

白木通组织培养及快速繁殖

吴玲利¹, 柯宾峰¹, 龚春², 马英¹, 雷小林², 李建安^{1*}

¹中南林业科技大学经济林培育与保护教育部重点实验室, 长沙410004; ²江西省林业科学院, 南昌330013

摘要: 以白木通的带芽茎段为外植体, 研究植物生长调节剂对其离体培养及植株再生的影响, 建立了木通离体快繁技术体系。结果表明: 带芽茎段的较佳消毒灭菌方法为75%的酒精浸泡30 s, 再用2%的次氯酸钠溶液浸泡15 min; 腋芽诱导的最适宜培养基为WPM+1.0 mg·L⁻¹ 6-BA+0.5 mg·L⁻¹ IAA+2.0 mg·L⁻¹ GA₃, 诱导率可达81.27%; 适合腋芽增殖的培养基为WPM+3.0 mg·L⁻¹ 6-BA+0.1 mg·L⁻¹ IBA, 增殖系数可达4.26; 最佳生根培养基为1/2MS+1.0 mg·L⁻¹ IBA+0.5 mg·L⁻¹ NAA+1.0 mg·L⁻¹ GA₃, 生根率为82.18%。炼苗移栽到泥炭土:珍珠岩:蛭石=2:1:1的基质中, 成活率达76.0%以上, 该结果为木通的快繁提供了一条新途径。

关键词: 白木通; 带芽茎段; 组织培养; 快速繁殖

Tissue Culture and Rapid Propagation of *Akebia trifoliata* var. *australis*

WU Ling-Li¹, KE Bin-Feng¹, GONG Chun², MA Ying¹, LEI Xiao-Lin², LI Jian-An^{1*}

¹Key Laboratory of Cultivation and Protection for Non-Wood Forest Trees, Ministry of Education, Central South University of Forestry and Technology, Changsha 410004, China; ²Jiangxi Province Academy of Forestry, Nanchang 330013, China

Abstract: In order to establish the tissue culture and rapid propagation system of *Akebia trifoliata* var. *australis*, the effects of plant growth regulators on plant regeneration *in vitro* were studied using stems with axillary buds as explants. The results showed that the better disinfection method for stems with axillary buds was to use 75% alcohol immersion 30 s, then use 2% NaClO immersion 15 min; the fittest medium for germination of stem axillary bud was WPM+1.0 mg·L⁻¹ 6-BA+0.5 mg·L⁻¹ IAA+2.0 mg·L⁻¹ GA₃, with a 81.27% germination rate of axillary bud; the best medium for shoot multiplication was WPM+3.0 mg·L⁻¹ 6-BA+0.1 mg·L⁻¹ IBA, the multiplication coefficient could reach 4.26; the best rooting medium was 1/2MS+1.0 mg·L⁻¹ IBA+0.5 mg·L⁻¹ NAA+1.0 mg·L⁻¹ GA₃, with a 82.18% rooting rate. After the culture-bottle seedlings were transplanted into the matrix composed of peat soil, perlite and vermiculite (2:1:1), the survival rate was up to 76.0%. The research supplied a new way for rapid propagation of *Akebia trifoliata*.

Key words: *Akebia trifoliata* var. *australis*; stems with axillary buds; tissue culture; rapid propagation

白木通(*Akebia trifoliata* var. *australis*)为木通科(Lardizabalaceae)木通属的半常绿藤本植物, 为三叶木通的变种, 主要分布于江苏、浙江、江西、广西、湖南、湖北、山西、四川等地(柳方2004; 蒋岩等2011)。白木通的根、藤茎、果实均可入药, 气微弱, 味苦而涩, 性微寒, 具有利尿、疏肝益肾、清心泻火、通经散瘀、抗肿瘤之功效(高慧敏和王智民2006)。目前关于白木通研究主要集中在籽油的理化特性、木通属植物的资源分布、外观性质的鉴定、化学成分分析及药理学研究等方面(李丽等2010; 黄佩蓓等2014; 王超英和王承明2015), 而对木通属植物育苗的研究方面还处于起步阶段。雷可(2011)研究了扦插季节及茎段处理对白木通成活率的影响, 结果表明3月份扦插成活

率最高, 其他季节扦插成活率低, 不利于白木通的大量繁殖。组织培养是快速繁殖植物优良品种脱毒苗的重要途径, 具有广阔的商业化前景。目前, 木通属组织培养的报道仅有沈国林等(2007)利用三叶木通的叶片、叶柄及茎段诱导愈伤组织, 但愈伤组织并未分化出不定芽, 关于木通组织培养获得再生植株的研究目前还未见报道。本文主要研究了外植体的消毒、继代增殖、生根及移栽炼苗等一系列过程, 获得了完整的木通组培苗, 为白木通的工厂化育苗及遗传转化提供可能。

收稿 2015-05-13 修定 2015-06-01

资助 国家林业公益性行业科研专项(201104052和201304802)。

* 通讯作者(E-mail: lja0731@126.com; Tel: 0731-85623416)。

材料与amp;方法

1 材料

试验材料白木通[*Akebia trifoliata* (Thunb.) Koidz. var. *australis* (Diels) Rehd.]采自江西省林科院木通采穗圃。于2014年3~6月间的晴天上午,选取当年粗度适中无病虫害、半木质化的白木通茎段,喷水后带回实验室备用。

2 方法

2.1 外植体消毒

将采集的茎段去除叶片后,用自来水冲洗10 min左右,再用适量的洗洁精水冲洗2遍,自来水冲洗干净后置于超净工作台中,用75%的酒精、2%的次氯酸钠溶液及0.1% HgCl_2 消毒灭菌,设置不同时间梯度如表1。消毒过程中用镊子不断搅动,无菌水冲洗5~6遍,用无菌滤纸吸干茎段表面的水分,用无菌刀片切掉两端褐化的部分,将单芽茎段接种到初代培养基中,15 d后统计污染率及褐化率。为防止交叉污染,每个培养瓶接种1个外植体,每个组合接种30瓶,重复3次。污染率=污染外植体数/接种外植体数 $\times 100\%$;褐化率=褐化(死亡)的外植体数/接种外植体数 $\times 100\%$ 。

2.2 腋芽诱导培养

将消毒好的腋芽茎段接种在含6-BA (0、1.0、2.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)、IAA (0、0.1、0.5、1.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)和 GA_3 (0、2.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)的WPM培养基中进行腋芽诱导,暗培养5 d后转入光照条件下培养。培养30 d后统计腋芽诱导率,每个组合接种20个培养瓶,每个培养瓶接种3个外植体,重复3次。腋芽诱导率=(萌芽的外植体数/接种外植体总数) $\times 100\%$ 。

2.3 继代增殖培养

将初代培养的腋芽切下后转接到含6-BA (0、1.0、2.0、3.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)和IBA (0、0.1、0.5 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)的继代增殖培养基中(表3)。在光照条件下培养35 d后统计增殖系数。每个处理接种30瓶,每瓶接种1~2个不定芽,重复3次。增殖系数=增殖后获得的芽数/接种时的芽数。

2.4 生根培养

切取生长健壮、长势一致(高2~3 cm)的芽苗接种在1/2MS含IBA (0、0.5、1.0、2.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)、NAA (0、0.5、1.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)及 GA_3 (0、1.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)的培养基中进行生根培养(表4),暗培养5 d后转到光

照培养下20 d后统计生根率及生根数。每个处理接种30瓶,每瓶接种1~2个芽,重复3次。生根率=(生根的芽总数/接种芽总数) $\times 100\%$ 。

2.5 培养条件

以WPM为基本培养基,含蔗糖30 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ (生根培养基为1/2MS培养基含蔗糖20 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$),琼脂6 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, pH值为5.5~5.8, 121 $^\circ\text{C}$ 高温灭菌20 min。光照强度50~60 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$,光照时间14 $\text{h}\cdot\text{d}^{-1}$,培养温度(26 \pm 1) $^\circ\text{C}$ 。

2.6 炼苗移栽

将生根30 d后的试管苗打开瓶盖放在湿度为60%~70%的人工气候箱中炼苗2 d,用自来水洗净根部的培养基,然后移栽到泥炭土:珍珠岩:蛭石为2:1:1的混合基质中,在盆子上面用塑料薄膜封住盆口放在温室中培养,一周后揭取薄膜喷水保持小环境相对湿度在80%以上,30 d后统计移栽成活率。

2.7 数据统计分析

数据采用SPSS 17.0软件进行方差分析和多重比较分析(Duncan法)。

实验结果

1 消毒处理

如表1所示,单独使用75%的酒精或0.1%的升汞消毒效果均较差,消毒时间过短污染率较高,消毒时间较长褐化率较高,不利于腋芽的萌发。本研究先用75%的酒精浸泡30 s,再用2%的次氯酸钠或0.1%的升汞消毒后效果较佳,随着次氯酸钠或者升汞消毒时间的增加污染率不断降低,但当用2%次氯酸钠及0.1%升汞的消毒时间高于15 min后,污染率虽为0,但茎段褐化率达80%以上。同时,比较5%的次氯酸钠和0.1%升汞的消毒效果发现,虽然在相同的消毒时间内,0.1%升汞的污染率低于2%的次氯酸钠,但褐化率远高于2%的次氯酸钠,因此,适合白木通茎段的最佳灭菌消毒方法为75%的酒精浸泡30 s,再用2%的次氯酸钠浸泡15 min效果较佳,污染率及褐化率均较低(A_9 组)。

2 初代培养

将消毒好的白木通茎段接种在不同编号的培养基中(表2),暗培养3 d后转到光照条件下培养10 d左右腋芽就开始萌发(图1-A),继续培养20 d后腋芽高度可达3 cm左右(图1-B、C)。由表2可知,在

表1 不同消毒处理对白木通茎段的消毒效果

Table 1 The disinfection effect of different disinfection treatment on stem of *A. trifoliata* var. *australis*

编号	75%酒精处理时间/s	2%次氯酸钠处理时间/min	0.1%升汞处理时间/min	污染率/%	褐化率/%
A ₁	0	0	0	100.00	0
A ₂	0	0	5	100.00	0
A ₃	0	5	0	100.00	0
A ₄	0	10	0	63.32	3.65
A ₅	0	15	0	25.91	28.89
A ₆	0	20	0	3.98	76.78
A ₇	30	5	0	78.23	1.32
A ₈	30	10	0	52.14	3.91
A ₉	30	15	0	4.25	6.33
A ₁₀	30	20	0	0	83.77
A ₁₁	30	0	5	72.31	15.32
A ₁₂	30	0	10	48.23	34.63
A ₁₃	30	0	15	2.25	55.03
A ₁₄	30	0	20	0	89.32

表中数据为平均值, 下表同。

表2 不同植物生长调节剂对白木通茎段初代培养的影响

Table 2 Effects of different plant growth regulators on primary culture from stem of *A. trifoliata* var. *australis*

编号	6-BA浓度/mg·L ⁻¹	IAA浓度/mg·L ⁻¹	GA ₃ 浓度/mg·L ⁻¹	腋芽诱导率/%	生长情况
B ₁	0	0	0	0	无腋芽长出
B ₂	0	0.1	2.0	45.26±3.56 ^d	腋芽长势较弱, 较细
B ₃	0	0.5	2.0	70.68±2.87 ^b	腋芽较长, 较细
B ₄	0	1.0	2.0	65.34±3.69 ^c	茎段基部长愈伤组织, 叶片较大
B ₅	1.0	0.1	2.0	71.01±2.57 ^b	腋芽较嫩, 较细
B ₆	1.0	0.5	2.0	81.27±2.63 ^a	腋芽健壮, 长势好, 有利于继代培养
B ₇	1.0	1.0	2.0	75.32±3.45 ^{ab}	茎段基部长愈伤, 腋芽较绿
B ₈	2.0	0.1	2.0	52.14±4.15 ^d	腋芽短, 叶片较小, 有点卷曲
B ₉	2.0	0.5	2.0	68.33±2.67 ^{bc}	腋芽较短, 芽较脆
B ₁₀	2.0	1.0	2.0	50.17±3.02 ^d	基部长愈伤, 芽长势较差

同一列中不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$), 下表同。

不添加任何植物生长调节剂的B₁组不能使白木通腋芽萌发, 当6-BA浓度为0时, 添加IAA和GA₃也能使木通茎段生长, 但长势较弱; 当6-BA浓度为1.0 mg·L⁻¹, IAA浓度为0.5 mg·L⁻¹附加2 mg·L⁻¹的GA₃时, 腋芽萌发率可达81.27%, 长势较好, 有利于后期的继代增殖。随着6-BA浓度的增加, 腋芽诱导率稍有降低, 也不利于腋芽的伸长生长。因此, 适合木通茎段腋芽萌发的最佳培养基为: WPM+1.0 mg·L⁻¹ 6-BA+0.5 mg·L⁻¹ IAA+2.0 mg·L⁻¹ GA₃ (B₆组)。

3 继代增殖培养

将初代培养的腋芽切下接到继代增殖培养基

中, 由表3可知, 当6-BA浓度为0时, 随着IBA浓度的升高, 白木通腋芽的增殖系数均为1; 当6-BA浓度一定时, 随着IBA浓度的增加, 增殖系数先升高后降低; 当IBA浓度一定, 随着6-BA浓度的升高, 增殖系数整体升高, 6-BA浓度为3.0 mg·L⁻¹时, 白木通腋芽的增殖系数最高, 为4.26 (图1-D), 说明细胞分裂素6-BA对白木通腋芽的增殖起主导作用, 而生长素IBA对腋芽的增殖起协同作用。适合木通腋芽增殖的最佳培养基配方为: WPM+3.0 mg·L⁻¹ 6-BA+0.1 mg·L⁻¹ IBA (C₁₁组)。

4 生根培养

将增殖培养中2~3 cm的腋芽接种到生根培养

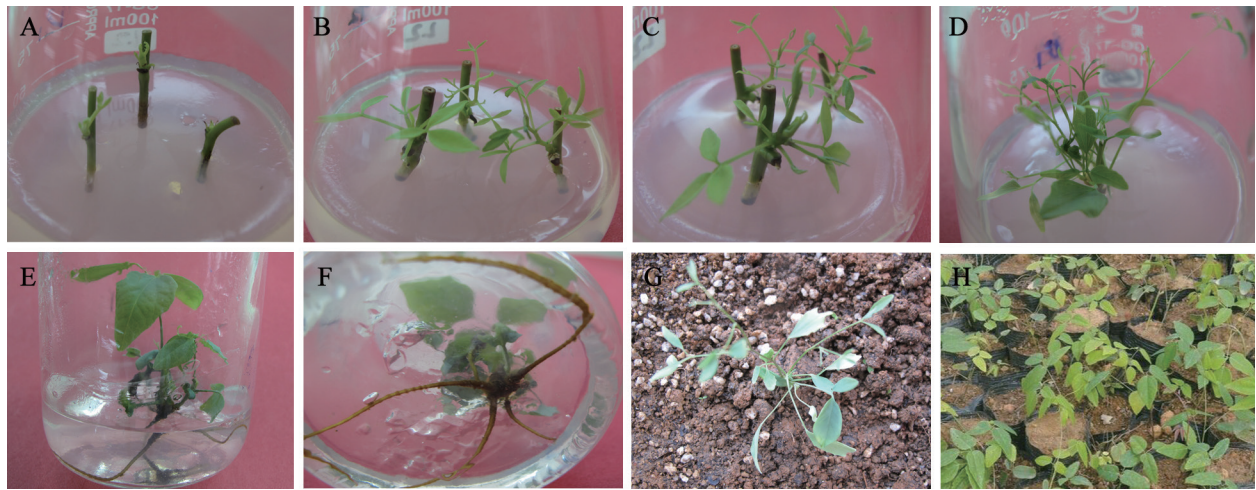


图1 白木通组织培养及快速繁殖

Fig.1 Tissue culture and rapid propagation of *A. trifoliata* var. *australis*

A: 茎段初代培养; B、C: 茎段腋芽萌发; D: 芽苗的继代增殖; E、F: 芽苗生根; G: 试管苗移栽; H: 移栽成活的试管苗。

表3 不同植物生长调节剂对白木通继代增殖培养的影响

Table 3 Effects of different plant growth regulators on secondary proliferation culture of *A. trifoliata* var. *australis*

编号	6-BA浓度/mg·L ⁻¹	IBA浓度/mg·L ⁻¹	增殖系数
C ₁	0	0	1.00±0
C ₂	0	0.1	1.00±0
C ₃	0	0.5	1.00±0
C ₄	1.0	0	1.76±0.21 ^d
C ₅	1.0	0.1	1.98±0.23 ^d
C ₆	1.0	0.5	1.16±0.29 ^e
C ₇	2.0	0	2.83±0.34 ^c
C ₈	2.0	0.1	4.12±0.37 ^a
C ₉	2.0	0.5	3.30±0.25 ^b
C ₁₀	3.0	0	3.07±0.42 ^b
C ₁₁	3.0	0.1	4.26±0.33 ^a
C ₁₂	3.0	0.5	2.91±0.24 ^{bc}

基中进行根系诱导(表4), 15 d后基部有根系产生, 继续培养15 d后根系较长(图1-E)。由表4可知, 在未加植物生长调节剂的D₁组中, 腋芽的生根率为0, 在培养基中单一添加0.5 mg·L⁻¹时的IBA也不能使白木通腋芽生根。然后在培养基中添加了生长素IBA及NAA结合后, 腋芽均可生根, 但根系较细, 腋芽长势较差, 当在培养基中加入1.0 mg·L⁻¹的GA₃后, 生根率和生根数整体增加, 生根的组培苗长势较好, 更有利于炼苗移栽, 说明白木通在单一生长素IBA下较难生根, 需要结合一定量的NAA及GA₃,

后可以达到理想的生根效果(图1-F)。因此, 适合白木通腋芽生根的最佳培养基为1/2MS+1.0 mg·L⁻¹ IBA+0.5 mg·L⁻¹ NAA+1.0 mg·L⁻¹ GA₃, 其生根率可达82.18% (D₆组)。

5 炼苗移栽

将生根的白木通试管苗在湿度为70%~80%的人工气候箱中炼苗2 d后, 用镊子夹出, 然后用自来水冲洗干净根系的培养基, 移栽到泥炭土:珍珠岩:蛭石=2:1:1的基质中(图1-G), 总共移栽50株, 1个月后统计成活38株, 成活率达76%, 20 d后有新叶长出, 3个月后苗高可达10 cm左右(图1-H)。

讨 论

外植体消毒是植物组织培养的重要环节之一, 获得无菌且具有生长活性的外植体是组织培养取得成功的重要因素。白木通组织培养在初代培养过程中存在污染及褐化严重问题, 因此, 控制污染率及褐化率是白木通组织培养的关键。本研究发现, 外植体选择时期直接影响木通的污染及褐化, 在春季3月份, 白木通新梢茎段较嫩, 在灭菌过程中容易褐化, 腋芽萌发率较低; 随着茎段木质化程度的增加及腋芽的长大, 褐化率逐渐降低, 腋芽萌发率较高, 且长势较好, 后期容易继代增殖, 这与魏进莉等(2015)在紫叶狼尾草中利用带腋芽的节间获得再生植株的研究相一致。因此, 采集当年4

表4 不同植物生长调节剂组合对白木通生根的影响

Table 4 Effects of different combination of plant growth regulators on rooting of *A. trifoliata* var. *australis*

编号	IBA浓度/mg·L ⁻¹	NAA浓度/mg·L ⁻¹	GA ₃ 浓度/mg·L ⁻¹	生根率/%	生根数/条	根系生长情况
D ₁	0	0	0	0	0	无根系产生
D ₂	0.5	0	0	0	0	基部膨大, 无根系产生
D ₃	1.0	0.5	0	55.26±2.15 ^c	1.9±0.3 ^d	根系较细, 生长慢
D ₄	2.0	0.5	0	57.05±2.22 ^c	2.1±0.2 ^d	基部有愈伤产生, 长势弱
D ₅	0.5	0.5	1.0	69.21±4.08 ^b	2.9±0.3 ^e	根系较好, 较粗, 后期生长快
D ₆	1.0	0.5	1.0	82.18±3.63 ^a	4.9±0.4 ^a	根系较多, 较粗, 健壮, 生长快
D ₇	2.0	0.5	1.0	76.30±3.27 ^a	4.2±0.3 ^a	根系较多, 较粗, 基部长愈伤
D ₈	0.5	1.0	1.0	63.23±4.23 ^b	3.6±0.3 ^b	根系较短, 较粗
D ₉	1.0	1.0	1.0	56.24±2.91 ^c	3.1±0.2 ^b	根系较短, 基部产生少量的愈伤
D ₁₀	2.0	1.0	1.0	50.10±3.55 ^c	2.8±0.2 ^e	根系较粗, 愈伤化严重

月份半木质化的茎段是白木通组织培养最佳季节, 当白木通茎段完全木质化后虽然褐化率降低, 但是茎段带大量的病菌, 在初代培养过程中极易污染, 灭菌时间过长, 茎段腋芽会停止生长甚至死亡。在灭菌试剂选择方面, 单独使用0.1%的升汞及2%的次氯酸钠效果较差, 外植体先用75%的酒精浸泡30 s再用2%的次氯酸钠消毒15 min污染率仅为4.25%, 褐化率为6.33%, 总体消毒效果较佳, 这与霍朗宁等(2015)在树莓‘沙尼’带芽茎段中的研究基本相似。本研究通过0.1%的升汞做对比发现, 0.1%的升汞虽然能使污染率降低到最低, 但褐化率远高于2%的次氯酸钠, 所以在白木通茎段消毒灭菌过程中用75%的酒精和2%的次氯酸钠是较好的选择。

在本试验中, 初代培养后期或继代增殖培养中偶有内生菌污染现象。通常由于外植体的内生菌潜伏在植物组织较深处, 在培养后期偶尔会在培养基上出现(姚娜和赖志强2010)。前人研究表明, 内生菌污染在前期会导致试管苗生长缓慢、增殖率低, 更会导致试管苗死亡及后期移栽困难(周俊辉等2002)。本研究发现白木通木质化程度高的茎段带有内生菌, 对于白木通内生菌污染问题, 我们尽量选择半木质的茎段作为外植体, 在后期继代过程中发现有污染的腋芽, 应及时剔除污染的试管苗, 以防影响其他的试管苗, 至于内生菌的抑制及清除还需以后在抗生素选择方面做进一步的研究。

继代增殖是组织培养的关键, 找到适宜的增殖培养基配方, 才能达到组培快速繁殖的目的(李

秋玲等2014)。在腋芽继代增殖过程中, 6-BA和IBA组合是最常用的方法(Al Malki和Elmeer 2010; Zhang等2013)。在白木通腋芽继代增殖培养中发现, 添加6-BA和IBA能促进腋芽增殖, 在试验中单独加入IBA不能使腋芽增殖, 单独使用6-BA可以使腋芽增殖, 增殖系数可达3.07, 但腋芽长势较弱, 不利于后期的生根培养, 附加0.1 mg·L⁻¹的IBA后不但增殖系数提高, 而且腋芽生长快、长势好, 更有利于后期生根培养, 说明6-BA在白木通继代增殖过程中起主导因子, IBA起协同作用, 6-BA在一定浓度范围内随着浓度的升高, 腋芽增殖系数也升高; 这与姜傲芳等(2007)在薜荔(*Ficus pumila*)中的研究结果相一致。

在生根培养中发现培养幼嫩、健壮、叶片较多的芽苗是生根的前提, 培养时间太久芽苗木质化程度高的不利于生根培养, 这与谭晓风等(2013)在油桐试管苗生根的结果相似。本研究选用1/2MS培养基, 发现白木通试管苗的生根效果更好, 说明降低无机盐的浓度更有利于根的诱导, 这与罗士伟和许智宏(1987)在无籽西瓜生根试验中的结果相一致。在植物生长调节剂配比方面发现, 单独使用IBA不能使白木通试管苗生根, 在培养基中加入0.5 mg·L⁻¹的NAA后, 生根率明显提高, 但NAA浓度过高生根率反而降低, 基部长愈伤组织, 这与洪震等(2015)在秀丽野海棠试管苗生根过程中的研究相一致, 说明NAA对白木通的生根有明显的促进作用。白木通腋芽较难生根, 在IBA与NAA组合下生根率仍低于70%, 还未达到工厂化育苗的标准, 后期在生根培养基中加入1.0 mg·L⁻¹

GA₃后, 试管苗的颜色及长势明显好于未加GA₃的培养基配方, 而且生根率也提高到82.18%, 根系较粗较长。本研究从茎段无菌材料的获得、腋芽诱导、继代增殖培养及生根整个过程首次成功建立了白木通带芽茎段的再生体系, 为白木通的工厂化育苗及遗传转化打下基础。

参考文献

- 高慧敏, 王智民(2006). 白木通中一个新的三萜皂苷类化合物. 药学学报, 41 (9): 835~839
- 洪震, 朱乐杰, 傅晓强, 范文峰, 夏国华(2015). 秀丽野海棠叶片不定芽高频再生体系的建立. 植物生理学报, 51 (2): 241~245
- 黄佩蓓, 陈世华, 王飞, 曾贤, 余春波(2014). 白木通SRAP反应体系的优化及其应用. 中药材, 37 (8): 1371~1375
- 霍朗宁, 张东升, 贾忠奎(2015). 树莓‘沙尼’组培技术. 东北林业大学学报, 43 (3): 6~9
- 姜傲芳, 田大伦, 谭晓风, 张党权, 曾艳玲, 杨伟(2007). 薜荔茎段的组织培养与植株再生技术. 中南林业科技大学学报, 27 (3): 10~13
- 蒋岩, 杜研学, 熊华, 白春清, 张忠, 李捷(2011). 白木通籽油的理化特性及热氧化稳定性. 食品科学, 32 (15): 34~38
- 雷可(2011). 白木通人工繁育技术研究. 江西科学, 29 (4): 496~498
- 李丽, 陈绪中, 姚小洪, 田华, 黄宏文(2010). 三种木通属植物的地理分布与资源调查. 武汉植物学研究, 28 (4): 497~506
- 李秋玲, 李青, 刘燕, 叶香娟(2014). 春石斛继代培养主要影响因素. 东北林业大学学报, 42 (7): 69~73
- 柳方(2004). 关木通与白木通的来源与鉴别. 新疆中医药, 22 (2): 35~36
- 罗士伟, 许智宏(1987). 经济植物组织培养. 北京: 科学出版社, 43
- 沈国林, 邵爱娟, 黄璐琦, 林淑芳(2007). 三叶木通愈伤组织培养研究. 中国中药杂志, 32 (10): 889~901
- 谭晓风, 李泽, 张琳, 龙洪旭, 袁军, 曾艳玲, 林青(2013). 油桐叶片愈伤组织诱导及植株再生. 植物生理学报, 49 (11): 1245~1249
- 王超英, 王承明(2015). 白木通籽油一步酯交换法制备生物柴油的工艺优化. 中国油脂, 40 (1): 59~63
- 魏进莉, 李丽芳, 于学斌(2015). 紫叶狼尾草的组织培养与快速繁殖. 植物生理学报, 51 (2): 207~211
- 姚娜, 赖志强(2010). 象草腋芽外植体消毒方法的筛选. 基因组学与应用生物学, 29 (5): 943~946
- 周俊辉, 刘花全, 罗慧君, 谢海佳, 黄树行(2002). 玛丽安万年青茎段培养的污染防止. 仲恺农业技术学院学报, 15 (4): 43~48
- Al Malki AAHS, Elmeer KMS (2010). Influence of auxin and cytokinin on *in vitro* multiplication of *Ficus anastasia*. Afr J Biotechnol, 9 (5): 635~639
- Zhang YM, Li X, Chen Z, Li JF, Lu JY, Zhou WZ (2013). Shoot organogenesis and plant regeneration in *Agave hybrid*, No.11648. Sci Hortic, 161: 30~34