

蔓花生组织培养和植株再生的条件优化

张振霞, 郑玉忠

(韩山师范学院 生物系, 广东 潮州 521041)

摘要: 应用 MS 为基本培养基, 通过各种培养条件和不同激素配比, 探讨蔓花生组织培养及其植株再生条件的优化。结果显示: 幼叶为最佳的外植体, 在幼叶愈伤诱导过程中, 不超过 12 h 光照, 光照强度在 $21.6 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 均可; 诱导愈伤组织的适宜培养基为 $\text{MS}+0.5 \text{ mg/L6-BA}+0.2 \text{ mg/L2,4-D}$ 或 $\text{MS}+0.5 \text{ mg/L6-BA}+2 \text{ mg/LNAA}$; 最适的分化培养基为 $\text{MS}+1 \text{ mg/LTDZ}+2 \text{ mg/L6-BA}+0.5 \text{ mg/LNAA}$; 最适的生根培养基 $1/2\text{MS}+1 \text{ mg/LNAA}+1 \text{ mg/LPP}_{333}$ 。

关键词: 蔓花生; 组织培养; 愈伤组织

中图分类号: Q943.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2009)01-0083-04

Condition optimization for tissue culture of *Arachis duranensis*

ZHANG Zhen-Xia, ZHENG Yu-Zhong

(Department of Biology, Hanshan Teachers College, Chaozhou 521041, China)

Abstract: Condition optimization for tissue culture and regeneration of *Arachis duranensis* was studied. The results showed that the leaflet was the best experimental explant; the optimized medium for callus was $\text{MS}+0.5 \text{ mg/L6-BA}+0.2 \text{ mg/L2,4-D}$ or $\text{MS}+0.5 \text{ mg/L6-BA}+0.2 \text{ mg/LNAA}$ with illumination of 12h/d; the optimized medium for differentiation was $\text{MS}+1 \text{ mg/LTDZ}+2 \text{ mg/L6-BA}+0.5 \text{ mg/LNAA}$; the optimized medium for root induction was $1/2\text{MS}+1 \text{ mg/LNAA}+1 \text{ mg/LPP}_{333}$.

Key words: *Arachis duranensis*; tissue culture; callus

随着时代的发展及人们生活品位的日益提高, 会开花的草坪受到人们的青睐, 已成为当前草坪植物开发研究的一个重要领域。蔓花生(*Arachis duranensis*)是一种豆科蔓花生属的多年生宿根草本植物, 茎蔓生, 匍匐生长, 绿色期长, 花蔓多且花期长, 是一种观赏性极佳的开花草坪植物。其成坪快且平整, 适用于园林绿地和公路的隔离带。但蔓花生种子产量低, 不易收种, 依靠种子繁殖会限制其大面积推广应用(郭维贤等, 2002)。因此, 需对蔓花生进行组培快繁研究, 为其快繁和工厂化育苗提供技术和方法。

1 材料与方法

1.1 材料

蔓花生采自于广东省潮州市韩山师范学院校园内。选取生长良好、无病虫害的带幼叶的枝条作为实验材料。基本培养基: MS(Murashige & Skoog, 1962)和 B5(丁力, 1998); 愈伤诱导培养基: 基本培养基+2,4-D+6-BA; 分化培养基: 基本培养基+NAA+KT+6-BA; 生根培养基: $1/2\text{MS}$ 基本培养基+NAA+PP₃₃₃。以上所用植物激素 2,4-D、6-BA、

收稿日期: 2007-08-27 修回日期: 2008-06-25

基金项目: 国家星火计划项目(2005EA780080); 韩山师范学院青年基金[Supported by the National Spark Plan Program of China(2005EA780080); Foundation for Young Teachers of Hanshan Teachers College]

作者简介: 张振霞(1975-), 女, 甘肃兰州市人, 博士后, 副教授, 主要从事生物技术及草业科学研究, (E-mail)zhangzhenxia@yahoo.com.cn.

NAA、KT、IBA、IAA、TDZ 等购自 Sigma 公司。

1.2 方法

(1)不同基本培养基对蔓花生愈伤组织诱导频率的影响:分别使用 MS、1/2MS、B5 基本培养基,对蔓花生幼叶进行愈伤组织诱导。(2)不同外植体对蔓花生愈伤组织诱导频率的影响:在 MS 基本培养基上,以蔓花生幼叶、成熟叶、叶柄和茎段为外植体进行愈伤组织诱导。(3)2,4-D 浓度对蔓花生愈伤组织诱导率的影响:设定 0、0.1、0.2、0.5、1、2、4、8、12 mg/L 九个水平的 2,4-D 浓度,在 MS 培养基上对蔓花生幼叶进行愈伤组织诱导。(4)6-BA 浓度对蔓花生愈伤组织诱导率的影响:在 0.2 mg/L2,4-D 的 MS 基本培养基基础上,设定 0、0.2、0.5、1、2、5、10 mg/L 七个不同 6-BA 浓度作为试验处理,研究蔓花生幼叶愈伤组织诱导率。(5)不同生长素对蔓花生愈伤组织诱导率的影响:比较 2,4-D、NAA、IBA、IAA 四种不同生长素对蔓花生幼叶愈伤组织诱导的影响。(6)不同光照时间对蔓花生愈伤组织诱导率的影响:分别以 24、12、0 h 和自然光照条件下培养,比较蔓花生幼叶的愈伤诱导。(7)不同细胞分裂素对蔓花生愈伤分化的影响:在添加 2 mg/L6-BA 和 0.5 mg/LNAA 的培养基上比较 1 mg/LT-DZ 和 1 mg/LKT 对蔓花生愈伤的分化率的影响。

1.3 培养条件

每月继代一次。培养条件为 26±2 ℃,每日光照 12 h,光强 36 μmol·m⁻²·s⁻¹。

1.4 评价指标

诱导率(%)=出愈外植体数/接种外植体数×100;分化率(%)=出芽愈伤数/接种愈伤数×100。

2 结果与分析

2.1 不同培养基对蔓花生愈伤组织诱导率的影响

选用 MS、1/2MS 和 B5 三种培养基比较了蔓花生幼叶愈伤组织的诱导,研究结果如表 1 所示:MS 和 B5 基本培养基对蔓花生幼叶愈伤诱导率高,均在 93%以上,1/2MS 基本培养基较低。

2.2 不同外植体对蔓花生愈伤组织诱导频率的影响

从表 2 可见,幼叶愈伤诱导率最高,达到 100%,且出愈快,在接种 6 d 后就出现初始愈伤化,15 d 左右完全愈伤化,而成熟叶出愈率为 85.71%,且出愈时间较幼叶的慢,接种 10 d 后初始愈伤化,22 d 左右完全愈伤化,叶柄和茎段的出愈率和出愈

时间则更低和更迟。

表 1 不同培养基对蔓花生愈伤组织诱导频率的影响

Table 1 Influence of different media on callus initiation rate of *Arachis duranensis*

培养基 Medium	接种外植体数 No. of explants	出愈外植体数 Initiated callus	出愈率(%) Initiation rate
1/2MS	36	27	75.00
MS	63	59	93.65
B5	48	45	93.75

表 2 不同外植体对蔓花生愈伤组织诱导频率的影响

Table 2 Influence of different explant on callus initiation rate of *Arachis duranensis*

外植体 Explant	接种外植体数 No. of explants	出愈外植体数 Initiated callus	出愈时间(d) Time of callus emergence	出愈率 Initiation rate (%)
幼叶 Leaflet	45	45	15	100.00
成熟叶 Mature leaf	28	24	22	85.71
叶柄 Petiole	57	45	26	78.95
茎段 Stem	28	15	30	53.57

2.3 不同 2,4-D 浓度对蔓花生愈伤组织诱导率的影响

如表 3 所示,于 MS+6-BA 的培养基中,在没有添加 2,4-D 时,未能诱导出愈伤;随着 2,4-D 浓度的升高,蔓花生愈伤组织的诱导率增加,在 0.2、1.0、2.0、4.0 mg/L 时出愈率均达到 90%以上,然后随着 2,4-D 浓度的增加而下降。

表 3 培养基中不同 2,4-D 浓度对蔓花生愈伤组织诱导率的影响

Table 3 Influence of different 2,4-D concentrations on callus initiation rate of *Arachis duranensis*

不同含量(mg) Concentration	接种数 No. of explants	出愈数 Initiated callus	出愈率(%) Initiation rate
2,4-D 0	40	0	0.00
2,4-D 0.1	36	22	61.11
2,4-D 0.2	63	59	93.65
2,4-D 0.5	30	24	80.00
2,4-D 1.0	52	48	92.31
2,4-D 2.0	64	59	92.19
2,4-D 4.0	62	57	91.94
2,4-D 8.0	38	23	60.53
2,4-D 12	55	15	27.27

2.4 不同 6-BA 浓度对蔓花生愈伤组织诱导率的影响

从表 4 可见,在 MS+0.2 mg/L2,4-D 的情况下,6-BA 的存在对蔓花生的愈伤诱导的作用很重要,不添加 6-BA 时的愈伤诱导率是 0,而 0.5 mg/L 的 6-BA 对愈伤诱导有明显的促进作用,此时的诱导率为 93.65%。随 6-BA 浓度继续增加时,蔓花生的愈伤诱导率反而降低,特别是 6-BA 浓度大于 5

mg/L 时愈伤组织出现褐化现象。在诱导愈伤过程中 6-BA 的促进作用在于提高叶组织的细胞分裂能力,使得愈伤生长加快,高浓度时导致愈伤的褐化严重。低浓度的 6-BA 对蔓花生愈伤诱导有促进作用,而高浓度则容易影响愈伤组织的质量。因此采用了 0.5 mg/L6-BA 作为蔓花生幼叶的愈伤诱导剂。结合表 3、4,可以看出,0.2 mg/L2,4-D+0.5 mg/L6-BA 为诱导蔓花生愈伤组织的适宜浓度,此条件下的出愈率可以达到 93.65%。

表 4 培养基中不同 6-BA 浓度对蔓花生愈伤组织诱导率的影响

Table 4 Influence of different 6-BA concentrations on callus initiation rate of *Arachis duranensis*

不同含量(mg) Concentrations	接种数 No. of explants	出愈数 Initiated callus	出愈率(%) Initiation rate
6-BA 0	43	0	0.00
6-BA 0.2	47	39	82.98
6-BA 0.5	63	59	93.65
6-BA 1.0	64	56	87.50
6-BA 2.0	47	44	93.62
6-BA 5.0	61	46	75.41
6-BA 10.0	64	43	67.19

2.5 不同生长素对蔓花生愈伤组织诱导率的影响

在蔓花生愈伤诱导过程中,比较了 2,4-D、NAA、IBA、IAA 这四种不同生长素的作用。从表 5 可以看出:2,4-D 和 NAA 对蔓花生愈伤诱导的促进作用更明显,均在 90% 以上,只是由 2,4-D 诱导的愈伤组织淡绿色,而 NAA 诱导的则为黄绿色;IAA 2mg/L 时也有较高的出愈率 76.47%,IBA 的作用最不明显,在 4 mg/L 时愈伤诱导率仅为 3.17%。

表 5 不同生长素对蔓花生愈伤组织诱导率的影响
Table 5 Influence of different auxin concentrations on callus initiation rate of *Arachis duranensis*

生长素种类 Type of auxin	浓度 Concentration (mg/L)	接种数 No. of explants	出愈数 Initiated callus	出愈率 Initiation rate (%)
2,4-D	2	64	59	92.19
	4	62	57	91.94
NAA	2	63	60	95.24
	4	63	59	93.65
IBA	2	51	14	27.45
	4	63	2	3.17
IAA	2	51	39	76.47
	4	52	17	32.69

2.6 不同光照条件对蔓花生愈伤组织诱导率的影响

比较了 4 种光照条件对蔓花生愈伤诱导的效

果。从表 6 看出:愈伤的出愈率在 12 h 和自然光(约 13 h)光照条件下最高,达到 100%。黑暗条件下,蔓花生的愈伤诱导率也较高 93.75%,只是愈伤色泽淡黄,前两种条件下愈伤为绿色;而 24 h 持续光照条件会降低出愈率,只有 45.45%,且愈伤较小,色泽暗淡。

表 6 不同光照条件对蔓花生愈伤组织诱导率的影响
Table 6 Influence of lighting time on callus initiation rate of *Arachis duranensis*

光照时间(h) Lighting time	接种数 No. of explants	愈伤数 Initiated callus	出愈率(%) Initiation rate
24	44	20	45.45
12	43	43	100.00
0	32	30	93.75
自然光(约 13 h)	40	40	100.00

2.7 蔓花生愈伤组织的分化

从表 7 看出:蔓花生愈伤组织在含有 1 mg/L TDZ 的培养基上,生长 1~2 周后就开始分化出小芽,分化率为 61.11%;而含有 1 mg/L KT 的培养基上的分化率仅为 46.27%。可见,1 mg/L TDZ 对蔓花生愈伤的分化效果好于 1 mg/L KT。

表 7 不同细胞分裂素对蔓花生愈伤组织分化率的影响
Table 7 Influence of different hormone concentration on callus differentiation rate of *Arachis duranensis*

培养基 Medium	外植体 Explant	愈伤数 No. of callus	分化数 Differentiated callus	分化率 Differentiation rate (%)
MS+NAA0.5+6-BA2+TDZ1	幼叶	72	44	61.11
MS+NAA 0.5+6-BA 2+KT 1	幼叶	67	31	46.27

2.8 再生植株的生根培养

胚状体发育成小植株最初是从胚芽开始出现,紧接着叶和根发育,形成完整的再生植株。在植物离体培养中,促根生长的基本培养基大多数使用低浓度的 MS 培养基,因此,本试验采用了 1/2MS 基本培养基以降低无机盐浓度,促进生根。将诱导分化的丛生不定芽切割成具有 2~3 个不定芽的小块,分别接入附加了 1 mg/L NAA 和 1 mg/LPP₃₃₃ 的 1/2MS 培养基,不定芽 9 d 开始生根,30 d 生根率达到 95%,幼苗株高达 1~3 cm。

3 结论

蔓花生的愈伤组织诱导、分化和植株再生受多

种因素制约,这些因素包括不同基本培养基、培养基中各种激素种类和浓度、不同外植体、不同培养条件等等。本研究结果显示:蔓花生幼叶是最佳的外植体,在幼叶愈伤诱导过程中,对光照条件的要求不高,不超过 12 h 光照,光照强度在 $21.6 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 均可;适宜诱导蔓花生愈伤组织的培养基为 MS+0.5 mg/L6-BA+0.2 mg/L2,4-D 或 MS+0.5 mg/L6-BA+2 mg/LNAA;最适的分化培养基为 MS+1 mg/LTDZ+2 mg/L6-BA+0.5 mg/LNAA;最适的生根培养基 1/2MS+1 mg/LNAA+1 mg/LPP₃₃₃。

4 讨论

不同培养基有着不同的营养成分、植物激素、添加物,其不同组合及含量直接影响到供试材料的培养。本实验比较了 MS、1/2MS、B5 培养基对蔓花生幼叶的愈伤诱导率,发现 MS 培养基对蔓花生愈伤诱导的促进作用最为明显。

外植体对植物愈伤组织的诱导率也有明显的影响(郑向丽等,2004)。幼叶、成熟叶、叶柄和茎段四种外植体的比较中,幼叶较好,在接种 6 d 后就出现初始愈伤化,15 d 左右完全愈伤化,而成熟叶 10 d 左右出现初始愈伤化,22 d 左右完全愈伤化,叶柄和茎段的出愈率和出愈时间则更低和更久。其原因可能与植物激素的类型和浓度有关,陈发棣等研究发现,2,4-D 的变化对小菊(*Dendranthema morifolium*)叶片的愈伤组织诱导率影响不大,稳定在 93% 以上;但当 2,4-D 浓度超过 $2.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,小菊叶柄和茎段愈伤组织诱导率均有较明显的下降。本实验的培养基中添加了 2,4-D,外植体愈伤组织诱导率与陈发棣等(2003)观察到的现象相似。

在蔓花生诱导愈伤组织过程中,当 2,4-D 浓度过低时,愈伤组织诱导率也较低;0.1、0.2、0.5、1、2、4、8、12 mg/L 八个水平的 2,4-D 浓度处理中,蔓花生幼叶出愈率从 27.27%~93.65% 变化。而 6-BA 不同浓度对愈伤组织诱导率影响相对不大,0.2、0.5、1、2、5、10 mg/L 六个浓度条件中,蔓花生的出愈率从 67.19%~93.65% 变化。Bhaskaren & Smith(1990)也指出在植物的愈伤组织诱导中,2,4-D 是通常起着决定作用的植物生长调节剂。Bai 和 Torello 等均指出了 2,4-D 对愈伤组织诱导的重要性。Linacero & Vazquez(1990)也证明了过高或过

低的 2,4-D 浓度都不利于胚性愈伤组织的形成和分化作用。本研究在证明了 2,4-D 对蔓花生愈伤组织诱导的重要作用的同时,也发现了过高浓度的 2,4-D 对愈伤组织诱导的抑制作用,特别会影响愈伤组织的质量以及后期愈伤组织的分化和发育。Yamamoto 等(1998)认为 2,4-D 进出质膜的方式是导致高浓度 2,4-D 扰乱组织发育的原因,2,4-D 进入质膜需要由 AUX1 编码的输入载体,但是 2,4-D 流出质膜是完全倚赖自由扩散,外部高浓度抑制了 2,4-D 的排放,导致 2,4-D 在细胞内积累。通过实验,本研究的结论认为,诱导蔓花生幼叶愈伤组织的适宜激素浓度为 2,4-D0.2 mg/L+6-BA0.5 mg/L,可以获得 93.65% 的出愈率。此外,比较 2,4-D、NAA、IBA、IAA 四种生长素对愈伤的作用中,2,4-D 和 NAA 对蔓花生愈伤诱导的诱导率均在 90% 以上,IBA、IAA 的诱导作用较差,考虑 2,4-D 诱导的愈伤组织淡绿色,相比 NAA 诱导的黄绿色,愈伤质量好(吴爱忠等,1994)。

在组织培养中,用较高浓度的生长素(2,4-D)诱导形成愈伤组织,除去生长素,或用适当浓度的活性较低的生长素,同时添加细胞分裂素,就可以诱导芽的形成。Capelle 等(1983)、Ozias-Akins(1989)和 Fasolo 等(1989)指出,在分化培养基中添加 KT,能促进芽的分化。本试验在添加 2 mg/L6-BA 和 0.5 mg/LNAA 的基础上,比较 TDZ 和 KT 两种细胞分裂素的分化效果。蔓花生愈伤组织在含有 1 mg/LTDZ 的培养基上,生长 1~2 周后就开始分化出小芽,分化率为 61.11%。而含有 1 mg/LKT+2 mg/L6-BA+0.5 mg/LNAA 的培养基上的分化率为 46.27%。

参考文献:

- Bai Y, Qu R. 2001. Factors influencing tissue culture responses of mature seeds and immature embryos in turf-type tall fescue[J]. *Plant Breeding*, 120(2): 239-242
- Bhaskaren S, Smith RH. 1990. Regeneration in cereal tissue culture: a review[J]. *Crop Sci*, (30): 1 328-1 338
- Capelle SC, Mok DWS, Kirchner SC, et al. 1983. Effects of thidiazuron on cytokinin autonomy and the Metabolism of N6-C2 isopentenyl[18-14C]adenosine in callus tissues of *Phaseolus lunatus* [J]. *Plant Physiol*, (73): 796-802
- Chen FL(陈发棣), Jiang JF(蒋甲福), Guo WM(郭维明). 2003. Study on irradiation breeding of suspension cell of *Dendranthema morifolium* with small inflorescence I. Selection of genotype, explant and callus induction media(小菊悬浮细胞辐射育种初步研究) (下转第 95 页 Continue on page 95)

(陈炳忠, 2000)报道 NAA、IAA 能促进西鹃开花的结果不一致, 也证明了植物激素因植物种类的不同而表现出不同效果。

(2)由锦绣杜鹃花蕾长度等 5 个测定指标间的相关性分析知, 花蕾大小(包括长度和宽度)与开花期提前时间之间呈极显著正相关, 且相关性较强(相关系数在 0.8 以上), 而花蕾大小(包括长度和宽度)与花蕾期之间呈极显著负相关, 同时花蕾大小(包括长度和宽度)与花径之间也呈极显著正相关性($P < 0.01$), 因此, 促进花蕾的发育可能是提前开花期和提高开花质量的关键因素之一。锦绣杜鹃花芽的分化需要一定的低温量及短日照, 然而南方冬季低温期迟而短, 导致花芽分化完成的时间较晚。可以考虑应用 GA_3 等植物激素代替低温, 或遮光及低温处理使其花芽提前完成分化, 在元旦或春节前一段时间运用 GA_3 结合加温和补光等措施而达到南方冬季锦绣杜鹃催花的目的。

参考文献:

- 陈炳忠. 2000. 西鹃的栽培及花期调控[J]. 花卉, 16(5): 18
- 陈俊愉, 程绪珂. 1990. 中国花经[M]. 上海: 上海文化出版社, 140—145
- 李淑娟. 2004. 西宁地区杜鹃花栽培技术及花期调控[J]. 北方园艺, 28(5): 41
- 刘晓燕. 1999. 激素调控杜鹃花期实验初报[J]. 种子, 18(2): 70
- 马申芳, 刘泽东. 2003. 比利时杜鹃花花期调控技术试验[J]. 江苏林业科技, 30(3): 26—27
- Chen SL(陈诗林), Huang ML(黄敏玲). 2007. Effects of chilling and gibberellin on flowering and bulb reproduction of Asiatic Hybrid Lily(低温和赤霉素对亚洲百合开花及鳞茎繁殖的效应)[J]. J Jilin Agric Univ(吉林农业大学学报), 29(5): 511—517
- Chen WS. 1994. Gibberellin and temperature influence carbohydrate content and flowering in phalsenopsis[J]. Physiol Plant, 90(2): 391—395
- Gong HJ(龚弘娟), Li JW(李洁维), Jiang QS(蒋桥生), et al. 2008. Effects of different plant regulators on rooting of *Actinidia chinensis* cutting(不同植物生长调节剂对中华猕猴桃扦插生根的影响)[J]. Guihaia(广西植物), 28(3): 359—362
- Kane ME. 1995. Gibberellins promote flowering in two crytocyryne species[J]. Hortscience, 30(2): 380
- Klessig DF. 2000. Nitric oxide and salicylic acid signaling in plant defense[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 97: 8 849—8 855
- Nishihara E, Kondo K, Parvezm M. 2003. Role of 5-aminolevulinic acid oxygen-scavenging system in NaCl treated spinach(*Spinacia oleracea*)[J]. J Plant Physiol, 160: 1 085—1 091
- Shi BL(时宝凌). 2006. Application of plant growth regulator on flower regulation(植物生长调节剂在花期调控中的应用)[J]. Shanxi Fore Sci Tech(山西林业科技), 35(3): 26—28, 35
- Zhang LP(张璐萍), Tang KX(唐开学), Zhang LF(张丽芳), et al. 2005. Study of temperature, gibberellin and illumination on flowing phase regulation of colorful *Zantedeschia*(温度、赤霉素、光照对彩色马蹄莲的花期调控)[J]. Seed(种子), 24(10): 36—37
- Zhang YH(张艳红), Zhao FJ(赵凤军), Zhou GZ(周广柱). 2007. Study on regulation measures of *Rhododendron's* florescence in Dandong(激素调控丹东杜鹃花的研究)[J]. Northern Hort(北方园艺), 29(6): 150—152
- Zhao J(赵健), Zhang CP(张翠萍), Li XJ(李秀娟), et al. 2008. Influences of different gibberellin and media on growth of seven cultivars of colour callalily(GA_3 处理和不同栽培基质对彩色马蹄莲生长的影响)[J]. Guihaia(广西植物), 28(3): 407—410
- 究I. 基因型、外植体和诱导愈伤组织培养基的选择[J]. J Nanjing Agric Univ(南京农业大学学报), 26(4): 26—29
- Ding L(丁力), Ding YY(丁月云), Cao SY(曹守云), et al. 1998. Rice transformation mediated by *Agrobacterium*(应用农杆菌转化水稻的研究)[J]. High Tech Letters(高技术通讯), 8(11): 49—52
- Fasolo F, Zimmerman R, Fordham H. 1989. Adventitious shoot formation on excised leaves of in vitro grown shoots of apple cultivars[J]. Plant Cell Tiss Organ Cult, (16): 75—87
- Guo WX(郭维贤), Chen E(陈恩), Huang YB(黄毅斌). 2002. The new greening and green manure varieties——*Arachis pintoi*(绿肥和绿化新品种——平托花生)[J]. Fujian Agric(福建农业), (9): 12
- Linacero R, Vazquez AM. 1990. Somatic embryogenesis from immature inflorescences of rye[J]. Plant Sci, (72): 253—268
- Murashige T, Skoog F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures [J]. Plant Physiol, 15: 473—497
- Ozias A. 1989. Plant regeneration from immature embryos of peanut[J]. Plant Cell Rep, (6): 217—218
- Torello WA, Symington AG. 1984. Regeneration of perennial ryegrass callus tissue[J]. Hort Sci, (19): 56—57
- Wu AZ(吴爱忠), Gan XB(甘晓兵), Cao LK(曹林奎), et al. 1994. Preliminary report on the study of the plantlet regeneration from wild peanut(花生属多年生野生种组织培养研究初报)[J]. J Shanghai Agric Coll(上海农学院学报), 12(3): 210—214
- Yamamoto M, Yamamoto KT. 1998. Differential effects of l-naphthaleneacetic acid, indole-3-acetic acid and 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid on the gravitropic response of roots in an auxin-resistant mutant of *Arabidopsis*, aux 1[J]. Plant Cell Physiol, 39: 660—664
- Zheng XL(郑向丽), Huang YB(黄毅斌), Xu GZ(徐国忠), et al. 2004. Preliminary report on the tissue culture of *Arachis pintoi* cv. Amarillo(平托花生组织培养研究初报)[J]. J Fujian Agri Sci(福建农业学报), 19(1): 62—64
- Zhang ZX(张振霞), Liu P(刘萍), Du XL(杜雪玲), et al. 2007. A study on *Agrobacterium*-mediated GUS transformation for *Lolium perenne*(农杆菌介导 GUS 基因对多年生黑麦草转化的研究)[J]. Guihaia(广西植物), 27(1): 121—126

(上接第 86 页 Continue from page 86)