

成年态南丰蜜橘试管嫁接育苗技术研究

丁明华, 吉枝单, 涂艺声*

(江西师范大学生命科学院, 南昌 330022)

摘要: 为探索适合成年态南丰蜜橘 [*Citrus reticulata* Blanco 'kinokuni' (Tanaka) H. H. Hu] 的快速繁殖技术, 对其试管茎尖微嫁接育苗进行研究。结果表明, 最好的砧木是苦柚种子苗, 以腹接方式的成活率最高。嫁接苗接种在 MS + GA₃ 1 mg L⁻¹ + 蔗糖 75 g L⁻¹ 的培养基中, 暗培养 7 d 后转入光周期下培养, 嫁接成活率达 67.78%。不同移栽基质对嫁接苗的成活率影响不显著。嫁接苗与成年态南丰蜜橘再生芽在形态和 POD、CAT 及 SOD 同工酶分子表达上均无明显差异。这表明通过试管茎尖微嫁接技术可保持其遗传稳定性。

关键词: 柑橘; 微嫁接; 成活率; 同工酶

doi: 10.3969/j.issn.1005-3395.2014.02.011

Studies on *in vitro* Micrografting of Mature *Citrus reticulata* Blanco 'Kinokuni' (Tanaka) H. H. Hu

DING Ming-hua, JI Zhi-dan, TU Yi-sheng*

(College of Life Sciences, Jiangxi Normal University, Nanchang 330022, China)

Abstract: In order to explore the rapid propagation of mature *Citrus reticulata* Blanco 'Kinokuni' (Tanaka) H. H. Hu, the breeding technology by *in vitro* micrografting was studied. The results showed that the most suitable rootstock was bitter pomelo [*C. maxima* (Burm.) Merr. 'Maxima'] seedling and the side grafting method had the highest survival. The micrografting seedlings cultured in MS medium with 1 mg L⁻¹ GA₃ and 75 g L⁻¹ sugar were at first grown in dark for 7 days, then transferred to light with 10 h d⁻¹, which survival cultured after 25 days reached 67.78%. The transplanting substrate had not significant influence on survival of grafting seedlings. Furthermore, there were no obvious differences between grafting seedlings and adventitious buds in morphology, as well as the isozyme expression of POD, CAT and SOD. It was suggested that the *in vitro* micrografting technique could keep the genetic stability of grafted seedlings.

Key words: *Citrus*; Micrograft; Survival; Isozyme

试管嫁接是将植物茎尖培养和嫁接相结合的一种技术, 用作接穗的茎尖通过茎尖无菌培养获得, 可以脱去大部分病原物, 从而实现再生芽复壮效果。砧木由种子经无菌培养获得, 具有完好发达的自根系, 故试管嫁接在解决植物茎尖培养不易生根的问题中具有独到优势^[1-2]。该技术在国内外广泛应用于果树脱毒、快速繁殖优质苗木、检测植物

病毒等领域^[3-5]。

南丰蜜橘 [*Citrus reticulata* Blanco 'Kinokuni' (Tanaka) H. H. Hu] 是江西省的特色品种资源, 其品质优异、营养丰富、具有较高的经济价值。南丰蜜橘作为我国优良的宽皮柑橘品种之一, 已形成了地域性产业化生产规模。但因南丰蜜橘发展过程出现退化与感染多种致病菌, 阻碍了其持续正常发

收稿日期: 2013-06-09 接受日期: 2013-08-23

基金项目: 国家自然科学基金项目(30660020); 江西省科技支撑计划项目[赣财教 2007(173)]资助

作者简介: 丁明华(1985~), 男, 硕士研究生, 从事植物生理生态研究。E-mail: dingminghua520@163.com

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: ystz2012@163.com

展。因此,建立一套繁殖优质苗木的现代技术方法具有重要意义^[6]。因柑橘离体培养时,母体带菌多,导致消毒困难,且成年柑橘树的组织培养较难分化,离体培养分化出的新梢诱导生根困难且自根系生活力弱。目前有关南丰蜜橘的试管嫁接研究还鲜见报道。本研究以成年态南丰蜜橘茎节组织培养分化的再生芽为材料,以苦柚为砧木,探索建立成年态南丰蜜橘试管微嫁接育苗方法,为成年态柑橘试管快速繁殖苗木提供技术参考。

1 材料和方法

1.1 材料

以南丰蜜橘[*Citrus reticulata* Blanco 'Kinokuni' (Tanaka) H. H. Hu]“小果品系”成年树的新抽生梢的茎节为试材,苦柚[*C. maxima* (Burm.) Merr. 'Maxima'],枳壳(*C. junos* Sieb. ex Tanaka)、椪柑(*C. reticulata* Blanco 'Ponkan')为砧木试材,其种子由江西省农业科学院园艺研究所黄建民研究员提供。

1.2 无菌再生体系的建立

接穗 取南丰蜜橘成年树上新抽出一周左右的半木质化茎段,剪取长度约为8~10 cm。试验材料先用自来水冲洗表面,然后用0.1%洗衣粉浸泡5 min,流水冲洗干净后,在超净工作台上用0.1%升汞消毒10 min后,无菌水冲洗3~5次。将材料在超净工作台上剪成约1 cm茎段,接种于不同培养基中进行培养,培养条件为相对湿度70%,26℃,光照强度为18.75~25 $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$,光照周期为10 h d⁻¹。以增殖伸长生长达一定高度及数量的幼嫩再生芽作接穗备用。

砧木 将苦柚、枳壳和椪柑的种子用0.1%升汞消毒8 min后,在超净工作台上将外壳内皮剥去后接种于1/2MS培养基中培养,待苗高达5 cm左右时作砧木备用。

1.3 方法

茎尖微嫁接 在无菌超净工作台上,将作为砧木的种子苗从培养瓶中取出,用解剖刀将砧木的顶部和根部进行适当切除,种子苗的两片子叶保留,然后在解剖镜下根据不同嫁接方法对砧木种子苗的茎段、接穗茎尖进行操作。切取生长期约为7 d具4叶原基茎尖的再生芽作为接穗,用镊子将

接穗接于砧木的切口处,当接穗嫁接完成后,对切口进行绑缚,使接穗固定在切口处。嫁接方法分别采取顶接法、腹接法、T字形接法、倒T字形接法。

嫁接苗培养 选用苦柚作为砧木,采用腹接法进行茎尖微嫁接,嫁接苗接种于培养基上。培养基设置为4种:① MS基本培养基;② MS + GA₃ 1 mg L⁻¹; ③ MS + 6-BA 1 mg L⁻¹; ④ MS + GA₃ 0.5 mg L⁻¹ + 6-BA 0.5 mg L⁻¹。以上培养基均添加蔗糖75 g L⁻¹。培养方式^[7-8]处理:① 嫁接苗在10 h d⁻¹的光照周期下培养;② 暗培养5 d后转入10 h d⁻¹的光照周期培养;③ 暗培养7 d后转入10 h d⁻¹的光照周期培养;④ 暗培养10 d后转入10 h d⁻¹的光照周期培养;⑤ 暗培养15 d后转入10 h d⁻¹的光照周期培养。培养期间每天观察生长情况,25 d后统计成活率。

嫁接苗移栽 待嫁接苗长出3~5片叶后,掀开培养瓶的瓶盖炼苗5 d左右,然后取出嫁接苗,将根部的培养基洗净,移栽到不同的基质中。本试验采用3种移栽基质处理:营养土:蛭石:珍珠岩的比例分别为1:1:1、1:2:1和2:2:1。移栽45 d后统计成活率。

试验中每种处理30株苗,重复3次,统计最后成活率。

1.4 同工酶分析

样品提取和制备 称取作为砧木的苦柚、枳壳、椪柑的种子苗,成年态南丰蜜橘诱导的芽茎以及南丰蜜橘嫁接成活苗各0.5 g,样品剪碎后放入研钵中,加入1 mL样品提取液(pH 8.0 Tris-HCl缓冲液),置冰浴中研磨成匀浆后,再用1 mL提取液分多次洗入离心管中,在高速冰冻离心机上于4℃,11100 $\times g$ 离心12 min,取上清液,-20℃保存备用^[9]。

POD同工酶分析 上样时取等量样品液和40%蔗糖,加入几滴溴酚蓝作为点样备用,用不连续垂直板聚丙烯酰胺凝胶系统,分离胶浓度7%,pH 8.9;浓缩胶浓度3%,pH 6.7;电极缓冲液,pH 8.3,上样量为20 μL ,开始电泳时电压为120 V,当样品进入分离胶后调整电压为150 V,当溴酚蓝指示剂距底端1 cm左右时结束电泳。采用联苯胺染色法显色。

CAT同工酶分析 采用不连续聚丙烯酰胺凝胶系统。分离胶浓度为7%,pH 8.8;浓缩胶浓度为4%,pH 6.8;电极缓冲液为pH 8.3的Tris-Gly

溶液,电泳时,每个样品孔点样 20 μL ,染色方法用 0.3% H_2O_2 浸泡 5 min 后,用蒸馏水冲洗 2 次,然后用 50 mL 2% 铁氰化钾和 50 mL 2% 三氯化铁染色 10 min 后,待出现草绿色酶带时即停止染色,用蒸馏水冲洗待出现可见的条带后进行拍照。

SOD 同工酶分析 采用不连续聚丙烯酰胺凝胶系统,分离胶浓度为 10%, pH 8.8;浓缩胶浓度为 4%, pH 6.8;每个样品孔加样 25 μL 。染色方法:将凝胶浸泡在 100 mL 含 0.245 mmol L^{-1} 的 NBT 溶液中 20 min,注意要避光,温度应适当低点,可放入冰箱中。然后在 80 W 日光灯下转入到 100 mL 含 0.42 mL L^{-1} TEMED、1% 核黄素和 0.036 mol L^{-1} 磷酸盐(pH 7.8)的缓冲液中浸泡 20 min,最后转入到 100 mL 含 0.1 mmol L^{-1} EDTA- Na_2 、0.05 mol L^{-1} 磷酸盐(pH 7.8)的缓冲液中于 80 W 日光灯下光照 20 min 并显带,出现白色条带后拍照^[10-11]。

1.5 数据统计和分析

数据分析采用 SPSS 软件处理,并用邓肯氏新复极差法进行差异显著性分析。

表 1 砧木对嫁接成活率的影响

Table 1 Effect of rootstock on grafting survival

砧木 Rootstock	嫁接株数 Number of grafting	成活株数 Number of survival	成活率 Survival (%)
苦柚 Bitter pomelo	90	34	37.78b
枳壳 Trifoliate orange	90	14	15.56a
椴柑 Ponkan	90	5	5.56a

数据不同字母差异显著($P < 0.05$)(邓肯氏新复极差分析)。下同。

Data followed different letters mean significant differences at 0.05 level by Duncan's new multiple test. The same is following Tables.

表 2 砧木对嫁接成活率影响的方差分析

Table 2 Variance analysis of rootstock effects on grafting survival

差异来源 Variance resource	平方和 Sum of square	自由度 Degree freedom	均方差 Mean square	F	P
组间 Among groups	146.889	2	73.444	31.476	0.001
组内 Within groups	14	6	2.333		
总数 Total	160.889	8			

表 3 嫁接方式对嫁接成活率的影响

Table 3 Effect of grafting pattern on grafting survival

嫁接方式 Grafting pattern	嫁接株数 Number of grafting	成活株数 Number of survival	成活率 Survival (%)	F	P
顶接 Apical	90	7	7.78a	19.713	0.000
腹接 Side	90	44	48.89c		
T 字形接 T-shape	90	23	25.56b		
倒 T 字形 Inverted T-shape	90	39	43.33c		

2 结果和分析

2.1 不同砧木类型对嫁接成活率的效果

表 1、表 2 的结果表明不同砧穗组合对于嫁接成活率的影响差异显著(倒 T 法嫁接)。以苦柚为砧木的成活率最高,为 37.78%,显著高于枳壳和椴柑作为砧木的成活率,枳壳和椴柑为砧木的成活率分别为 15.56% 和 5.56%。这说明苦柚与接穗的亲合力较好,而且苦柚的子粒大饱满又是单胚,培养出来的砧木茎秆粗壮,而枳壳砧木苗易增生较多的茎叶,不利于接穗在砧木上的生长,椴柑种子为多胚,其砧木苗细小不利于嫁接操作,这可能是苦柚作为砧木嫁接成活率最高的原因,所以下试验选苦柚作为南丰蜜橘试管嫁接的砧木。

2.2 嫁接方式对成活率的影响

以苦柚作为砧木,选取生长期一致的南丰蜜橘组培苗再生芽作为接穗,采用不同的嫁接方式分别进行试验,每天观察砧木接穗的生长状态及愈合情况,25 d 后统计成活率。从表 3 可见,不同嫁接方

式间的差异显著,其中腹接和倒 T 字形接法成活率分别为 48.89% 和 43.33%,显著高于 T 字形接法和顶接法的成活率。可能是采用顶接法嫁接的茎尖裸露,砧木茎端失水严重, T 字形和倒 T 字形接法在切口处的愈伤化严重等原因导致其嫁接成活率较低,采用腹接法的茎尖脱水现象和砧木愈伤化均不明显,且操作快捷简便,嫁接成活率最高,故以腹接法作南丰蜜橘试管嫁接最为适宜。

2.3 生长调节剂对嫁接成活率的影响

选取生长相对一致的苦柚腹接南丰蜜橘茎尖微嫁接苗,接种于添加不同生长调节剂的 MS 培养

基中培养, 25 d 后统计其成活率。从表 4 可见,添加 1 mg L^{-1} GA_3 培养基的成活率最高,达到 58.89%,不添加任何生长调节剂的 MS 培养基只有 11.11%,可能是 1 mg L^{-1} 的 GA_3 促进了砧穗间的愈合和维管束桥的连接,提高了嫁接苗成活率。

2.4 培养方式对嫁接成活率的作用

如表 5 所示,将嫁接苗暗培养 7 d 后转入光照周期(10 h d^{-1})下培养,嫁接的成活率可达到 67.78%。但当暗培养时间过长其成活率反而降低,暗培养 15 d 的成活率只有 8.89%。这可能是经过适度的暗培养可以促进砧穗愈伤化愈合,长时间的暗培养

表 4 外源激素对嫁接成活率的影响

Table 4 Effect of exogenous hormone on the grafting survival rate

生长调节剂 Growth regulator (mg L^{-1})	嫁接株数 Number of grafting	成活株数 Number of survival	成活率 Survival (%)	<i>F</i>	<i>P</i>
GA_3 1	90	53	58.89c	22.368	0.000
6-BA 1	90	28	31.11b		
GA_3 0.5 + 6-BA 0.5	90	23	25.56b		
对照 Control	90	10	11.11a		

表 5 培养方式对嫁接成活率的影响

Table 5 Effect of training methods on the grafting survival rate

暗培养时间 Days under dark	嫁接株数 Number of grafting	成活株数 Number of survival	成活率 Survival (%)	<i>F</i>	<i>P</i>
0	90	17	18.89a	51.435	0.000
5	90	45	50.00b		
7	90	61	67.78c		
10	90	43	47.78b		
15	90	8	8.89a		

则会使接穗因缺乏光照而不利于生长发育。

2.5 移栽基质对嫁接成活率的影响

由表 6 可知,不同移栽基质对于嫁接成活率无明显差异($P = 0.075 > 0.05$),移栽成活率都达 90%

以上。因此,只要在移栽前进行适当的炼苗,调节好移栽的室温、水分等环境条件,各种移栽基质的差异不显著。这可能是由于用作砧木的种子苗直接由种子发育而来,本身就具有发达的根系,所以受移栽基质的影响不大。

表 6 移栽基质对嫁接成活率的作用

Table 6 Effect of transplanting matrix on survival

营养土:蛭石:珍珠岩 Coversoil: Vermiculite: Foamedpearlite	嫁接株数 Number of grafting	成活株数 Number of survival	成活率 Survival (%)	<i>F</i>	<i>P</i>
1:1:1	90	82	91.11	4.111	0.075
1:2:1	90	89	98.89		
2:2:1	90	86	95.56		

2.6 同工酶分析

POD 同工酶 嫁接苗的 POD 同工酶带谱与南丰蜜橘成年态再生芽无明显差异,但与 3 种砧木相比,存在一定的差异(图 1)。

CAT 同工酶 嫁接苗中的 CAT 同工酶带谱与接穗来源的南丰蜜橘成年态再生芽无明显差异,但与 3 种砧木的 CAT 同工酶谱带存在显著差异(图 2: A)。

SOD 同工酶 如图 2: B 所示,嫁接苗中的 SOD 同工酶谱带与南丰蜜橘成年态再生芽无差异,但与 3 种砧木的 SOD 同工酶谱带存在明显差异。

由图 1,2 可知,3 种同工酶在嫁接苗与成年态

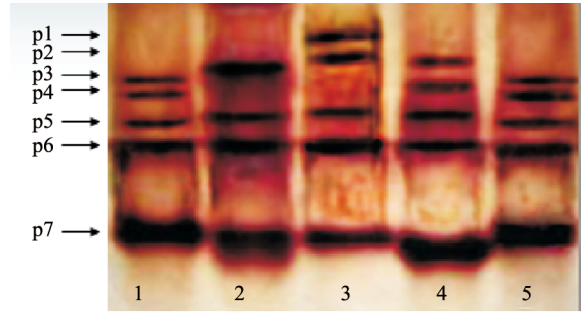
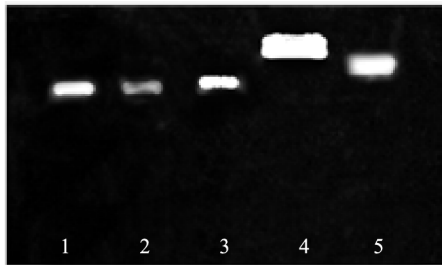
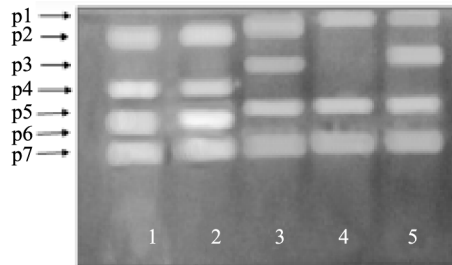


图 1 POD 同工酶电泳图谱。1: 嫁接苗; 2: 苦柚; 3: 枳壳; 4: 椪柑; 5: 南丰蜜橘成年态再生芽。

Fig. 1 Electropherogram of peroxidase isozyme. 1: Graft seedling; 2: Bitter pomelo; 3: Trifoliate orange; 4: Ponkan; 5: Adventitious bud induced from adult *Citrus reticulata*.



A



B

图 2 CAT (A)和 SOD (B)同工酶电泳图谱。1: 嫁接苗; 2: 南丰蜜橘成年态再生芽; 3: 椪柑; 4: 枳壳; 5: 苦柚。

Fig. 2 Electropherogram of catalase (A) and superoxide (B) isozyme. 1: Graft seedling; 2: Adventitious bud induced from adult *Citrus reticulata*; 3: Ponkan; 4: Trifoliate orange; 5: Bitter pomelo.

南丰蜜橘再生芽中的表达一致,说明试管嫁接苗的材料来源可靠,其同工酶分子表达特征亦稳定。

2.7 再生芽形态比较

从图 3 可见,嫁接苗与成年态南丰蜜橘诱导产生的不定芽在叶的形态上无明显差异。

3 结论和讨论

蒋元晖等采用粗柠檬、枳壳和枳橙作为柑橘茎

尖嫁接的砧木,其嫁接成活率在不同砧木间存在差异,这表明砧木和接穗间的亲和性直接影响嫁接成活率。本研究结果表明试管嫁接除要考虑砧穗间的亲和性外,还要考虑种子苗的生长特征与微嫁接操作的关系。本研究中苦柚种子为单胚,其种子苗的茎比枳壳和椪柑粗壮,进行试管微体嫁接操作更便捷,其嫁接成活率显著提高 1 倍以上,柑橘试管嫁接育苗的原种苗砧木使用苦柚的优势明显。

Murashige 首创的茎尖嫁接技术采用的是顶接法, Navarro 在 Murashige 的茎尖嫁接法基础上进



图 3 南丰蜜橘培养。A: 成年态南丰蜜橘的再生芽; B: 嫁接苗; C: 移栽成活苗。

Fig. 3 Culture of *Citrus reticulata*. A: Adventitious buds induced from adult *C. reticulata*; B. Graft seedlings; C. Transplant seedlings.

行了改进,首先在嫁接方法上采用了倒T法,这一方法使嫁接成活率得到明显的提高,嫁接成活率约为35%~40%^[12]。本试验中采用腹接法进行嫁接操作,这一嫁接方法与顶接法和倒T法相比,克服了顶接时接穗茎尖失水而萎蔫早亡,以及倒T法长势旺盛的愈伤组织抑制接穗生长的问题,腹嫁接成活率近50%,腹接法是南丰蜜橘试管嫁接育苗适宜的技术方式。

卢善发等的研究表明植物生长调节剂能通过影响砧木和接穗间维管束桥形成的时间和数目来调控嫁接体的发育,并且参与接穗和砧木间愈伤组织的产生和维管束桥的分化。董高峰等在成年沙田柚试管嫁接研究中采用GA₃ 1 mg L⁻¹或BA 0.5 mg L⁻¹浸泡接穗30 s后再进行嫁接操作,其成活率达到50%^[13]。本研究将嫁接苗直接接种在MS培养基添加GA₃ 1 mg L⁻¹,蔗糖浓度75 g L⁻¹进行培养,得到相同结果,嫁接成活率比对照提高了5倍,达58.89%,又节省操作程序。而6-BA对嫁接苗成活率的影响没有GA₃明显。

光照培养有利于嫁接苗的生长发育,但嫁接苗初期暗培养1周,能明显提高嫁接苗的成活率,达67.78%。这可能是一定时期的暗培养有利于砧穗间的愈伤组织适度生长而愈合,其生物学机制尚需进一步探究。

参考文献

- [1] Zhou Y, Zhou H Y, Zhu L, et al. The latest research on plant *in vitro* micrografting [J]. *Guizhou Sci*, 2013, 31(2): 194–199.
周艳, 周洪英, 朱立, 等. 植物微嫁接研究进展 [J]. *贵州科学*, 2013, 31(2): 194–199.
- [2] Zhang J L, Wang S M, Xu R, et al. Researches and applications of plant *in vitro* micrografting [J]. *Plant Physiol Commun*, 2005, 41(2): 247–252.
张金林, 王锁民, 许瑞, 等. 植物微嫁接技术的研究及应用 [J]. *植物生理学通讯*, 2005, 41(2): 247–252.
- [3] Zeng B, Li J, Zhang X L, et al. Study on technology of micrografting of Korla fragrant pear [J]. *Xinjiang Agri Sci*, 2006, 43(1): 47–49.
曾斌, 李疆, 张孝霖, 等. 库尔勒香梨试管微体嫁接技术的研究 [J]. *新疆农业科学*, 2006, 43(1): 47–49.
- [4] Navarro L, Juárez J, Khan I A. Shoot-tip grafting *in vitro*: Impact in the citrus industry and research applications [C]// Khan I A. *Citrus Genetics, Breeding and Biotechnology*. Wallingford: CAB International, 2007: 353–364.
- [5] Dong L F, Zou P B, Jia C X, et al. A study on micro-graft methods of *Juglans regia* [J]. *J NW For Univ*, 2007, 22(2): 79–81.
董丽芬, 邹朋波, 贾彩霞, 等. 核桃微体嫁接方法研究 [J]. *西北林学院学报*, 2007, 22(2): 79–81.
- [6] Amiri M E. *In vitro* techniques to study the shoot-tip grafting of *Prunus avium* L. (Cherry) var. *seeyahe* Mashad [J]. *J Food Agric Environ*, 2006, 4(1): 151–154.
- [7] Tu Y S. *Mass Rapid Propagation of Economic Plants* [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2009: 108–175.
涂艺声. *经济植物大规模快速繁殖技术* [M]. 北京: 化学工业出版社, 2009: 108–175.
- [8] Hoa N V, Ahlawat Y S, Pant R P. Production of virus-free *Kinnow mandarin* and Mosambi sweet orange nucleus planting material through shoot tip grafting [J]. *Ind Phytopathol*, 2004, 57(4): 482–487.
- [9] Peng X Q, Tu Y S, Ding M H, et al. The study on mature *Citrus reticulata* Blanco regeneration buds culture *in vitro* and protein spectral characteristics of buds maintained [J]. *J Jiangxi Nor Univ (Nat Sci)*, 2011, 35(6): 579–582.
彭先全, 涂艺声, 丁明华, 等. 成年态南丰蜜橘离体再生芽培养及芽维持的蛋白谱特征 [J]. *江西师范大学学报: 自然科学版*, 2011, 35(6): 579–582.
- [10] Wang L, Wang L S, Wang L, et al. Effect of external peroxidase on the activities of POD, CAT, SOD in the leaves of wheat seedling under Hg²⁺ stress [J]. *J He'nan Nor Univ (Nat Sci)*, 2009, 37(4): 32–36.
王琳, 王林嵩, 王丽, 等. 外源过氧化物酶对Hg²⁺胁迫下小麦幼苗叶片中POD, CAT, SOD同工酶的影响 [J]. *河南师范大学学报: 自然科学版*, 2009, 37(4): 32–36.
- [11] Li X Q, Li X Z, Wang X. Isozyme analysis of POD, CAT and SOD in five *Gerasus* plants [J]. *Bull Biol*, 2010, 45(2): 46–49.
李学强, 李秀珍, 王祥. 5种樱桃属植物的POD、CAT和SOD同工酶分析 [J]. *生物学通报*, 2010, 45(2): 46–49.
- [12] Cheng M H, Cheng H F. Researches *in vitro* micrografting of the fruit tree [J]. *Shaanxi For Sci Techn*, 2005(2): 49–51,63.
成密红, 成鸿飞. 果树微型嫁接技术研究进展 [J]. *陕西林业科技*, 2005(2): 49–51,63.
- [13] Dong G F, Huang T, Li G G, et al. Effect of external hormones on the survival percentage of shoot-tip grafting of Shatian Pomelo [J]. *Ecol Sci*, 2001, 20(3): 26–30.
董高峰, 黄涛, 李耿光, 等. 外源激素对沙田柚茎尖微嫁接成活率的影响 [J]. *生态科学*, 2001, 20(3): 26–30.