

4-松油醇型澳洲茶树组培生根技术研究

陈博雯¹,袁剑英²,覃子海¹,肖玉菲¹,张 烨¹,刘海龙^{1*}

(1.广西壮族自治区林业科学研究院,国家林业局 中南速生材繁育实验室,广西优良用材林资源培育重点实验室,广西 南宁 530002;
2.广西国有高峰林场,广西 南宁 530002)

摘 要:澳洲茶树(*Melaleuca alternifolia*)是一种新兴的短周期工业原料林树种,根据枝叶成分定向选育出的 4-松油醇型澳洲茶树更是具有极佳的生产应用前景。本研究首先通过单因素试验,确定了 NAA 和 IBA 2 种生长调节剂对 4-松油醇型澳洲茶树单芽生根具有促进作用;随后选择 WPM、B5、MS 作为基本培养进行培养基和生长调节剂的正交试验。结果表明,1/2 B5+NAA0.2 mg·L⁻¹+IBA0.5 mg·L⁻¹ 中生根率为 91.67%±2.72%,根系发育状况较好,整体生根效果最好。对正交试验结果直观分析发现,培养基因素是影响生根率的主要因素。按照极差推测的影响因素排序为培养基>NAA 浓度>IBA 浓度,其中最优方案为 1/2 B5+NAA0.2 mg·L⁻¹+IBA0.2 mg·L⁻¹,推测可以获得更好的生根效果。

关键词:澳洲茶树;组织培养;生根培养

中图分类号:S792.99 **文献标志码:**A **文章编号:**1001-7461(2017)04-0120-04

Media for *in vitro* Root Induction of 4-Terpinol Type *Melaleuca altemifolia*

CHEN Bo-wen¹,YUAN Jian-ying²,QIN Zi-hai¹,XIAO Yu-fei¹,ZHANG Ye¹,LIU Hai-long^{1*}

(1. Guangxi Forestry Research Institute, Key Laboratory of Central South Fast-growing Timber Cultivation of Forestry Ministry of China, Guangxi Key Laboratory of Superior Timber Trees Resource Cultivation, Nanning, Guangxi 530002, China;
2. Guangxi Gaofeng State-owned Forest Farm, Nanning, Guangxi 530002, China)

Abstract: *Melaleuca alternifolia* is a kind of short cycle tree species for industrial material. The 4-Terpinol type *M. ahemifolia* which was selected according to the chemical constituents has great application prospect. Based on the results of mono-factor experiment that NAA and IBA were the beneficial elements during rooting, an orthogonal experiment was performed with WPM, B5, and MS as media. The rooting rate was 91.67%±2.72% with in the medium of 1/2 B5 + NAA0.2 mg·L⁻¹+IBA0.5 mg·L⁻¹, which was the best for rooting. The culture medium was proposed the main factor influencing the rooting rate through the direct analysis of the orthogonal experiment. The order of factors affecting on the rooting rate was culture medium >NAA concentration >IBA concentration according to the range analysis, and the optimal scheme was 1/2 B5+NAA0.2 mg·L⁻¹+IBA0.2 mg·L⁻¹, which was expected to provide better rooting performance.

Key words: *Melaleuca ahemifolia*; tissue culture; rooting culture

澳洲茶树(*Melaleuca alternifolia*)原产于澳大利亚新南威尔士州沿海地带^[1],20 世纪 90 年代初引种到我国^[2],俗称茶树、茶油树。澳洲茶树枝叶中含有 4-松油醇、桉叶素、α-松油烯、γ-松油烯等多种

挥发性成分^[3-5],以其为原料提取的精油,俗称茶树油。茶树油除具有天然的芳香气味,可用作香料油外,其中的活性成分如 4-松油醇具有广谱的消炎、杀菌作用,特别是对真菌有显著的抑制作用^[6],因

收稿日期:2016-11-01 修回日期:2016-12-09

基金项目:国家林业局 948 项目(98-4-14);广西自然基金项目(2013GXNSFBA019094);广西林科院基本科研业务费(200905)。

作者简介:陈博雯,女,高级工程师,博士研究生,研究方向:林木遗传育种。E-mail:gfri_bwchen@163.com

* 通信作者:刘海龙,男,高级工程师,博士,研究方向:林木遗传育种。E-mail:50669291@qq.com

此,茶树油也被广泛用于医药、化妆品、保健品等领域,经济价值极高。

澳洲茶树具有萌芽力强、生长快等特点,种植后 1 a 即可采收枝叶提取精油,每年可收 1~2 次枝叶,经济效益优势明显^[7]。随着国内外对茶树油的需求量逐年增长,种植和加工澳洲茶树已成为一个新兴产业,我国广东、广西、福建、海南、云南、贵州等地都有大面积的澳洲茶树人工林种植^[1]。从最初的引种试验开始,广西林科院在澳洲茶树引种、栽培、选育领域的研究一致延续至今,选育出多个化学型的高生物量优良品种,其中 4-松油醇型澳洲茶树种苗需求最高^[8]。

由于澳洲茶树种子发芽率较低,且遗传分化明显,所以目前种苗培育大多使用扦插、组培等无性繁育技术^[9]。生根培养是组培育苗中的一个重要环节,生根率和根系状态直接影响苗木的移栽成活率和造林保存率,因此本研究对 4-松油醇型澳洲茶树生根培养技术进行优化试验,理清了影响生根效果的主次因素,并提出改进的生根培养技术方案,为澳洲茶树组培快繁产业化提供有力的技术支撑。

1 材料与方法

1.1 材料

4-松油醇型澳洲茶树无菌组培继代培养体系由本课题组建立并保存,选择第 16 代增殖培养中生长健壮、长度 1.5 cm 左右的单芽用于生根诱导试验。

1.2 试验方法

1.2.1 不同生长调节剂对生根的影响 设 4 个处理,以 1/2MS 为基本培养基,分别附加 0.5 mg · L⁻¹ 的 IAA、NAA、IBA 和 ABT,每个处理接种 30 瓶,每瓶接种 10 株单芽。接种后置于 28±2℃,光照强度为 1 000~2 500 lx,每天光照 12~14 h 条件下培养,15 d 后统计生根率,并用 SPSS V19.0 软件对数据进行分析。

1.2.2 培养基和生长调节剂正交试验 根据不同的培养基和生长调节剂设置 3 因素 3 水平的正交试验,按照 L₉(3⁴) 正交表设计方案,每个处理接种 30 瓶,每瓶接种 10 株单芽。接种后置于 28±2℃,光照强度 1 000~2 500 lx,每天光照 12~14 h 条件下培养,15 d 后统计生根率,并用 SPSS V19.0 软件对数据进行分析。试验设计如表 1。

2 结果与分析

2.1 不同生长调节剂对生根的影响

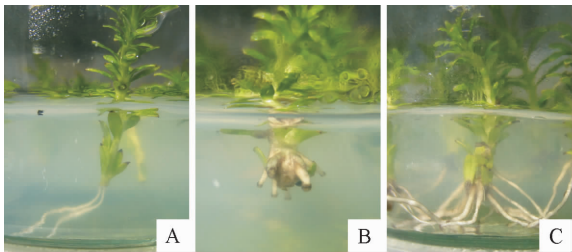
生根培养中常用的生长调节剂主要有 IAA、NAA、IBA 和 ABT 这 4 种,而不同植物对生长调节

表 1 培养基和生长调节剂的正交试验设计
Table 1 Orthogonal experimental design of culture medium and growth regulator

试验号	培养基	NAA /(mg · L ⁻¹)	IBA /(mg · L ⁻¹)
1	1/2 WPM	0.2	0.2
2	1/2 WPM	0.5	0.5
3	1/2 WPM	1.0	1.0
4	1/2 B5	0.2	0.5
5	1/2 B5	0.5	1.0
6	1/2 B5	1.0	0.2
7	1/2 MS	0.2	1.0
8	1/2 MS	0.5	0.2
9	1/2 MS	1.0	0.5

剂的敏感性不同,为此,以组培中广泛使用的 MS 培养基为基础设计试验,比较分析不同生长调节剂对澳洲茶树生根的影响。

在 15 d 的生根培养过程中观察各处理中的生根情况,发现接种后第 5 天 NAA 处理中的单芽萌发出根点,IBA 和 ABT 处理中也在第 7 天发现有根点冒出,而 IAA 处理中则在 10 d 之后才观察到有根系的萌发。观察比较发现根系可分为 3 种状态(图 1),IAA 的处理中根系条数较少,且每条根较细(图 1A),而 ABT 的处理中根系条数较多,但每条根在伸长至 0.3 cm 左右后不再继续伸长,而是随着培养时间的延长逐渐增粗(图 1B)。这 2 个处理的根系发育情况并不理想,根据经验推断这 2 种状态的根系在后续的移栽中很难获得高成活率。NAA 和 IBA 的处理中,根系条数和长度虽稍有差别,但整体状态都要好于其他 2 个处理(图 1C),差别在于 NAA 处理中的根系呈现为褐色,而 IBA 处理中的根系则为白色。



注:A. 根系条数较少,细、长;B. 根系条数较多,但难以继续伸长;C. 根系条数较多,伸长好。

图 1 生根培养中根系的不同状态

Fig. 1 Different states of root in rooting

在培养 15 d 后统计生根率,将各处理中的生根率用 SPSS 软件进行单因素 ANOVA 分析,表 2 中结果显示,NAA 和 IBA 的处理中生根率显著>其他 2 个处理,两者之间则差异不显著。这说明同样的激素浓度下,NAA 和 IBA 对澳洲茶树生根具有促进作用,而 IAA 和 ABT 的作用则不明显。

在生长调节剂的单因素试验中,参试的 4 个处理中生根率都较低,NAA 和 IBA 的处理中最高生根率也仅为 22%左右,推测除激素种类和浓度的影响之外,更主要的原因可能在于培养基的成分不适宜,培养基成分和生长调节剂的配比仍需改进。

表 2 不同生长调节剂对生根的影响

Table 2 Effects of different growth regulators on rooting		
生长调节剂种类	生根率 / %	生根状况
IAA	0.03±0.03a	平均 2 条根,平均根长 1.0 cm,较细,边缘发黑
NAA	22.00±2.56b	平均 4 条根,平均根长 1.0 cm,较粗,褐色
IBA	18.00±2.69b	平均 3 条根,平均根长 1.5 cm,较粗,白色
ABT	2.00±0.74a	平均 4 条根,平均根长 0.3 cm,较粗,黄白色

注:同列不同字母表示 $P=0.05$ 水平上差异显著。下同。

1.2.2 培养基和生长调节剂正交优化试验 选择 WPM、B5、MS 3 种常用的木本植物组培培养基作为因素之一,同时根据前述的试验结果,选择 NAA 和 IBA 2 种激素进行配比,设计正交试验来筛选适宜的生根培养基配方。

观察各处理的生根情况,在接种后第 5 天发现 1、2、4、5、6、7 号试验中都有根点冒出,但后续生长情况则各不相同。与生长调节剂单因素试验中类似,根

系的发育状况可分为 3 种类型(图 1)。其中 1 号根点较少,能伸长,但较细(图 1A);2、7 号中根点数量多,呈簇状,但不再继续伸长(图 1B);4、5、6 号中根数量平均为 6 条,根伸长较好,粗细适中,是较为理想的根系状态(图 1C),但截止 15 d 的观察期,其中 4 号的根系伸长状态要优于 5、6 号。8、9 号中在接种后 10 d 左右萌发出根点,数量多,伸长状况不好。

总结生根规律发现,生根状况整体上 B5 培养基>WPM 培养基>MS 培养基,说明低盐培养基,特别是较低的铵盐浓度,更利于澳洲茶树生根。在激素方面,各处理呈现出一致的规律,激素浓度越高,越不利于根系的伸长,而且会促进根增粗。

将各处理的生根率用 SPSS 软件进行单因素 ANOVA 分析,结果显示(表 3)大部分处理间都呈显著差异,3 个培养基上的生根率平均表现可以明显地观察到 B5>WPM>MS 的整体趋势。其中 B5 培养基基础上的 3 个处理生根率都比较高,试验结果中处理 5 取得了 97.73%±0.82%的最高生根率,但该处理中根系伸长的情况不佳。在实际应用中,生根培养需要综合衡量生根率和根系发育情况这 2 方面指标,处理 4 中生根率为 91.67%±2.72%,根系发育状况也较好,所以处理 4 的整体生根效果更为理想。

表 3 培养基和生长调节剂正交试验结果

Table 3 Results of orthogonal experiment of culture medium and growth regulator			
试验号	培养基和生长调节剂配比	生根率 / %	生根状况
1	1/2 WPM+NAA0.2+IBA0.2	76.67±2.85 d	平均 3 条根,平均根长 1.0 cm,较细,白色
2	1/2 WPM+NAA0.5+IBA0.5	49.67±2.77c	根点太多呈簇状,不伸长
3	1/2 WPM+NAA1.0+IBA1.0	0a	
4	1/2 B5+NAA0.2+IBA0.5	91.67±2.72e	平均 6 条根,平均根长 1.0 cm,白色
5	1/2 B5+NAA0.5+IBA1.0	97.73±0.82f	平均 6 条根,平均根长 0.5 cm,白色
6	1/2 B5+NAA1.0+IBA0.2	95.00±0.93ef	平均 6 条根,平均根长 0.5 cm,白色
7	1/2 MS+NAA0.2+IBA1.0	11.67±2.09b	根点太多呈簇状,不伸长
8	1/2 MS+NAA0.5+IBA0.2	2.00±1.00a	平均 7 条根,平均根长 0.2 cm,较粗,黄褐色
9	1/2 MS+NAA1.0+IBA0.5	0.671±0.46a	平均 7 条根,平均根长 0.2 cm,较粗,黄褐色

直观分析结果显示(表 4),在参试的 3 个因素中,培养基因素的极差最大,说明培养基是影响生根率的主要因素,这也与生根率的统计结果相一致。按照极差推测的影响因素排序为培养基>NAA 浓度>IBA 浓度,其中最优方案为 1/2 B5+NAA0.2+IBA0.2,该方案组合虽然并不在本次试验的处理之内,但与总结的生根率和生根状况规律相符合,推测可以获得更好的生根效果。

3 结论与讨论

氮素是培养基中一种重要的营养元素,一般以铵态氮和硝态氮 2 种形式供给,2 种氮源的代谢途

表 4 正交试验直观分析结果

Table 4 Visual analysis results of orthogonal experiment			
因素	培养基	NAA 浓度	IBA 浓度
水平 1	42.11	60.00	57.89
水平 2	94.67	49.67	47.34
水平 3	4.78	31.89	36.33
极差	89.89	28.11	21.56

径不同,对植物生长的影响也有差别。植物对 NH_4^+ 的吸收所耗能量< NO_3^- ,更易于吸收,但 NH_4^+ 在体内的积累后解除其毒害所需的能量则要高很多^[10]。 NO_3^- 的积累则对植物没有负面的影响,所以大多数植物偏好 NO_3^- ,对 NH_4^+ 的耐性较

小^[11]。NH₄⁺ 积累会降低植物的含水量和渗透势,不利于细胞的伸长和扩展^[10,12],作用在根部的明显特征就是强烈抑制根系的生长。有研究表明高 NH₄⁺ 胁迫下,水稻幼苗的种子根和侧根的伸长受到了显著的抑制^[13]。

在自然环境的土壤中 NH₄⁺ 含量比 NO₃⁻ 含量低 10~1 000 倍^[14],而培养基中 NH₄⁺ 比例则远高于这一水平。MS 培养基最初为培养烟草细胞而设计,广泛用于植物的器官花药、细胞和原生质体培养,其 NH₄⁺ 浓度较其他培养基为高;B5 培养基为培养大豆根系细胞而设计,特点是 NH₄⁺ 浓度较低,一般用于双子叶植物特别是木本植物组培;WPM 是一种用于木本植物组织培养的培养基,NH₄⁺ 浓度介于 MS 和 B5 之间^[15]。

本研究中发现,与激素浓度和配比相较,培养基是影响澳洲茶树生根的最主要因素,分析这 3 种培养基成分差别,发现发现其中 NH₄⁺ 的浓度有较大差别。结合生根效果分析,培养基中 NH₄⁺ 浓度越低,生根率和根系发育状况越好,说明较低的 NH₄⁺ 更适宜 4-松油醇型澳洲茶树生根,其中 1/2 B5 培养基是其最适宜的生根培养基。

通过比较不同生长调节剂对生根的影响,发现对 4-松油醇型澳洲茶树施用 NAA 和 IBA 能观察到生根促进作用。

NAA 和 IBA 是 2 种人工合成的生长调节剂,二者也经常混合施用,可以促进细胞分裂与扩大,诱导根系形成和发育^[16]。相比于 IAA 等天然植物激素,NAA 和 IBA 具有很多优势,比如性质稳定,移动性很小,效用持续时间长等,但两者有一个共同的缺点,在高浓度下都会促进植物内源乙烯的合成,造成植物器官的衰老等不利影响。从本研究的结果来看,澳洲茶树对激素的浓度敏感性较高,激素浓度的提高强烈的抑制了根系的伸长和发育,较低浓度的 NAA 和 IBA 才是生根的最优方案,因此在生产应用中,应保持较低的激素浓度。

通过本研究初步摸清了 4-松油醇型澳洲茶树的生根适宜条件,在正交试验中得到了生根率 91.67%±2.72%且根系发育良好的生根效果。在试验结果和数据分析的基础上,进一步提出 1/2 B5+NAA0.2 mg·L⁻¹+IBA0.2 mg·L⁻¹ 为优化的生根培养基,为澳洲茶树组培快繁产业化提供了有力的技术支撑。

参考文献:

[1] 高楠. 互叶白千层扦插育苗技术初探[J]. 福建林业科技, 2010, 37(3): 67-69.

GAO N. Preliminary study on technology of cuttage seedling-raising of *Melaleuca alternifolia*[J]. Journal of Fujian Forestry Science And Technology, 2010, 37(3): 67-69. (in Chinese)

[2] 梁忠云, 李桂珍, 陈海燕, 等. 白千层芳香油树种的引进研究进展[J]. 香料香精化妆品, 2011(6): 37-40.

LIANG Z Y, LI G Z, CHEN H Y, et al. The research progress on introduction of the trees of *Melaleuca* species[J]. Flavour Fragrance Cosmetics, 2011(6): 37-40. (in Chinese)

[3] 赵鑫, 鲍其玲, 张磊, 等. 互叶白千层精油 GC-MS 挥发性成分及抗菌活性研究[J]. 山东化工, 2012, 41(11): 21-23.

ZHAO X, BAO Q L, ZHANG L, et al. Analysis of essential oil of *Melaleuca alternifolia* and its antimicrobial effectiveness[J]. Shandong Chemical Industry, 2012, 41(11): 21-23. (in Chinese)

[4] 钟振声, 袁裕泉, 樊丽妃. 引种互叶白千层茶树油有效抑菌成分辨析[J]. 中山大学学报: 自然科学版, 2012, 51(5): 7-13.

ZHONG Z S, YUAN Y Q, FAN L F. Studies on the antibacterial composition diversity of introduced *Melaleuca alternifolia* oil[J]. Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni, 2012, 51(5): 7-13. (in Chinese)

[5] 刘布鸣, 董晓敏, 黄艳, 等. 互叶白千层的化学成分研究[J]. 中草药, 2011, 42(7): 1282-1284.

LIU B M, DONG X M, HUANG Y, et al. Chemical constituents of *Melaleuca alternefolia* [J]. Chinese Traditional And Herbal Drugs, 2011, 42(7): 1282-1284. (in Chinese)

[6] 钟振声, 樊丽妃, 黄继兵. 引种互叶白千层茶树油的化学成分及抑菌活性[J]. 华南理工大学学报: 自然科学版, 2011, 39(1): 53-57.

ZHONG Z S, FAN L F, HUANG J B. Chemical components and antimicrobial activity of tea tree oil from introduced *Melaleuca alternifolia* [J]. Journal of South China University of Technology: Natural Science Edition, 2011, 39(1): 53-57. (in Chinese)

[7] 蔡林, 吴红英, 吕月保, 等. 澳洲白千层高产栽培技术[J]. 林业实用技术, 2012(9): 14-15.

[8] 常新民, 黄耀恒. 互叶白千层育苗技术[J]. 林业科技开发, 2003, 17(6): 34-36.

CHANG X M, HUANG Y H. Technique for raising seedlings of *Melaleuca alternifolia* [J]. China Forestry Science and Technology, 2003, 17(6): 34-36. (in Chinese)

[9] 陈碧华, 吴丽君, 李乾振, 等. 互叶白千层研究进展[J]. 福建林业科技, 2010, 37(4): 177-182.

CHEN B H, WU L J, LI Q Z, et al. The research progress on *Melaleuca alternifolia* [J]. Journal of Fujian Forestry Science and Technology, 2010, 37(4): 177-182. (in Chinese)

[10] LANG B, KAISER W M. Solute content and energy status of roots of barley plants cultivated at different pH on nitrate- or ammonium-nitrogen[J]. New Phytologist, 1994, 128(128): 451-459.

[11] 买凯乐, 韩富亮, 董丽芬, 等. N、P、K 元素对油松试管苗生长及生根诱导的影响[J]. 西北林学院学报, 2007, 22(5): 69-71.

MAI K L, HAN F L, DONG L F, et al. The effect of nitrogen phosphorus and potassium elements on growth and root induction of test tube seedlings of Chinese pine[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2007, 22(5): 69-71. (in Chinese)

ZHOU Y D,ZHOU Z D. Study on forest landscape patterns based on GIS and Fragstats in Hainan Province[J]. Journal of Central South University of Forestry &. Technology,2015,35(5):78-82. (in Chinese)

[9] 华昇. 基于 GIS 的长沙市景观格局分析与优化研究[D]. 长沙: 湖南大学,2008.

[10] 张克荣,刘应迪,朱晓文,等. 长沙岳麓山马尾松林的群落类型划分及物种多样性分析[J]. 林业科学,2011,47(4):86-93.

ZHANG K R,LIU Y D,ZHU X W,*et al.* Community types and species diversity of *Pinus massoniana* forests of Yuelu Mountain,Changsha[J]. Scientia Silvae Sinicae,2011,47(4):86-93. (in Chinese)

[11] 黄宗胜,彭重华,王建兵. 岳麓山风景名胜區枫香群落研究[J]. 湖南林业科技,2005(3):24-26.

HUANG Z S,PENG Z H,WANG J B,*et al.* Research on the *Liquidambar formosana* communities in landscape resort of Yuelu Mountain[J]. Hunan Forestry Science &. Technology , 2005(3):24-26. (in Chinese)

[12] 邢元军,徐金铎. 长沙市边缘区城市森林景观格局梯度分析[J]. 中南林业调查规划,2012,31(4):22-27.

XING Y J,XU J D. Gradient analysis of urban forest landscape in urban fringe area of Changsha City[J]. Central South Forest Inventory and Planning ,2012,31(4):22-27. (in Chinese)

[13] 罗贵斌. 汉市中心城区常绿行道树综合评价[J]. 西北林学院学报,2016,31(2):302-308.

LUO G B. Comprehensive evaluation of the evergreen street trees planted in the downtown of Hangzhong City[J]. Journal of Northwest Forestry University,2016,31(2):302-308. (in Chinese)

[14] 陈尧,蒋文伟,陈闪,等. 基于 RS 和 GIS 城镇生态脆弱性评价研究[J]. 西北林学院学报,2015,30(6):242-249.

CHEN Y,JIANG W W,CHEN S,*et al.* Ecological vulnerability of towns;a case study of longshan township in Cixi,China [J]. Journal of Northwest Forestry University,2015,30(6):242-249. (in Chinese)

[15] 彭羽,刘雪华. 城市化对植物多样性影响的研究进展[J]. 生物多样性,2007,15(5):558-562.

PENG Y,LIU X H. Reseach progress in effects of urbanization on plant biodiversity[J]. Biodiversity Science,2007,15(5):558-562. (in Chinese)

[16] 陈建忠,龚辉,刘剑斌,等. 福建北部邓恩桉林分植物多样性的特征[J]. 西北林学院学报,2015,30(6):76-80.

CHEN J Z,GONG H,LIU J B,*et al.* Characteristics of plant diversity of *Eucalyptus dunnii* stand in northern Fujian[J]. Journal of Northwest Forestry University,2015,30(6):76-80. (in Chinese)

[17] 付晖,付广. 基于 GIS 的海口市绿地适宜性评价研究[J]. 西北林学院学报,2016,31(4):291-297.

FU H,FU G. Land suitability evaluation of urban green space based on GIS in Haikou[J]. Journal of Northwest Forestry University,2016,31(4):291-297. (in Chinese)

(上接第 123 页)

[12] LOQUÉ D,VON W N. Regulatory levels for the transport of ammonium in plant roots[J]. Journal of Experimental Botany. 2004,55(401):1293-1305.

[13] YUAN L,LOQUÉ D,KOJIMA S,*et al.* The organization of high-affinity ammonium uptake in arabidopsis roots depends on the spatial arrangement and biochemical properties of AMT1-type transporters[J]. The Plant Cell,2007,19(8):2636-2652.

[14] RIOS-GONZALEZ K,ERDEI L,LIPS S H. The activity of antioxidant enzymes in maize and sunflower seedlings as affected by salinity and different nitrogen sources[J]. Plant Science,2002,162(6):923-930.

[15] 袁秀平,张存旭. 不同因素对红王子锦带愈伤组织诱导的影响[J]. 西北林学院学报,2006,21(4):80-82.

YUAN X P,ZHANG C X. Influence of different factors on callus induction of *Weigela florida* cv. ‘red-prince’[J]. Journal of Northwest Forestry University,2006,21(4):80-82. (in Chinese)

[16] 孟强,董丽芬,邵崇斌. 长俊木瓜组培苗叶片数及外源激素对生根影响的研究[J]. 西北林学院学报,2007,22(1):67-69.

MENG Q,DONG L F,SHAO C B. A Study on the effects of NAA, IBA and the number of leaves on the rooting of *Chaenomeles speciosa* [J]. Journal Of Northwest Forestry University,2007,22(1):67-69. (in Chinese)