玲,王芬,等. 植物生长调节物质及有机添加物对春兰根状茎增殖与分化的影响[J]. 东北林业大学学报,2010,38(12):40-42.  
WEI H Y,MENG J L,WANG F,*et al.* Effects of plant growth regulators and organic additives on multiplication and differentiation of rhizomes of *Cymbidium goeringii*[J]. Journal of Northeast Forestry University,2010,38(12):40-42. (in Chinese)

[30] 张超,张茜茜,楼楠男,等. 有机添加物对大花蕙兰原球茎及幼苗生长发育的影响[J]. 安徽农业科学,2009,37(19):8866-8868.  
ZHANG C,ZHANG X X,LOU N N,*et al.* Effects of the organic additives on protocorm and seedling growth of *Cymbidium*[J]. Journal of Anhui Ari. Sci. ,2009,37(19):8866-8868. (in Chinese)

[31] FANG Z M,HUANG W T,ZENG S J,*et al.* *In vitro* propagation of *Cymbidium nanutum* Y. S. Wu et S. C. Chen[J]. Propagation of Ornamental Plants,2011,11 (3):149-155.

[32] 陈尔. 铁皮石斛组培快繁技术的优化[D]. 长沙:中南林业科技大学,2015.

[33] 曾雷,胡德活,王润辉,等. 杉木优良无性系组织培养技术研究初报[J]. 广东林业科技,2009,25(6):64-69.  
ZENG L,HU D H,WANG R H,*et al.* A study on the technique of tissue culture on Chinese fir superior clones [J]. Guangdong Forestry Science and Technology,2009,25 (6):64-69. (in Chinese)

[34] ELISA C,LUCIA L,ORIANA S. Auxin synthesis-encoding transgene enhances grape fecundity[J]. Plant Physiol. ,2007,143 (4):1689-1694.

[35] 杨帆,张万博,朗贤波,等. 植物生长调节剂对树莓组培苗增殖生长的影响[J]. 延边大学农学学报,2014,36 (1):12-15.  
YANG F,ZHANG W B,LANG X B,*et al.* Effects of phytohormones on proliferation and growth of raspberry plantlets *in vitro* [J]. Journal of Agricultural Science Yanbian University,2014,36 (1):12-15. (in Chinese)