

我国杉木组织培养技术研究进展*

陈琴 黄开勇 蓝肖 戴俊 郝海坤

(广西林业科学研究院, 南宁 530002)

摘要:杉木是我国南方特有的速生用材树种,具有生长快、产量高、材质好和用途广的特点,在南方林业生产中占据重要地位。熟悉和掌握杉木的组织培养技术,对促进杉木产业的发展具有重要意义。文中从叶、茎尖、茎段和离体胚等外植体的选择,外植体消毒,愈伤组织和芽的诱导分化,继代增殖培养以及壮苗与生根等方面简述近几年我国杉木组织培养技术的研究进展,对杉木组培快繁中的灭菌技术、培养基筛选和生长调节物质使用水平等技术环节进行评述,同时提出目前研究中存在的几个主要问题和今后的发展方向。

关键词:杉木,外植体,组织培养,中国

中图分类号:S722.3+7

文献标识码:A

文章编号:1001-4241(2012)06-0058-06

Research Advances of Tissue Culture Techniques for *Cunninghamia lanceolata* in China

Chen Qin Huang Kaiyong Lan Xiao Dai Jun Hao Haikun

(Guangxi Forestry Research Institute, Nanning 530001, China)

Abstract: *Cunninghamia lanceolata* is a fast-growing and high-yield timber forest species endemic to South China, characterized by fast growth, high production, good quality and wide use, which play an important role in the forestry production in South China. The understanding and grasping of tissue culture techniques of *C. lanceolata* is significant to promote its industry development. This paper summarized China's research advances of tissue culture techniques for *C. lanceolata* in recent years in terms of the selections of explants including leaves, stem apex, stem segments and excised embryos, explants sterilization, callus induce and buds differentiation, multiplication of subculture and seedling rejuvenation and strengthening, and reviewed the techniques including sterilization technique, culture medium screening and the use of plant growth regulators during the process of tissue culture. Meanwhile, several problems about the recent research and the future development direction were put forward.

Key words: *Cunninghamia lanceolata*, explants, tissue culture, China

杉木(*Cunninghamia lanceolata*)是我国特有的针叶用材树种,也是我国华南地区的重要速生用材树种之一^[1-2]。杉木生长快、产量高、分布广^[3-4],其木材材质轻韧、结构均匀、纹理通直、易于加工,不仅是良好的家具用材、建筑用材,也是优良的纸浆用材^[5-7],具有广阔的市场前景。杉木传统的繁育方式以播种繁育为主,此方式育苗成本高,且培育出的苗木参差

不齐,分化明显^[8-10]。现代生物组织培养技术不仅能够有效地克服杉木传统育苗缺陷^[11-12],而且繁育出的无性系苗木可保持母本的优良性状^[13],是获取杉木优质壮苗的有效途径。

我国杉木组织培养研究始于20世纪70年代,迄今为止,在杉木愈伤组织、芽及根系的诱导分化、组培复壮等方面已取得很多研究成果^[14]。李勇^[15]和陈

* 收稿日期:2012-07-31

基金项目:广西“十一五”林业重大科技项目(桂林科学[2010]3号)

作者简介:陈琴(1986-),女,硕士,主要研究方向为人工林定向培育研究,E-mail:jingqin_168@163.com

通讯作者:黄开勇(1973-),男,高级工程师,主要研究方向为林木遗传育种与丰产栽培技术研究,E-mail:huangkgy73@163.com

剑勇^[16]分别采用杉木成熟合子胚和茎尖为初始外植体成功诱导愈伤组织发生,且发现维生素 C 和半胱氨酸能有效地控制褐化发生^[17]。欧阳磊等^[18]对 36 个优良无性系进行组培研究,筛选出 5 个优良无性系建立组培快繁体系。阙国宁^[19]以不同年龄的茎段为外植体进行组培增殖与复壮分析,结果表明外植体母体的年龄显著影响嫩梢及苗木的产量。高小坤^[20]对组培无根苗进行瓶外生根试验,取得显著成效,简化了整个育苗程序。目前,南方的一些杉木产区已利用组培快繁技术对选育出的优良无性系进行了无性育苗造林,并取得了显著的成效^[21-22]。外植体的选择、外植体消毒以及离体培养技术是植物组织培养过程中最重要的 3 大环节,本文主要从这 3 个环节综述 20 世纪 70 年代以来我国杉木组培快繁技术的研究现状,并对研究中存在的一些问题及未来应加强的研究工作探讨,以期对深入开展杉木的组织培养研究提供参考。

1 外植体的选择

外植体是指初次接种的植物材料,是从活体植物上切取下来,用以离体培养的组织或器官。在植物组织培养过程中,外植体选择是否恰当是影响组培快繁体系成功建立的一个重要因素。从理论上讲,植物细胞均具有全能性,在适宜的培养条件下,任何组织或器官均可再生完整植株。但在实际组织培养过程中,不同种类的植物,同一植物不同器官,同一器官处于不同生理状态,其再生能力以及对外界诱导条件的敏感程度是不同的。因此,选择适宜的外植体需要从外植体的来源以及外植体的生理状态与发育年龄等方面综合考虑。

1.1 取材部位

同一植物的不同器官对同一诱导条件的反应是不一致的。有的部位诱导分化的成功率高;而有的部位却很难脱分化,有时即使脱分化,再分化频率也很低^[23]。在杉木组织培养中,常用的外植体为萌蘖条(或嫩枝)茎尖或茎段,有些报道中也提到用叶片、成熟种子以及离体胚。

1.1.1 子叶和针叶

朱木兰等^[24]对杉木子叶和针叶的再生系统进行比较发现,子叶和针叶均像茎段一样,可以直接以器官发生方式形成不定芽。子叶具有较强的再生能力,其再生频率达 93.7%;而针叶的再生系统不仅再生

频率和平均芽数很低,而且不能排除定芽(腋芽)的存在。子叶再生系统形成的不定芽稳定性好,适合优良无性系的离体快繁。席梦利等^[25]研究发现,子叶在适宜的诱导条件下可以诱导不定芽和体胚发生。DCR 基本培养基最适合杉木实生苗子叶诱导不定芽和体胚发生,而植物生长调节剂噻重氮苯基脲(TDZ)对体胚发生具有显著的促进作用。总体而言,以叶作为外植体材料进行离体培养,杉木子叶比针叶更具优势。

1.1.2 茎尖、茎段和实生苗胚轴

茎尖和茎段是植物组织培养最常用的原始外植体材料。对于大多数植物而言,茎尖遗传性稳定,生长速度快,再生能力强,是最好的选材部位;但茎尖材料来源有限,难以满足试验需求。为此,茎段得到了广泛的应用,可解决培养材料不足的困难^[23]。朱木兰等^[24]研究发现,在富含 1.0 mg/L 3-吲哚丁酸(IBA)和 0.1 mg/L α -萘乙酸(NAA)的 DCR 培养基上,茎段以直接器官发生形式生成芽,其再生频率达 100%,且遗传性稳定,移栽成活率高。另外,研究者还对幼龄实生苗的下胚轴离体培养进行了研究,发现下胚轴和茎段一样,能成功诱导不定芽和体胚发生;同时还发现下胚轴多从伤口长出不定芽且具有明显的极性,即靠近实生苗顶芽的一端先发生不定芽且数量较多,远离实生苗顶芽的一端后发生不定芽且数量较少。杉木茎尖、茎段和实生苗胚轴均具有较强的再生能力,但从材料来源考虑,以杉木茎段作为培养材料,更能满足试验或大规模组培苗生产的需要。

1.1.3 离体胚

据文献统计,几年前我国杉木组培快繁研究主要以杉木幼苗、幼树以及成年树的叶、茎尖和茎段作为试验材料,而以杉木离体胚为试验材料的研究未见报道^[16, 26-27]。近几年,随着杉木组培快繁研究的不断发展,研究者们开始对杉木离体胚的离体培养进行研究,并取得了一定成效。席梦利等^[28]对杉木成熟合子胚的离体培养研究发现,利用杉木成熟合子胚作为试验材料,可成功地诱导不定芽和体胚发生,且污染率低。在适宜的诱导条件下,杉木合子胚愈伤组织诱导生根率达 100%,而杉木萌蘖芽的生根率仅为 40%~80%^[29]。未成熟合子胚在 DCR 基本培养基上未能诱导出体胚,而在 BM 系列基本培养基上能高效地诱导出体胚^[30]。目前,有关以离体胚作为外植体材料的报道仍较少,还需进一步研究。

1.2 器官的生理状态和发育年龄

外植体的器官生理状态和年龄直接影响形态的发生^[23]。一般情况下,幼年组织比老年组织具有更高的形态发生能力;生理年龄越大的组织或器官越接近发育上的成熟,其再生能力越弱甚至完全失去再生能力。黄发新等^[31]研究了不同生理老化程度杉木外植体的组培效果,结果表明成年树上部侧枝外植体的芽分化数量、嫩枝数量、嫩梢长度、生根率、根长等性状均始终显著地低于树干基部萌条和经复壮处理的外植体。席梦利等^[25]比较了不同苗龄对不定芽和体胚发生的影响,结果表明苗龄越小则外植体的反应越快:苗龄在1~10天时,随着苗龄的增大,子叶和下胚轴的体胚发生频率、不定芽诱导频率、平均不定芽数及不定芽的形成能力均有所下降,但下降趋势不明显;当苗龄大于10天时,子叶和下胚轴的体胚发生频率、不定芽诱导频率、平均不定芽数及不定芽的形成能力均迅速下降。宋春雷等^[30]对杉木未成熟合子胚的离体培养研究发现,未成熟合子胚所处的发育阶段对能否成功进行体胚发生起着决定性作用。处于胚胎选择阶段和优势胚阶段的合子胚具有发达的胚柄结构,裂生胚细胞没有完全分化,分裂能力旺盛,容易诱导体胚发生。

2 外植体消毒

在植物组织培养过程中,外植体的灭菌技术是影响整个组织培养过程能否顺利进行的重要因素^[32-34]。不同外植体类型对灭菌剂的种类、浓度以及处理时间长短的敏感程度不同^[23],因此在灭菌试剂的选择上和时间的控制上需根据不同材料的敏感程度来决定。在杉木组培试验研究中,升汞为最常用的灭菌剂。根据取材部位的不同,采用0.1%的升汞溶液浸泡外植体材料4~15 min,均取得了较好的灭菌效果^[18, 24, 29, 31]。陈剑勇^[16]将次氯酸钠溶液与升汞溶液相结合对杉木茎顶芽进行灭菌处理,其灭菌效果显著。自1881年Koch首先发现升汞具有杀菌效果以来,升汞的使用具有很长的历史^[35]。升汞杀菌作用强,但毒性和腐蚀性也大,对人畜有剧毒。另外,升汞对细菌的渗透性小,遇有机物时杀菌效果差,且不易去除,对接种后的外植体生长具有一定影响^[23]。因此,研究其他灭菌试剂代替升汞具有一定必要性。目前,我国已有部分学者对其他灭菌剂在杉木组织培养

中的应用进行了研究。席梦利等^[20]利用稀释10倍的84消毒液对成熟杉木种子进行消毒,效果较好。次氯酸钠的灭菌原理是其不断分解形成新生态氧,利用新生态氧的极强氧化性使外植体上的菌体和病毒蛋白质等变性致死,从而达到杀菌的效果。对于成熟的种子,采用10%的次氯酸钠消毒15 min^[16],可取得较好的灭菌效果。曾余力等^[36]采用25.0 g/L次氯酸钠溶液对成熟胚真空灭菌10 min,消毒效果十分显著,污染率仅为6%,出苗率达86%。外植体消毒是制约杉木组织培养的关键环节,不同来源以及不同老化程度的外植体灭菌的难易程度不同。因此,需进一步深入研究外植体的消毒方法,特别是外植体内生菌的污染控制方法。

3 离体培养技术

培养基筛选是离体培养技术的关键。培养基不仅为外植体提供营养,而且具有维持植物细胞渗透压、酸碱度和水分等作用。基本培养基的不同以及植物生长调节物质种类及浓度的差异,对同一外植体的诱导分化、增殖培养以及壮苗生根产生的效果不同。在快繁过程中,通常需要根据培养目的来调节培养基成分,以满足培养体在不同生长时期的营养需求。

3.1 诱导分化

在不同基本培养基和生长调节物质的调配使用下,不同外植体可诱导出同一器官或组织,同一外植体也可诱导出不同的器官或组织。不同杉木外植体在相应的诱导条件下,可诱导愈伤组织、不定芽和体胚发生。通常情况下,愈伤组织和不定芽的诱导比较容易,而体胚诱导较困难^[16, 28, 37]。在诱导杉木外植体分化形成愈伤组织、不定芽和体胚的过程中,将接种后的外植体置于暗室培养约1周后转入光照培养,对诱导分化具有十分明显的促进作用^[16, 24, 38]。

3.1.1 愈伤组织诱导

杉木外植体可以通过间接器官发生的方式,先脱分化形成愈伤组织,再进一步分化形成不定芽。不同杉木外植体类型,在诱导外植体形成愈伤组织的基本培养基以及激素配比上存在着一定差异。杉木顶芽、茎尖和茎段在1/2MS+0.5~0.9 mg/L 6-苄氨基嘌呤(6-BA),或是1/2MS+0.5 mg/L 6-BA+0.5~2.0 mg/L 2,4-二氯苯氧乙酸(2,4-D)培养基上均可有效地诱导愈伤组织产生^[18, 37, 39]。杉木花药在1/2MS+1.0~1.5 mg/L 2,4-D的培养基上愈伤组

织诱导频率最高,质量最好^[40]。杉木下胚轴在附加 2.0 mg/L 6-BA + 0.2 mg/L NAA 的 DCR 培养基上愈伤诱导率达 100%^[24]。杉木成熟合子胚在附加 2.0 mg/L 2,4-D + 1.0 mg/L 6-BA + 1.0 mg/L 6-糠氨基嘌呤(KT)的 1/2MS 和 MS 培养基上的愈伤组织诱导率均可达 100%,但从愈伤组织的褐化程度和生长状态来看,1/2MS 基本培养基更适合杉木成熟合子胚愈伤组织的诱导^[15]。

3.1.2 芽诱导

在杉木组培快繁试验中,使杉木外植体通过直接器官发生的方式形成不定芽,是获取不定芽最快捷和有效的途径。杉木外植体诱导芽的形成比较容易,且对生长调节物质的要求不专一^[41],但不同种类和浓度的生长调节物质的配合使用对不定芽的形成和生长具有很大影响。在杉木不定芽诱导过程中,1/2MS (或 MS)为常用的基本培养基,IBA 和 6-BA 为主要的生长调节物质,6-BA 促进培养体上不定芽的分化和形成,而 IBA 促进生长^[42]。在 1/2MS(或 MS)基本培养基上单独使用 0.3~0.8 mg/L 的 6-BA 即可成功诱导新生芽发生^[18];将 6-BA 与 IBA 配合使用则需适当调低 6-BA 的使用浓度,且 IBA 浓度应以较低(0.2~0.3 mg/L)为宜,以解除培养初期对不定芽分化的抑制作用^[40,43-44]。除 1/2MS(或 MS)基本培养基外,其他培养基与不同激素配合使用也能获得较好的诱导效果。在 WPM 基本培养基中配合使用 1.5 mg/L 6-BA + 2.0 mg/L IBA + 1.2 mg/L 2,4-D 对杉木幼茎不定芽的诱导效果比较好^[41];DCR + 1.0 mg/L 6-BA + 0.002 mg/L TDZ + 0.1 mg/L NAA 培养基对杉木成熟合子胚诱导不定芽最有效^[28]。另外,季节对不定芽的诱导具有一定影响,杉木外植体的诱导培养宜在冬春季节进行,秋夏季节诱导效果较差^[18]。

3.1.3 体胚诱导

我国在杉木外植体体胚诱导方面的研究起步较晚。1992 年汤定钦^[40]在对杉木组织培养进行述评时提出:胚状体具有数量多、繁殖速度快、结构完整 3 大优点,开发胚状体途径的组培研究具有广阔的前景。但迄今为止,对外植体体胚诱导方面的研究较少,仍未对不同类型的外植体以及不同培养条件下的体胚诱导进行全面研究。杉木离体培养体胚的诱导具有一定难度,对于同一类型的外植体,其生理年龄

越大,体胚诱导越困难。宋春雷等^[30]研究发现,处于胚胎选择阶段和优势胚阶段的合子胚,其裂生胚细胞未完全分化,分裂能力强,容易诱导体胚发生。席梦利等^[25]也发现苗龄小于 10 天的杉木子叶和下胚轴体胚发生频率显著高于苗龄大于 10 天时。杉木体胚的诱导不仅与外植体自身的类型以及老化程度有关,还与所使用的基本培养基有一定关系。将杉木实生苗子叶接种在附加相同激素水平的 1/2MS,MS,DCR 和 GD 的基本培养基上,体胚诱导频率具有明显差异,DCR 基本培养基最适合杉木实生苗子叶诱导体胚发生^[28]。

3.2 继代增殖培养

杉木的增殖培养关系到繁殖系数的高低、苗木的成本以及组培快繁的效益^[43],因此增殖培养基的筛选显得至关重要。植物生长调节物质 6-BA 和 IBA 在杉木增殖培养中得到了广泛应用。早在 20 世纪 80 年代,阙国宁等^[19,37,42]研究发现,附加 0.5~0.7 mg/L 6-BA 和 0.2~0.4 mg/L IBA 的 MS 培养基即可满足杉木不同种源、不同无性系和不同树龄的外植体的增殖培养。2007 年吴大忠^[43]通过对 11 个不同无性系进行增殖培养实验研究,进一步证实 MS + 0.6 mg/L 6-BA + 0.3 mg/L IBA 具有较大的广谱性。在杉木增殖培养中,除 IBA 外,将生长调节物质 KT,NAA,2,4-D 等与 6-BA 配合使用,也具有很好的增殖效果。李勇以杉木成熟合子胚为起始外植体,采用 1/2MS + 1.0 mg/L 2,4-D + 0.5 mg/L 6-BA + 0.5 mg/L KT 对愈伤组织进行增殖继代培养,获得了较好的增殖效果。曾雷等^[27]研究发现,1/2MS + 0.2 mg/L 6-BA + 0.2 mg/L NAA 比较适合杉木不定芽的增殖培养。

3.3 壮苗与生根

综合前人的研究表明,附加 0.1~0.5 mg/L IBA 和 0.5~1.0 mg/L 3-吲哚乙酸(IAA)的 MS 培养基可满足大多数杉木无性系壮苗培养。与芽的诱导相比,根系诱导比较困难^[29]。基因型在一定程度上控制根系的形成^[45-46],而不同无性系的外植体基因型之间存在着较大差异,因此不同无性系之间的根系诱导试验也存在较大差异^[23]。

外植体类型对生根具有一定影响,不同取材部位其内源抑制物的积累程度不同,因此对植物生长激素的削弱和抑制作用不同^[47]。陈剑勇^[16]研究杉木成

熟合子胚愈伤组织诱导生根率达 100%；而曾雷等^[27]对杉木萌蘖条进行诱导生根，其生根率仅为 40%~80%。继代代数对苗木质量及生根有较大影响，苗木质量随继代代数增加呈先上升后再下降的趋势，而继代代数增加对根系诱导有利。苏秀成^[48]研究表明，继代培养代数为 8~9 代时，苗木质量最好；而庞丽等^[49]研究发现，经过 15 代继代增殖培养后的杉木优良无性系，其生根率可达 93%~100%。

大量研究表明，愈伤组织对生根具有极显著的影响^[50]。琚淑明等^[51]研究发现，接种不带愈伤组织的芽，其生根率明显降低。而胡庆等^[52]研究认为，愈伤组织块过大也不利于根系产生。高小坤^[20]研究发现，将愈伤组织切除 1/2 进行培养时，其生根率最高。

高浓度 MS 对针叶树根系诱导不利^[53]。综合前人的研究结果显示，附含低浓度生长素的 1/2MS 或 1/4MS 适合杉科植物根系的诱导，其中 1/4MS 比 1/2MS 更有利^[45-46, 49]。董林娜等^[54]研究发现，培养基中无机盐浓度过大，组培苗生根状况极差，根系少，粗又短，且为黄色；而 1/4MS 培养基中诱导生成的根系整齐，色泽好，生根率高，平均数大，且移栽成活率高。席梦利等^[28]也发现，在生根诱导过程中，随 MS 培养基中大量元素的减少，不定根形成能力迅速提高。

根系诱导通常使用生长素，而对细胞分裂素使用较少^[45]。IBA 和 NAA 广泛应用于杉木离体培养诱导生根^[16, 55]。低浓度的 IBA 具有促进生根的作用，而 NAA 对 IBA 的诱导具有促进作用^[49]。因此，其组合具有更好的诱导效果。在 1/4MS 或 1/2MS 培养基中添加 0.14~1.2 mg/L IBA + 0.1~0.5 mg/L NAA 或 0.3~1.0 mg/L IBA + 0.5~1.2 mg/L IAA，可使杉木组培苗生根率达 90%~100%^[16, 49, 55]。

壮苗与生根是提高苗木质量的关键，而生根的影响因素较多，是杉木组织培养中的难点。虽然前人在杉木组培生根方面已开展了大量研究，但外植体来源不同，所需的生根诱导条件具有很大差异，因此仍需进一步研究。

4 问题与展望

1) 虽然我国在杉木组培快繁方面取得了很大进展，且一些省份已成功建立杉木优良无性系的组培快繁体系并已生产化。但是，目前杉木组培试验取材的区域范围过于局限，其代表性不够广泛。在今后的研

究中，应通过对全国不同地区杉木优良无性系的组培技术进行系统研究，建立更具广谱性的杉木组培快繁体系。

2) 杉木外植体灭菌技术研究需进一步加强。在灭菌剂的种类、浓度及处理时间对外植体的影响方面的研究尚不多见。目前我国组织培养研究中应用广泛的灭菌技术是采用 75% 乙醇和 0.1% 升汞的二步灭菌法。前人在研究其他植物外植体灭菌时发现，乙醇的处理时间是影响茎段腋芽萌发的主要因素^[56]，升汞处理对外植体具有一定不良影响^[23]。在杉木组织培养中，腋芽诱导是获取不定芽的主要途径，因此在灭菌技术方面应开展进一步研究。

3) 杉木组培愈伤组织诱导和增殖培养过程中的褐化问题是影响整个组培过程的关键因素。目前，杉木组培过程中的褐化问题仍未完全解决，仅有少数文献报道了褐化控制研究，但其研究范围十分有限，仅对少数杉木优良单株茎尖诱导出的愈伤组织团进行了研究。因此，杉木组织培养过程中的褐化问题还需进一步研究。

4) 目前，我国杉木组织培养研究的学科交叉力度不够，大多数研究成果是通过经验获得，缺乏生理学、分子生物学、细胞学方面的理论支撑，今后需要开展多学科交叉研究。

参 考 文 献

- [1] 黄开勇, 陈代喜, 郝海坤, 等. 杉木无性系对比测定与选择研究 [C]// 第三届南方林木育种研讨会论文集(摘要)集. 北京: 中国林学会林木遗传育种分会, 2006.
- [2] 郑仁华. 杉木遗传育种研究进展与对策 [J]. 世界林业研究, 2005, 18(3): 63-65.
- [3] 彭万喜, 吴义强, 张仲凤, 等. 中国的杉木研究现状与发展途径 [J]. 世界林业研究, 2006, 19(5): 54-58.
- [4] 陈代喜, 吴有良, 莫尚伟, 等. 广西杉木两种选育现状与对策 [J]. 林业科技开发, 2010, 24(1): 1-5.
- [5] 周天相. 杉木无性系育种和良种繁育新技术 [M]. 北京: 中国林业出版社, 1990: 1-57.
- [6] 黄安民, 费本华, 刘君良. 杉木木材性质研究进展 [J]. 世界林业研究, 2006, 19(1): 47-52.
- [7] 俞新妥. 中国杉木 90 年代的研究进展: I. 杉木研究的特点及有关基础研究的综述 [J]. 福建林学院学报, 2000, 20(1): 86-95.
- [8] 王琳雯. 杉木壮苗培育技术 [J]. 林业勘察设计, 2006(2): 129-130.
- [9] 杨春艳. 杉木育苗和造林技术探讨 [J]. 林业调查规划, 2006, 31(2): 97-99.
- [10] 肖复明, 曾志光, 沈彩周. 杉木速生优良无性系选育 [J]. 林业

- 科技开发, 2006, 20(2): 8-11.
- [11] 余养福. 杉木优良无性系选择研究[J]. 林业勘察设计, 2005(2): 77-80.
- [12] 黄金通, 林应钦. 浅析杉木培育实用新技术[J]. 中国农村小康科技, 2005(7): 40-41, 46.
- [13] 金江群, 韩素英, 郭泉水. 柏科植物组织培养研究现状与展望[J]. 世界林业研究, 2012, 25(2): 34-40.
- [14] 苏秀城, 余小涵, 耿玉敏, 等. 杉木优良无性系组培繁育实验[J]. 福建林业科技, 1997, 24(4): 36-40.
- [15] 李勇. 杉木愈伤组织诱导及植株再生[J]. 林业勘察设计, 2011(1): 84-88.
- [16] 陈剑勇. 杉木茎尖诱导愈伤组织及植株再生研究[J]. 西南林学院学报, 2009, 29(5): 37-41.
- [17] 陈剑勇. 杉木愈伤组织培养中的褐化控制研究[J]. 亚热带植物科学, 2011, 40(3): 47-49.
- [18] 欧阳磊, 郑仁华, 翁玉榛, 等. 杉木优良无性系组培快繁技术体系的建立[J]. 南京林业大学学报: 自然科学版, 2007, 31(3): 47-51.
- [19] 阙国宁. 杉木组培嫩梢增殖与复壮的分析[J]. 林业科学研究, 1989, 12(6): 546-551.
- [20] 高小坤. 杉木组培无根苗瓶外生根试验[J]. 福建林业科技, 2006, 33(4): 163-165.
- [21] 李振誉, 国丰富. 有性和无性系选育相结合, 加速杉木造林良种化[J]. 林业科技开发, 1992(1): 5-6.
- [22] 郑仁华, 施季森. 福建省杉木良种繁育现状与对策[J]. 林业科技开发, 2004, 18(2): 3-7.
- [23] 李永文, 刘新波. 植物组织培养技术[M]. 北京: 北京大学出版社, 2007: 44.
- [24] 朱木兰, 王骥, 卫志明. 杉木再生系统的比较研究[J]. 分子细胞生物学报, 2007, 40(4): 239-244.
- [25] 席梦利, 施季森. 杉木子叶和下胚轴的器官发生和体胚发生[J]. 分子植物育种, 2005, 3(6): 846-852.
- [26] 吴中伦. 杉木[M]. 北京: 中国林业出版社, 1984: 328-410.
- [27] 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.
- [28] 席梦利, 施季森. 杉木成熟合子胚器官发生和体胚发生[J]. 林业科学, 2006, 42(9): 29-34.
- [29] 陈勤, 王斐, 琚淑明. 杉科植物组培生根研究机理综述[J]. 林业实用技术, 2011(5): 3-4.
- [30] 宋春雷, 席梦利, 施季森. 杉木体细胞胚胎发生研究[C]//第六届全国林木遗传育种大会论文集. 北京: 中国林学会林木遗传育种分会, 2008.
- [31] 黄发新, 李明鹤. 不同生理老化程度杉木外植体的组培效果[J]. 南京林业大学学报, 2001, 25(2): 83-86.
- [32] 杨宇, 金强, 王新建. 二步灭菌法在组织培养中的应用[J]. 北方园艺, 2010(7): 143-144.
- [33] 张桂海. 组织培养过程中的关键问题探讨[J]. 中国果菜, 2006(6): 28.
- [34] 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.
- [35] 杨岚, 唐琳, 刘建国. 番茄种子两种灭菌法效果评价[J]. 贵州医药, 2008, 32(1): 26-28.
- [36] 曾余力, 林新春, 桂仁意, 等. 南方红豆杉离体胚培养诱导不定芽研究[J]. 浙江林学院学报, 2010, 27(40): 614-619.
- [37] 阙国宁. 杉木组织培养的初步研究[J]. 林业科学, 1980, 16(增刊1), 137-140.
- [38] 吴大忠. 不同杉木优良无性系组培诱导特性的研究[J]. 安徽林业科技, 1999, 26(1): 26-29.
- [39] 朱配演. 杉木茎尖培养的初步研究[J]. 福建林业科技通讯, 1981(5): 14-17.
- [40] 汤定钦. 杉木组织培养评述[J]. 福建林业科技, 1992, 19(1): 65-69.
- [41] 蒋向辉, 余朝文, 郝博飞, 等. 杉木幼茎离体培养与快繁体系的建立[J]. 浙江林业科技, 2008, 28(3): 52-55.
- [42] 阙国宁. BA和IBA对离体培养的杉木芽分化和生长的影响[J]. 林业科学, 1983, 19(4): 406-409.
- [43] 吴大忠. 不同杉木无性系组培增殖效果的比较研究[J]. 安徽农学通报, 2007, 13(17): 113-114.
- [44] 林荣华, 叶冰莹, 庄振宏, 等. 杉木高效再生与基因转化的初步研究[J]. 生命科学研究, 2002, 6(4): 352-355.
- [45] 王忠. 植物生理学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 320-331.
- [46] 彭绿春, 苏艳, 王丽花, 等. 北美红杉嫩枝的标准化离体繁殖技术研究[J]. 中国农学通报, 2010, 26(4): 89-92.
- [47] Hartmann H T, Kester D, Davies F, et al. Plant propagation: principles and practices[M]. 7th edition. USA: Pearson Higher Education, USA, 2001.
- [48] 苏秀城. 杉木无性系不同继代数组培苗差异研究[J]. 福建林学院学报, 2000, 20(4): 353-356.
- [49] 庞丽, 林思祖, 曹光球, 等. 杉木优良无性系组培苗诱导根的研究[J]. 江西农业大学学报, 2008, 30(2): 283-286.
- [50] 李博, 李火根, 王光萍, 等. 水松的组织培养及植株再生[J]. 植物生理学通讯, 2006, 42(6): 1136.
- [51] 琚淑明, 高明侠, 徐德兰. 耐寒北美红杉无性快繁技术研究[J]. 林业实用技术, 2009(1): 23-26.
- [52] 胡庆, 段晓毛, 吴雪枫, 等. 北美红杉的组织培养[J]. 江西林业科技, 2003(5): 10-12.
- [53] 黄健秋, 卫志明. 松属树种的组织培养和原生质体培养[J]. 植物学通报, 1994, 11(1): 34-42.
- [54] 董林娜, 路群, 周根余. 北美红杉无性快繁技术的研究[J]. 上海农业学报, 2005, 21(4): 67-70.
- [55] 林景泉. 速生优良杉木组培继代及生根培养研究[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(15): 8933-8934, 8937.
- [56] 张志敏, 尚旭岚, 王纪, 等. 消毒方法和培养基对青钱柳茎段腋芽萌发的影响[J]. 林业科技开发, 2010, 24(3): 87-90.