

坪山柚上胚轴离体再生体系的建立

曾艳^{1,2}, 邹利娟², 苏智先^{2*}, 陈仙³

(1. 西华师范大学环境科学与生物多样性保护省级重点实验室, 四川南充 637002; 2. 四川省生态与环境技术重点实验室, 四川绵阳 621000; 3. 南充市职业技术学院, 四川南充 637002)

摘要: 以坪山柚(*Citrus grandis* Osbeck 'Pingshanyou')无菌苗的上胚轴为外植体,研究了其离体培养和植株再生技术。结果表明:坪山柚上胚轴的形态学上部出芽能力最强,诱导不定芽的最佳培养基为:MS + 6-BA 1.0 mg L⁻¹ + TDZ 0.05 mg L⁻¹ + NAA 0.2 mg L⁻¹ + GA₃ 1.0 mg L⁻¹ + 蔗糖 40 g L⁻¹,培养4周后不定芽诱导率为100%,平均不定芽数为8.35;最适生根培养基为1/2MS + NAA 1.5 mg L⁻¹,生根率为88.7%,平均生根6.4条;生根试管苗移栽30 d后成活率达90%。

关键词: 坪山柚; 离体培养; 植株再生

中图分类号:Q943.1

文献标识码:A

文章编号:1005-3395(2010)03-0298-06

Plant Regeneration *in vitro* from Epicotyl of *Citrus grandis* Osbeck 'Pingshanyou'

ZENG Yan^{1,2}, ZOU Li-juan², SU Zhi-xian^{2*}, CHEN Xian³

(1. Sichuan Provincial Key Laboratory of Environmental Science and Biodiversity Conservation, China West Normal University, Nanchong 637002, China; 2. Sichuan Provincial Key Laboratory of Ecology and Environmental Technology, Mianyang 621000, China; 3. Nanchong Professional Technical College, Nanchong 637002, China)

Abstract: The plant regeneration *in vitro* was studied using epicotyl segments of *Citrus grandis* Osbeck 'Pingshanyou' as explants. The results showed that the optimum explants were the upper segments of epicotyl, the optimum medium for adventitious shoots induction was MS + 6-BA 1.0 mg L⁻¹ + TDZ 0.05 mg L⁻¹ + NAA 0.2 mg L⁻¹ + GA₃ 1.0 mg L⁻¹ + sucrose 40 g L⁻¹, the induction rate was 100% and the average adventitious shoots reached 8.35 after cultured for 4 weeks. The optimum medium for rooting was 1/2MS + NAA 1.5 mg L⁻¹, the rooting and the average roots were 88.7% and 6.4, respectively. The plantlet survival was 90% after transplanted for 30 days.

Key words: *Citrus grandis* Osbeck 'Pingshanyou'; Culture *in vitro*; Plant regeneration

坪山柚(*Citrus grandis* Osbeck 'Pingshanyou')是芸香科(Rutaceae)柑桔属植物,原产于福建省华安县新圩镇,其果皮橙黄鲜艳且薄、肉脆、汁多味甜少酸,营养丰富,耐贮藏且丰产稳产,是福建省乃至全国的名优水果之一,也是出口的重要水果,具有防止血管硬化、减肥、助消化、化痰润肺之功效,柚皮可加工柚皮糖,柚果瓢可作果汁饮料,经济价值和药用价值均高。

由于坪山柚传统的种子繁殖方式发芽率低,并且遗传性状易产生较大变异,嫁接成活率高但成本也高,因此很难满足市场对良种柚的大量需求。利用组培技术进行快速繁殖,不但可以克服传统方法费工费时的缺点,又能获得具有高度一致和优良表型的群体;而且建立一个高效、稳定的快速繁殖体系可为苗木繁育、诱变育种和遗传转化等研究奠定基础。目前国内外关于柚类离体培养再生植株的

收稿日期:2009-08-11 接受日期:2009-11-10

基金项目:四川省教育厅项目(2003A175);四川省绵阳市科技攻关项目(2005BN001-1)资助

作者简介:曾艳(1981~),女,硕士,从事植物组培和植物生理研究, e-mail: zengyan1218@126.com

* 通讯作者 Corresponding author, e-mail: zxsu@mnu.edu.cn

研究仅限于沙田柚等^[1-10],并且再生植株成苗周期较长,增殖效果不佳。本实验首次以坪山柚种子萌发的无菌苗为试材,探讨影响上胚轴器官形成和植株再生的因素,以期建立高效再生体系,为柚类植物的品种改良和遗传转化研究提供参考。

1 材料和方法

1.1 无菌实生苗的获取

2008年11月中旬,从重庆市农业科学院果树研究所采取坪山柚(*Citrus grandis* Osbeck 'Pingshanyou')果实,取饱满种子用清水洗净,剥去外种皮,在超净工作台内用75%的酒精消毒30s,无菌水冲洗1次,再用0.1%升汞溶液泡洗10min,无菌水冲洗5次,用滤纸吸干表面水分,剥去内种皮,种子按形态学上端在上的放置方式接种于不含激素的MS培养基上。3周后,取无菌实生苗的上胚轴为外植体接种。

1.2 不定芽的诱导

以MS为基本培养基,添加不同浓度6-BA、TDZ、NAA、蔗糖(30 g L⁻¹),琼脂(8 g L⁻¹),调节pH值至5.8~6.0,高压灭菌20min(121℃)后备用。将上胚轴分成上、中、下3部分,然后每部分切成长约1cm的小段,按形态学上端在上放置方式接种于培养基后置于温度24±1℃,光照强度25 μmol m⁻² s⁻¹,光照12 h d⁻¹的培养室内培养。培养4周后统计诱导的不定芽总数(以肉眼可见的独立的不定芽为标准),筛选出诱导不定芽的最佳培养基和上胚轴出芽能力最强的部位。

1.3 蔗糖浓度对不定芽再生的影响

蔗糖浓度设置5个处理:10、20、30、40、50 g L⁻¹,取上胚轴的形态学上部切段作为外植体接种于MS+6-BA 1.0 mg L⁻¹+TDZ 0.05 mg L⁻¹+NAA 0.2 mg L⁻¹的培养基,培养基附加琼脂8 g L⁻¹,培养条件同上。

1.4 GA₃对不定芽再生的影响

GA₃浓度设置5个处理:0、0.5、1.0、2.0、5.0 mg L⁻¹,取上胚轴的形态学上部切段接种于MS+6-BA 1.0 mg L⁻¹+TDZ 0.05 mg L⁻¹+NAA 0.2 mg L⁻¹培养基中,培养基附加蔗糖40 g L⁻¹,琼脂8 g L⁻¹,培养条件同上。

1.5 不定芽的生根

待不定芽长至3~5cm高时,切下单个不定

芽,接种于生根培养基中。4周后记录生根情况,统计生根数。

1.6 数据处理

以上各处理接种10瓶,每瓶接种3个外植体。重复3次。培养时间4周,记录外植体的生长状况。不定芽诱导率(%)=(再生不定芽外植体数/接种外植体数)×100%,平均不定芽数=再生不定芽总数/再生不定芽的外植体数,生根率(%)=(生根的外植体数/接种的外植体数)×100%,平均根数=再生不定根总数/生根的外植体数。实验数据采用SPSS13.0进行单因素方差多重比较分析。

2 结果和分析

2.1 不同生长调节剂组合对不定芽诱导的影响

将外植体的上、中、下3部分接种于添加不同生长调节剂的培养基中,1周左右上胚轴的顶端冒出芽点,外植体开始陆续出芽,4周后统计出芽情况。由表1可知,供试的13种培养基均能直接诱导不定芽。当培养基中添加6-BA 1.5 mg L⁻¹和NAA 0.05 mg L⁻¹时,不定芽的诱导率为80.36%,平均不定芽数为5.36;而当培养基中添加6-BA 1.0 mg L⁻¹、TDZ 0.05 mg L⁻¹、NAA 0.05 mg L⁻¹时,不定芽诱导率最高,为88.23%,平均不定芽数为5.83,与添加6-BA 1.0 mg L⁻¹、TDZ 0.05 mg L⁻¹、NAA 0.2 mg L⁻¹培养基的不定芽诱导率无显著差异($P=0.229$),与其他培养基有显著差异($P<0.05$)。因此,在培养基中添加0.05 mg L⁻¹TDZ能提高坪山柚上胚轴不定芽的诱导率和平均不定芽数,诱导不定芽的最佳培养基为:MS+6-BA 1.0 mg L⁻¹+TDZ 0.05 mg L⁻¹+NAA 0.2 mg L⁻¹+蔗糖30 g L⁻¹,不定芽的诱导率能达到84.5%,诱导的不定芽数最多,为6.03,且芽生长健壮。

2.2 上胚轴不同部位对不定芽再生的影响

由表2可知,坪山柚上胚轴不同部位的出芽能力差异显著。上胚轴的形态学上部切段的不定芽诱导率最高(90.27%)与中部切段无显著差异($P=0.256$),但与下部切段差异显著($P<0.05$);并且上部切段的每个外植体分化不定芽数目最多(6.23),与中部切段和下部切段的平均不定芽数差异均显著($P<0.05$)。因此,坪山柚上胚轴不同部位出芽能力由强到弱表现为:形态学上部>中部>下部,这种差异可能是上胚轴的极性生长造成的。

表 1 不同生长调节剂组合对坪山柚上胚轴不定芽诱导的影响

Table 1 Effect of growth regulators on adventitious bud induction from epicotyl of 'Pingshanyou'

生长调节剂 Growth regulator			外植体数	不定芽诱导率 (%)	平均不定芽数
6-BA (mg L ⁻¹)	TDZ (mg L ⁻¹)	NAA (mg L ⁻¹)	Number of explants	Adventitious bud induction rate	Average adventitious buds
1.0	0	0.05	30	66.7d	4.39e
1.5	0	0.05	30	80.36c	5.36c
1.5	0	0.2	30	55.43e	3.99f
2.0	0	0.2	30	68.83d	4.88d
0.5	0.05	0.05	30	81.73bc	5.58bc
1.0	0.05	0.05	30	88.23a	5.83ab
1.0	0.05	0.2	30	84.5ab	6.03a
1.5	0.05	0.2	30	82.03bc	5.79ab
1.0	0.15	0.05	30	68.33d	4.57e
1.5	0.15	0.2	30	50.4f	3.85fg
2.0	0.15	0.2	30	48.73f	3.64g
1.0	0.3	0.2	30	46.73f	3.24h
2.0	0.3	0.2	30	8.467g	2.30i

同列数据后相同字母表示无显著差异($P > 0.05$)。Values within column followed the same letter mean no significant difference ($P > 0.05$). 下表同。The same as following Tables.

表 2 坪山柚上胚轴不同切段对不定芽再生的影响

Table 2 Effects of epicotyl segments on adventitious bud regeneration from *Citrus grandis* 'Pingshanyou'

上胚轴部位	外植体数	不定芽诱导率 (%)	平均不定芽数
Part of epicotyl	Number of explants	Adventitious bud induction rate	Average adventitious buds
上部 Upper	30	90.27a	6.23a
中部 Middle	30	86.13a	4.75b
下部 Lower	30	75.63b	4.28b

2.3 蔗糖对不定芽形成的影响

蔗糖浓度对坪山柚上胚轴不定芽的形成有明显影响(表 3)。当蔗糖浓度达到 40 g L⁻¹时,不定芽诱导率和平均不定芽数均最高,分别为 95.8% 和 6.62个(图版 I: A)。10 g L⁻¹的蔗糖处理诱导的不定芽生长缓慢,很难伸长,这可能与其后期生长过程中碳源不足有关,而高浓度的蔗糖(≥ 50 g L⁻¹)处理使渗透压提高,抑制了不定芽的形成和生长。

表 3 蔗糖对坪山柚不定芽形成的影响

Table 3 Effects of sucrose on adventitious bud induction from *Citrus grandis* 'Pingshanyou'

蔗糖 Sucrose (g L ⁻¹)	不定芽诱导率 Adventitious bud induction rate (%)	平均不定芽数 Average adventitious buds
10	29.3d	1.25d
20	62.5c	4.25c
30	90.27ab	6.23ab
40	95.8a	6.62a
50	89.3b	5.27bc

2.4 GA₃对不定芽形成的影响

由表 4 可知,培养基中添加适宜浓度的 GA₃对坪山柚上胚轴不定芽的形成有促进作用。当加入 1.0 mg L⁻¹的 GA₃时,不定芽的诱导率和平均不定芽数均达到了最高(分别为 100% 和 8.35),与不加 GA₃的处理有显著差异($P < 0.05$),并且加入 1.0 mg L⁻¹GA₃促进了不定芽伸长生长,叶片表面增大,平均芽长达到了 2.2 cm(图版 I: B)。但当 GA₃浓度超过 1.0 mg L⁻¹时,不定芽诱导率和平均不定芽数都降低。

2.5 生长调节剂对不定芽生根的影响

当不定芽长至 3~5 cm 高时,切割为单芽,接种于生根培养基中,培养 4 周后统计(表 5)。结果表明:各培养基均能诱导生根,1/2MS 培养基添加 NAA 有利于生根,随着 NAA 浓度的增加,生根率和平均生根数增加,但 NAA 浓度过高则抑制根的生长。综合比较各培养基生根情况,以 1/2MS + NAA 1.5 mg L⁻¹培养基生根效果最好,生根率达 88.7%,

表4 GA₃对坪山柚不定芽形成的影响

GA ₃ (mg L ⁻¹)	不定芽诱导率 Adventitious bud induction rate (%)	平均不定芽数 Average adventitious buds	平均芽长 (cm) Average length of bud
0	95.8b	6.62bc	0.74c
0.5	97.47ab	7.13ab	1.23c
1.0	100a	8.35a	2.2b
2.0	68.5c	5.62cd	3.3a
5.0	15.7d	2.27e	1.1c

表5 NAA对再生不定芽生根的影响

编号 No.	培养基 Medium	生根率 Rooting (%)	平均根数 Average roots
1	1/2MS	21.5	1.2
2	1/2MS + NAA 0.5 mg L ⁻¹	27.8	2.3
3	1/2MS + NAA 0.8 mg L ⁻¹	35.2	2.8
4	1/2MS + NAA 1.0 mg L ⁻¹	61.5	3.7
5	1/2MS + NAA 1.5 mg L ⁻¹	88.7	6.4
6	1/2MS + NAA 2.0 mg L ⁻¹	65.3	2.1
7	1/2MS + NAA 3.0 mg L ⁻¹	31.0	3.0

平均根数为6.4,根系发达,植株健壮(图版I:C)。因此1/2MS + NAA 1.5 mg L⁻¹培养基为最适宜的生根培养基。

2.6 移栽

将生长健壮的试管苗在培养室炼苗3 d,保持室内通风和散射光,用自来水洗净根部黏附的培养基,再置入5 mg L⁻¹的IBA溶液中浸泡24 h,单株移入腐殖土:蛭石=3:1的营养钵中,浇透水,保持室内湿度90%以上,温度控制在25℃左右,每3 d浇1次1/2MS营养液。15 d后叶片明显伸展,植株健壮,30 d后成活率可达90%(图版I:D)。

3 讨论

在植物的组织培养中,通常只用6-BA来诱导不定芽,而TDZ作为活性最强的一种细胞分裂素用在多种木本植物的再生体系中^[11]。低浓度TDZ对芽(侧芽)萌发和不定芽的萌发及诱导起促进作用,但高浓度TDZ则诱导大量愈伤组织产生,抑制不定芽的正常生长^[14-15]。黄涛等^[6]对沙田柚的研究表明,在MS培养基中单独添加TDZ会抑制上胚轴不定芽的再生。本研究表明,MS培养基中添加低浓度TDZ(0.05 mg L⁻¹)、6-BA(1.0 mg L⁻¹)和NAA(0.2 mg L⁻¹)则能使坪山柚上胚轴不定芽的诱导率和平均不定芽数达到最高,但TDZ浓度过高

则抑制不定芽再生。

外植体不同部位对不定芽诱导有重要影响,这可能与生长素的极性运输有关。在诱导植物离体不定芽再生过程中,极性现象普遍存在^[17-18]。本实验在诱导坪山柚上胚轴不定芽时,也看到明显的极性现象——上胚轴的上部切段以形态学上端在上的放置方式接种在培养基中,出芽能力最强,而下部和中部出芽能力相对较弱。目前的研究普遍认为是植物生长调节物质的极性运输导致这种现象发生^[17-18]。由于生长素的极性运输,使外植体内合成的生长素从顶芽向远离顶芽的部位极性运输,造成生长素在远离顶芽的部位积累,上胚轴的形态学上部比中下部位内源生长素含量低,而外源激素的含量在整个外植体的分布基本一致,所以上胚轴形态学上部的细胞分裂素和生长素之比高于中下部位,而较高的细胞分裂素与生长素比例将更利于诱导外植体分化不定芽,因此坪山柚上胚轴的上部先诱导出不定芽且不定芽诱导数量较多。

在植物组织培养中,蔗糖不仅为培养物提供能量,而且是培养物渗透环境的主要调节者。培养基中糖的种类和浓度不仅影响培养物生长速度和生长量,而且影响其代谢水平及细胞的形态和发生。黄涛等^[5]对沙田柚叶片的离体培养研究表明,培养基中的蔗糖浓度为60 g L⁻¹时最利于沙田柚叶片愈

伤组织的诱导和生长。本研究表明 40 g L⁻¹ 蔗糖浓度最适合坪山柚上胚轴诱导不定芽, 蔗糖浓度过高反而抑制了不定芽的诱导, 这可能与渗透压提高, 从而影响水分和其他物质的吸收有关。

很多研究表明, GA₃ 抑制离体培养中茎和根的分化^[9,19], 而促进一些植物的愈伤组织生长^[20]。而本研究结果与其不一致: 低浓度(1.0 mg L⁻¹)的 GA₃ 能提高坪山柚上胚轴不定芽诱导率, 从而获得更多的不定芽, 同时使不定芽伸长生长, 更利于后期的成苗。这可能与供试材料的基因型不同有关。因此, 诱导坪山柚上胚轴不定芽的最佳部位为上胚轴的形态学上部切段, 最佳培养基为: MS + 6-BA 1.0 mg L⁻¹ + TDZ 0.05 mg L⁻¹ + NAA 0.2 mg L⁻¹ + GA₃ 1.0 mg L⁻¹ + 蔗糖 40 g L⁻¹, 不定芽诱导率为 100%, 平均不定芽数为 8.35。

降低培养基中无机盐浓度^[21], 只加入适宜浓度的生长素或配合少量细胞分裂素有利于不定根的生长^[22]。本研究中, 以 1/2MS 为基本培养基, 添加 1.5 mg L⁻¹ NAA 获得了最优的生根效果。

参考文献

- [1] Dong G F(董高峰), Huang T(黄涛), Li G G(李耿光), et al. Studies on the tissue culture of different explants *in vitro* and plant regeneration from *Citrus grandis* cv. Shatian You [J]. J Wuhan Bot Res(武汉植物学研究), 2001, 19(5): 440-444.(in Chinese)
- [2] Wu D H(吴丹红). Tissue culture of *Citrus grandis* [J]. Plant Physiol Commun(植物生理学通讯), 1986(3): 39-50.(in Chinese)
- [3] 梁倩华, 王任翔, 陈腾土, 等. 沙田柚的组织培养 [J]. 广西农业科学, 1994(6): 267-269.
- [4] Han M L(韩美丽), Wu Y J(吴耀军), Huang H Y(黄华艳). *In vitro* culture of different explants and the genetic transformation of *C. grandis* [J]. Guangxi For Sci(广西林业科学), 2001, 30(4): 166-168.(in Chinese)
- [5] Huang T(黄涛), Dong G F(董高峰), Zhang L Y(张兰英), et al. Factors affecting *in vitro* shoot regeneration from leaf explants of *Citrus grandis* (L.) Osbeck cv. Shatian-You [J]. Guihaia(广西植物), 2003, 23(6): 561-564.(in Chinese)
- [6] Wang R X(王任翔), Liang Q H(梁倩华), Cheng T T(陈腾土), et al. Tissue culture of *Citrus grandis* [J]. Plant Physiol Commun(植物生理学通讯), 1994, 30(3): 204-206.(in Chinese)
- [7] Liang Q H(梁倩华), Wang R X(王任翔), Cheng T T(陈腾土). Tissue culture of *Citrus grandis* [J]. Chin Bull Bot(植物学通报), 1996(13): 70-71.(in Chinese)
- [8] Zou J M(邹金美), Yu J F(余金富), Ye G L(叶国利), et al. Studies on the technique of tissue culture *in vitro* and rapid propagation of *Citrus grandis* cv. Wendan and *Citrus grandis* cv. Miyou [J]. J Zhangzhou Teach Coll (Nat Sci)(漳州师范学院学报: 自然科学版), 2006(2): 74-77.(in Chinese)
- [9] Huang T(黄涛), Dong G F(董高峰), Li G G(李耿光), et al. Effectes of gibberellic acid and its synthetic inhibitors on shoots regeneration from epicotyl of *Citrus grandis* [J]. Plant Physiol Commun(植物生理学通讯), 2002, 38(6): 559-560.(in Chinese)
- [10] Han M L(韩美丽), Lu R S(陆荣生), Du X L(杜晓莉). Studies on factors affecting shoots regeneration from epicotyls of *Citrus grandis* (L.) Osbeck cv. Shatian-You [J]. SW China J Agri Sci(西南农业学报), 2004, 17(5): 639-641.(in Chinese)
- [11] Carl A H, John E P. Thidiazuron: A potent cytokinin for woody culture [J]. Plant Cell Tiss Cult, 1993, 33(6): 105-106.
- [12] Arndt F, Rusch R, Stalfried H V. A new cotton defoliant [J]. Plant Physiol, 1976, 57: 99-101.
- [13] Murashige T, Skoog F. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures [J]. Physiol Plant, 1962, 15: 473-497.
- [14] Murthy B N S, Murch S J, Saxena P K. Thidiazuron: A potent regulator of *in vitro* plant morphogenesis [J]. *In vitro* Cell Dev Biol, 1998, 34: 267-275.
- [15] Xu X F(徐晓峰), Huang X L(黄学林). Establishment of broccoli plant regeneration system with orthogonal design [J]. Guihaia(广西植物), 2002, 22(6): 513-516.(in Chinese)
- [16] Huang T(黄涛), Dong G F(董高峰), Zhang L Y(张兰英), et al. Roles of auxin and ethylene in direct bud regeneration from epicotyl of *Citrus grandis* (L.) Osbeck cv. Shatian You [J]. Guihaia(广西植物), 2003, 23(2): 169-174.(in Chinese)
- [17] Shang A Q(尚爱芹), Cai H(蔡汉), Yan X J(闫晓洁), et al. Plant regeneration from *in vitro* cultured hypocotyl explants of *Euonymus japonicas* 'Cuzhi' [J]. Sci Agri Sin(中国农业科学), 2005, 38(12): 2502-2507.(in Chinese)
- [18] Zhu L H(朱丽华), Zhang C Q(张彩琴), Sheng X G(盛小光), et al. Studies on high efficient system for *in vitro* shoot regeneration from hypocotyls of Chinese cabbage [J]. J Wuhan Bot Res(武汉植物学研究), 2005, 23(5): 427-431.(in Chinese)
- [19] Nickell LG. Gibberellin and growth of plant tissue culture [J]. Nature, 1958, 181: 499-500.
- [20] Murashige T. Analysis of the inhibition of organ formation in tobacco tissue culture by gibberellin [J]. Physiol Plant, 1964, 17: 636-643.
- [21] 郑成木, Liu J P. 热带亚热带植物微繁殖 [M]. 长沙: 湖南科学技术出版社, 2001: 22-104.
- [22] 颜昌敬. 植物组织培养手册 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1991: 25-98.

图版说明

图版 I

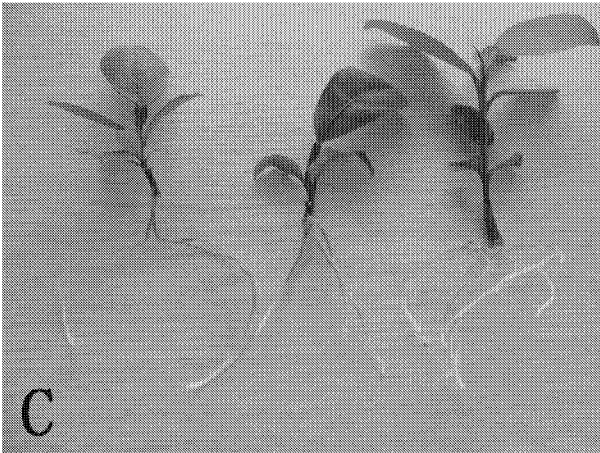
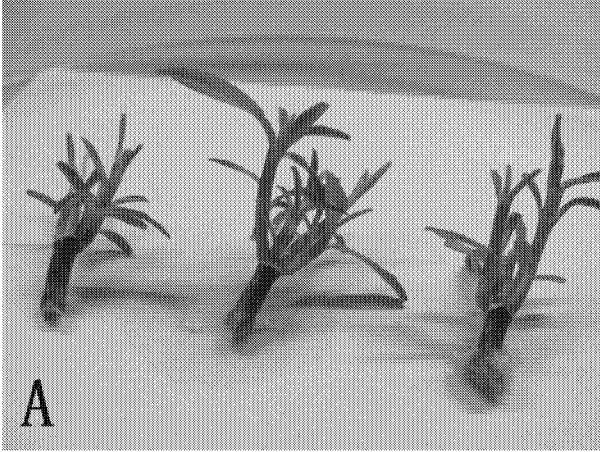
A: 上胚轴上部切段在 MS + 6-BA 1.0 mg L⁻¹ + TDZ 0.05 mg L⁻¹ + NAA 0.2 mg L⁻¹ + 40 g L⁻¹ 蔗糖的培养基上培养 4 周, 诱导出不定芽; B: 上胚轴上部切段在 MS + 6-BA 1.0 mg L⁻¹ + TDZ 0.05 mg L⁻¹ + NAA 0.2 mg L⁻¹ + GA₃ 1.0 mg L⁻¹ 和 40 g L⁻¹ 蔗糖的培养基上培养 4 周, 诱导出的不定芽; C: 不定芽在 1/2MS + NAA 1.5 mg L⁻¹ 培养基上培养 4 周后生根; D: 移栽后的再生植株。

Explanation of plate

Plate I

A: Adventitious buds from the upper epicotyl cultured on MS + 6-BA 1.0 mg L⁻¹ + TDZ 0.05 mg L⁻¹ + NAA 0.2 mg L⁻¹ medium with

40 g L⁻¹ sucrose for 4 weeks; B: Adventitious buds from the upper epicotyl cultured on MS + 6-BA 1.0 mg L⁻¹ + TDZ 0.05 mg L⁻¹ + NAA 0.2 mg L⁻¹ medium with 40 g L⁻¹ sucrose and 1.0 mg L⁻¹ GA₃ for 4 weeks; C: Rooting of adventitious buds cultured on 1/2MS + NAA 1.5 mg L⁻¹ medium for 4 weeks; D: Transplanted plantlet.



曾艳等: 图版 I

ZENG Yan, et al.: Plate I