

## 欧洲卫矛愈伤组织分化及其生理生化特性

余 慧, 丁彦芬\*, 卓启苗, 朱贵珍

(南京林业大学风景园林学院, 南京 210037)

**摘 要:** 以欧洲卫矛生长健壮的叶片愈伤组织为材料, 通过不同激素配比筛选出适宜其分化的培养基, 将愈伤组织置于不同条件下培养。结果表明, 适宜欧洲卫矛愈伤组织分化的培养基为 MS+1.0 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA+0.1 mg·L<sup>-1</sup> NAA; 欧洲卫矛愈伤组织适宜在光照条件下进行培养, 生长周期为 28 d, 28 d 后愈伤组织出现不同程度的褐化; 可溶性糖含量先升后降; SOD 和 POD 活性均出现 2 个峰值, 可溶性蛋白变化趋势与 POD 变化趋势基本一致; 可溶性蛋白在分化中起重要作用, 且光照条件下, 可溶性糖和可溶性蛋白含量、SOD 和 POD 活性均高于黑暗条件下, PPO 在培养后期活性下降, 可能与愈伤组织褐化有一定关系。

**关键词:** 欧洲卫矛; 愈伤组织; 分化; 生理生化特性

中图分类号: S686

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2019)03-0460-06

### Callus differentiation and physiological and biochemical characteristics of *Euonymus europaea*

YU Hui, DING Yanfen, ZHUO Qimiao, ZHU Guizhen

(College of Landscape Architecture, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037)

**Abstract:** In the study, a suitable differentiation medium was obtained, using the callus of the healthy leaves of *Euonymus europaea* cultured under different conditions with different hormone ratios. The results showed that: the suitable medium for callus differentiation of *Euonymus europaea* was MS+1.0 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA+0.1 mg·L<sup>-1</sup> NAA; the callus of *Euonymus europaea* was suitable for culture under light with growth cycle of 28 days, and it would appear browning in different degrees after 28 days; the soluble sugar content in the callus rose firstly and then decreased; the activities of SOD and POD in the callus both showed two peaks, and the change trend of soluble protein was basically consistent with the POD activity; soluble protein played an important role in the callus differentiation, and the contents of soluble sugar and soluble protein, the activities of SOD and POD were higher grown under illumination than those under dark conditions. The activity of PPO decreased in the late stage of culture, which may be related to the browning of callus.

**Key words:** *Euonymus europaea*; callus; differentiation; physiology and biochemistry characteristics

欧洲卫矛 (*Euonymus europaea*) 是卫矛属植物, 秋叶红色且果实形状独特, 为观叶观果植物, 可作配景树, 也可群植或作绿篱使用, 目前北美及欧洲地区应用的较多<sup>[1]</sup>。前人关于欧洲卫矛的研究主要集中在繁育技术<sup>[2]</sup>、生长习性<sup>[3]</sup>、药用价值<sup>[4]</sup>和光合特性<sup>[5]</sup>等方面。

欧洲卫矛在国内发展面临着数量少、周期长、质量参差不齐等问题, 通过组培育苗可以实现快速

繁育苗木, 加快其在园林中的应用。因此, 对于组培技术的研究尤为重要, 而影响组培育苗成败的关键因素是愈伤组织分化, 且愈伤组织可以为研究植物脱分化和再分化、植物育种以及次生代谢物等提供理想材料<sup>[6]</sup>。本研究以欧洲卫矛生长健康的愈伤组织为试验材料, 对其进行愈伤组织分化培养, 测定其在分化过程中可溶性糖和可溶性蛋白含量, 以及超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化物酶 (POD) 以

收稿日期: 2018-10-20

基金项目: 国家林业局“948”项目——观赏欧洲卫矛优良种质资源及繁育技术引进 (2013-4-30) 资助。

作者简介: 余 慧, 硕士研究生。E-mail: 1580766463@qq.com

\* 通信作者: 丁彦芬, 副教授。E-mail: 1281569022@qq.com

及多酚氧化酶 (PPO) 的酶活性, 并绘制生长曲线, 旨在得出欧洲卫矛适宜欧洲卫矛愈伤组织分化的培养基以及培养条件, 以期在欧洲卫矛组织培养扩繁提供理论参考。

## 1 材料与方 法

### 1.1 愈伤组织分化培养基的筛选

以生长健壮的愈伤组织为材料, 设计二因素四水平完全随机试验, 添加 6-BA (0.5、1.0、1.5 和 2.0 mg·L<sup>-1</sup>) 和 NAA (0.1、0.3、0.5 和 1.0 mg·L<sup>-1</sup>), 共计 16 个处理, 每个处理接种 20 瓶, 每瓶 2~3 个外植体, 重复 3 次, 30 d 后统计愈伤组织分化率并观察其生长情况。

分化率 (%) = 分化的愈伤组织块数/接种愈伤组织块数×100%

培养条件: 30 g·L<sup>-1</sup>蔗糖, 7 g·L<sup>-1</sup>琼脂, pH 值为 5.6~5.8。在无菌培养室中培养, 环境条件为温度 25~28℃, 相对湿度 60%~70%, 光照 14 h·d<sup>-1</sup>, 强度 2 000 lx。

### 1.2 分化过程中生理生化指标的测定

以 1.1 中筛选的最佳培养基进行愈伤组织培养所获得的生长状况良好的叶片愈伤组织为材料, 分别接种在光照培养环境 (14 h·d<sup>-1</sup>, 强度 2 000 lx) 和黑暗培养中环境。自接种后, 每 7 d 取 1 次样, 每天早上 10:00 左右进行, 光照条件和黑暗条件各取 3 瓶, 共取 6 次, 测定叶片愈伤组织可溶性糖、

可溶性蛋白、超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化物酶 (POD) 和多酚氧化酶 (PPO), 并绘制生长曲线, 每个处理设置 3 个重复。

可溶性糖含量的测定采用蒽酮比色法<sup>[7]</sup>; 可溶性蛋白含量测定采用考马斯亮蓝 G-250 染色法<sup>[7]</sup>; SOD 活性测定采用氮蓝四唑 (NBT) 法<sup>[7]</sup>; POD 活性测定采用愈创木酚法<sup>[7]</sup>; PPO 活性测定采用邻苯二酚法<sup>[8]</sup>, 重复 3 次, 取平均值。

### 1.3 数据统计与分析

外植体按上述培养方式进行接种培养, 每隔 7 d 对愈伤组织分化情况进行观察记载, 并及时清理污染的外植体, 通过数据分析选择出适宜欧洲卫矛叶片愈伤组织诱导的培养方案。本试验数据用 Excel 2010 处理, SPSS20.0 进行方差分析和 Duncan 多重对比, Excel2010 进行图形绘制。

## 2 结果与分析

### 2.1 激素浓度配比对愈伤组织分化的影响

适宜的细胞分裂素和生长素可以促进细胞分裂和伸长。通过二因素四水平完全随机试验得出, 愈伤组织芽点数量随 6-BA 浓度上升而增多, 但 NAA 浓度不同, 分化的芽苗长势不一, 其中以 MS+1.0 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA+0.1 mg·L<sup>-1</sup> NAA 为培养基适宜欧洲卫矛愈伤组织分化, 分化率达 58.3% (表 1)。由多重对比分析 (表 2) 可知, 6-BA 和 NAA 对愈伤组织分化有显著影响 ( $P<0.05$ )。

表 1 不同浓度 6-BA 和 NAA 组合对愈伤组织分化率的影响

Table 1 Effects of different concentrations of 6-BA and NAA combination on callus differentiation rates

处理 Treatment	激素浓度/ mg·L <sup>-1</sup> Hormone concentration		分化率/% Differentiation rate	愈伤组织生长状况 Callus growth
	6-BA	NAA		
1	0.5	0.1	12.3±1.73	分化的芽苗少, 较小
2	0.5	0.3	12.2±1.86	分化的芽苗少, 叶发黄
3	0.5	0.5	17.2±1.90	分化的芽点少, 叶片小
4	0.5	1	20.9±2.11	芽点少
5	1	0.1	58.3±4.39	分化的芽较多, 叶色浓绿健壮
6	1	0.3	35.4±1.16	分化的芽较多, 叶色率
7	1	0.5	18.0±0.47	分化的芽茎尖发黄
8	1	1	12.1±1.33	分化的芽苗少, 愈伤组织褐化
9	1.5	0.1	23.9±2.14	分化的芽苗少, 叶片淡绿
10	1.5	0.3	23.2±2.85	分化的芽苗少, 叶片发黄
11	1.5	0.5	29.3±2.72	分化芽苗少, 愈伤组织发黄
12	1.5	1	29.9±8.07	分化的芽苗少, 愈伤组织褐化
13	2	0.1	26.5±1.66	分化的芽苗细弱, 后期发黄
14	2	0.3	24.6±1.15	分化的芽苗长势差, 叶片小
15	2	0.5	22.2±0.06	分化的芽苗少, 后期发黄
16	2	1	26.4±2.63	分化的芽苗少, 愈伤组织褐化

### 2.2 可溶性糖含量的变化

糖类为植物细胞提供能源物质, 参与胞内各种生理生化反应, 并能影响到愈伤组织的形成分化。

欧洲卫矛愈伤组织在明暗条件下可溶性糖含量的变化结果 (图 1) 显示, 明暗不同条件下, 可溶性糖含量变化的总体趋势大致相同, 呈先升后降的趋势。

可溶性糖在 28 d 前一直呈上升趋势, 在培养 28 d 后出现高峰, 这主要因为明暗两种条件下愈伤组织处于快速增殖阶段, 细胞分裂速度快, 细胞内合成大量糖类物质, 供组织细胞分裂生长使用; 但 28 d 后, 可溶性糖含量开始下降, 因为培养基内营养物质大量消耗, 生长速度下降, 愈伤组织生长状况不佳,

甚至部分开始褐化, 愈伤组织代谢活动速度减慢, 消耗的糖类物质大于产生的糖类物质, 因此可溶性糖含量逐渐下降。在整个培养过程中, 光照条件下产生的可溶性糖含量略高于黑暗条件产生的可溶性糖含量, 这可能由于欧洲卫矛较为喜光, 黑暗的培养条件不适合其生长分化, 但整体差别不大。

表 2 6-BA 和 NAA 对愈伤组织分化率影响的方差分析

Table 2 Variance analysis of the effects of 6-BA and NAA on callus differentiation rates

变异来源 Source	平方和 SS	自由度 DF	均方 MS	F 值 F value	P 值 P value
Correct model	0.566 <sup>a</sup>	15	0.038	31.192	0.000
NAA	0.055	3	0.018	15.267	0.000
6-BA	0.149	3	0.050	40.942	0.000
Error	0.039	32	0.001		
Total	3.494	48			

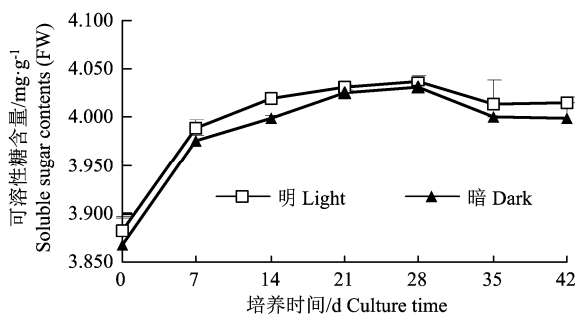


图 1 明暗条件下可溶性糖含量变化

Figure 1 The change of soluble sugar content under light and dark conditions

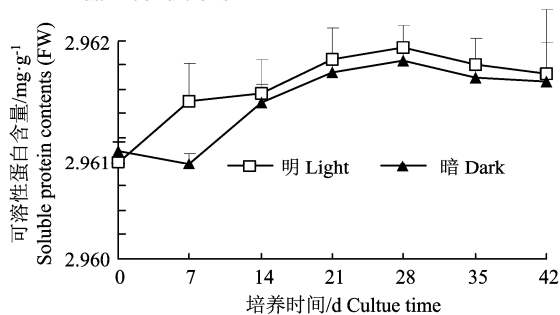


图 2 明暗条件下可溶性蛋白含量变化

Figure 2 The change of soluble protein content under light and dark conditions

### 2.3 可溶性蛋白含量的变化

蛋白质是维持细胞基本生命活动的重要物质。欧洲卫矛愈伤组织在明暗条件下可溶性糖含量变化结果(图 2)显示: 明暗条件下可溶性蛋白含量变化的总趋势相似, 均呈先升后降的趋势, 但光照条件下可溶性蛋白的含量大于黑暗条件下的含量, 这可能因为黑暗条件下, 细胞分化速度慢; 光照条件下, 在培养第 28 天可溶性蛋白含量出现高峰, 0~28 d 可溶性蛋白含量不断上升, 这是因为愈伤组织处于快速生长阶段, 细胞内合成大量蛋白质, 供细

胞生长分化, 28 d 后可溶性蛋白含量下降, 主要是因为随着培养基中营养物质的消耗, 愈伤组织生长速度变缓, 质量变差, 合成蛋白质的速率也下降; 黑暗条件下, 可溶性蛋白含量呈先降后升再降趋势, 这可能因为暗培养初期, 愈伤组织从光照条件转为黑暗条件, 需要一定时间适应新环境, 此时愈伤组织生长速度较慢, 细胞合成的蛋白质含量低于消耗的蛋白质含量, 适应之后, 可溶性蛋白含量不断上升, 在第 28 天时达到最高, 然后趋于稳定, 此时愈伤组织增长也变得缓慢。

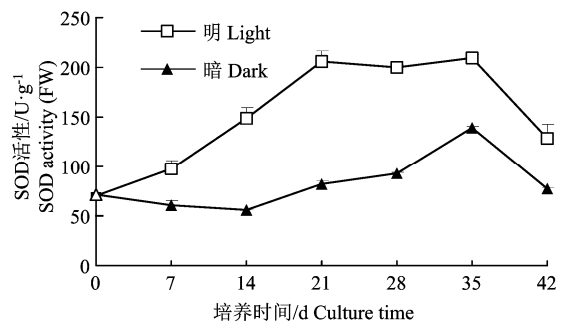


图 3 明暗条件下 SOD 活性变化

Figure 3 The change of SOD activity under light and dark conditions

### 2.4 超氧化物歧化酶(SOD)活性的变化

欧洲卫矛在明暗条件下 SOD 活性含量变化结果显示(图 3), 在光照条件下, 愈伤组织 SOD 活性有 2 个峰值, 分别在第 21 和第 35 天。第一个峰值出现的原因可能是愈伤组织处于旺盛生长期, 细胞分裂旺盛, 对营养物质需求大, 使 SOD 活性不断上升。之后愈伤组织生长趋于稳定, 细胞生长变缓, 使 SOD 活性下降; 第 2 个峰值出现是由于培养基中营养物质大量消耗, 愈伤组织生长速度变缓, 甚至几乎停止生长, 质量变差, 未分化的愈伤组织出现

褐化、死亡等不良生长现象, 因此 SOD 活性加强, 降低衰老细胞中的氧化自由基。在黑暗条件下, 愈伤组织 SOD 活性有 1 个峰值, 与光照条件下的第 2 个峰值处于同一时间。从整体来看, 光照条件下 SOD 活性高于黑暗条件, 因此可以推测欧洲卫矛在光照条件下, 愈伤组织生长比较旺盛。

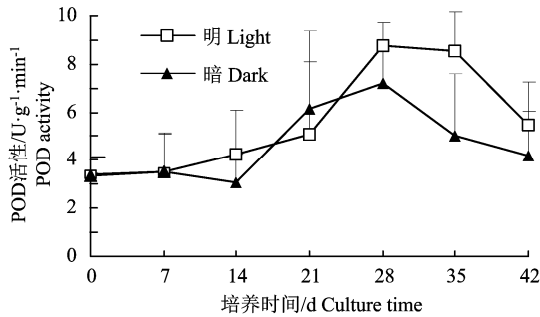


图 4 明暗条件下 POD 活性变化

Figure 4 The change of POD activity under light and dark conditions

## 2.5 过氧化物酶 (POD) 活性的变化

POD 是抗氧化作用的关键酶, 与愈伤组织褐化有关。欧洲卫矛在明暗条件下 POD 活性变化 (图 4) 表明, 明暗不同条件下, POD 活性变化存在一定差异。在光照条件下, 愈伤组织接种初期 (0~14 d), POD 活性缓慢上升, 到第 21 天后 POD 活性显著上升, 在第 28 天时活性达到最大值, 之后 POD 活性便小幅下降。在黑暗条件下, 愈伤组织在接种初期 (0~7 d), POD 活性趋于稳定, 从第 7 天开始下降, 这可能是因为愈伤组织由光照转入黑暗条件培养过程中, 需要一个适应环境的阶段, 从第 14 天开始, 与光照条件下相似, POD 活性呈显著上升趋势, 第 28 天时活性达到最大, 之后活性缓慢下降。在光照条件下, 愈伤组织的 POD 活性高于黑暗条件下。

## 2.6 多酚氧化酶 (PPO) 活性的变化

PPO 是植物参与防御反应的酶, 与愈伤组织褐化有关。欧洲卫矛在明暗条件下 PPO 活性变化结果 (图 5) 显示, 明暗不同条件下, PPO 活性变化存在一定的差异。在光照条件下, 愈伤组织接种初期 (0~7 d), PPO 活性显著上升, 出现第一个活性高峰, 这可能与刚接种时, 愈伤组织受损伤, PPO 活性发生明显变化, 但维持时间较短, 从第 7 天开始就明显下降, 到第 14 天后 PPO 活性又开始明显上升, 出现第 2 个活性高峰, 之后再次出现小幅下降。在黑暗条件下, 愈伤组织 PPO 活性在第 0 至第 28 天均处于上升状态, 第 0 至第 14 天上升的速度较快, 第 14 至第 28 天上升速度缓慢, 活性变化较平稳, 第 28 至第 42 天 PPO 活性处于下降趋势。且光照条

件下愈伤组织的 PPO 活性最大值高于黑暗条件下 PPO 活性最大值。

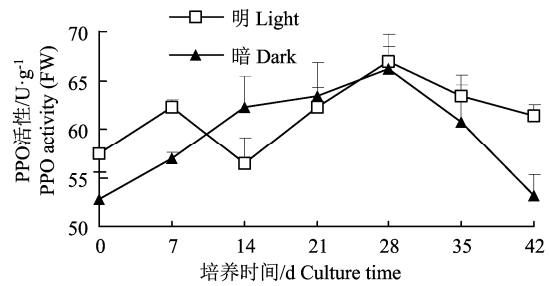


图 5 明暗条件下 PPO 活性变化

Figure 5 The change of PPO activity under light and dark conditions

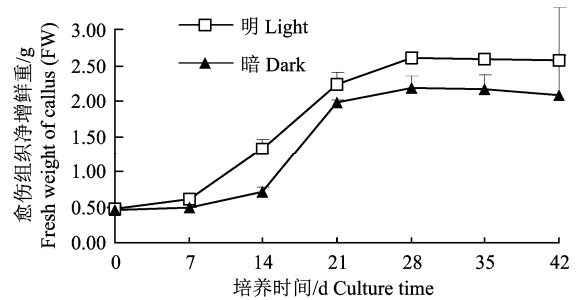


图 6 明暗条件下愈伤组织净增鲜重变化

Figure 6 The change of callus fresh weight under light and dark conditions

## 2.7 生长曲线

本试验分别在明暗条件下, 对欧洲卫矛进行愈伤组织培养, 并作出其生长曲线。结果 (图 6) 显示, 在光照和黑暗培养条件下, 愈伤组织生长曲线均大致呈“S”型, 可以将生长过程分为 3 个时期: 生长延迟期 (0~14 d)、快速生长期 (14~28 d) 和生长稳定期 (28~42 d)。这可能与接种瓶内培养基所提供的营养物质有限有关<sup>[9]</sup>。由图 6 可知, 在明暗条件下, 愈伤组织在生长延迟期生长速度缓慢, 生长曲线较平稳, 变化较小, 即此时愈伤组织生长量的增幅小, 这可能因为刚接种的愈伤组织需要一定时间适应环境, 此时细胞处于分裂时期, 原物质合成较慢, 细胞生长慢; 在快速生长期生长曲线生长速度明显上升, 说明此时愈伤组织生长迅速, 原物质合成速度快, 细胞体积迅速增加, 愈伤组织鲜重迅速增加, 其表面出现芽点, 部分分化出小苗, 且光照条件下愈伤组织生长曲线明显高于黑暗条件下的; 在生长稳定期生长速度减慢, 重量趋于稳定甚至略微下降, 愈伤组织几乎不再生长, 部分出现了褐化现象, 愈伤组织鲜重下降可能与其褐化及组织含水量下降有关。对比明暗条件下的生长曲线可知, 光照条件下更有利于欧洲卫矛愈伤组织增殖分化培养。

表 3 光照条件下各生理指标间的相关系数

Table 3 Correlation coefficient among physiological indexes under illumination

项目 Item	POD	SOD	PPO	可溶性糖 Soluble sugar	可溶性蛋白 Soluble protein	鲜重 Fresh weight
POD	1					
SOD	0.791*	1				
PPO	0.808*	0.643	1			
可溶性糖 Soluble sugar	0.545	0.783*	0.522	1		
可溶性蛋白 Soluble protein	0.726*	0.877**	0.693*	0.964**	1	
鲜重 Fresh weight	0.827*	0.825*	0.632	0.733*	0.855**	1

注: \*\*和 \*\*\* 表示相关系数达到 0.05 和 0.01 的显著水平。下同。

Note: \*\* and \*\*\* denote correlation coefficients is significant at 0.05 and 0.01 level, respectively. The same below.

表 4 黑暗条件下各生理指标间的相关系数

Table 4 Correlation coefficients among physiological indicators under dark conditions

项目 Item	POD	SOD	PPO	可溶性糖 Soluble sugar	可溶性蛋白 Soluble protein	鲜重 Fresh weight
POD	1					
SOD	0.528	1				
PPO	0.728*	0.359	1			
可溶性糖 Soluble sugar	0.634	0.321	0.820*	1		
可溶性蛋白 Soluble protein	0.725*	0.562	0.709*	0.756*	1	
鲜重 Fresh weight	0.783*	0.765*	0.541	0.687	0.897**	1

## 2.8 各指标间的相关性分析

由表 3 和表 4 可知, 在明暗条件下, 愈伤组织鲜重与可溶性蛋白均呈极显著正相关, 与 POD、SOD 均呈显著正相关, 且在光照条件下, 鲜重与可溶性糖呈显著正相关; 可溶性蛋白在明暗条件下与 POD、PPO 呈显著正相关, 在光照条件下与 SOD、可溶性糖呈极显著正相关; 可溶性糖在光照条件下与 SOD 呈显著正相关; PPO 在明暗条件下均与 POD 均呈显著正相关; SOD 在光照条件下与 POD 显著正相关; 在明暗条件下, 可溶性糖与 POD 均呈显著不相关, 鲜重与 PPO 也均呈显著不相关。在欧洲卫矛愈伤组织增殖分化过程中, 可溶性蛋白对愈伤组织分化起重要作用, POD 与 SOD 和 PPO 有一定相关性, 可能在不定芽的分化中共同起作用, 可溶性糖在愈伤组织分化中作用较小。

## 3 讨论与结论

### 3.1 愈伤组织分化

有研究表明不定芽的发生需要致密紧实的愈伤组织<sup>[10-11]</sup>, 这与本研究的结果相似, 致密绿色的愈伤组织更容易分化出芽点。高浓度细胞分裂素搭配低浓度生长素可以促进芽的形成<sup>[12]</sup>, 但具体试验中发现, 细胞分裂素浓度过高, 诱导出的愈伤组织松散、发黄, 在后期培养中不容易分化出芽点。杨成行等得出当 6-BA 和 NAA 浓度比例大于 1 时, 对芽的分化效果显著<sup>[13]</sup>, 本试验得出 MS+1.0 mg·L<sup>-1</sup>

6-BA+ 0.1mg·L<sup>-1</sup> NAA 组合对欧洲卫矛愈伤组织分化效果最好, 两个研究结果相似。试验中欧洲卫矛叶片愈伤组织分化率总体较低, 这可能与试验中选用的激素种类以及浓度不适宜有关, 需要进一步研究。

### 3.2 愈伤组织分化过程中的生理指标变化

本试验发现, 光照条件有利于欧洲卫矛叶片愈伤组织增殖和分化培养, 光照条件下愈伤组织的生长状态明显好于黑暗条件下, 这与付航<sup>[14]</sup>、张俊娥<sup>[15]</sup>、李水根<sup>[16]</sup>等人的试验结果相似。光照可激活某些酶的活性, 影响到细胞的生长以及积累次生代谢物的能力<sup>[17]</sup>, 但不同植物愈伤组织在培养过程中所需的光照时间均有所不同。何雪娇和赖钟雄<sup>[18]</sup>发现朱砂根在遮光条件下愈伤组织的生长量达到最大, 而张凌云等<sup>[19]</sup>在不同因子对月季愈伤组织诱导影响的试验中得出黑暗和光照条件对愈伤组织培养无显著影响。在本试验中, 愈伤组织在 14~28 d 时出现芽点, 并且芽点开始生长, 28 d 后生长速度变缓, 且后期愈伤组织鲜重呈下降趋势, 生长曲线趋于稳定, 部分愈伤组织出现褐化现象。因此, 在后期的愈伤组织培养中, 可将培养周期缩短至 28 d, 以减少愈伤组织在增殖和分化培养中的褐化现象。

可溶性糖是体细胞胚胎诱导和发育的一种渗透调节剂<sup>[20]</sup>。史爱琴<sup>[21]</sup>在红花檵木愈伤组织分化培养试验中, 得出愈伤组织在增殖分化过程中可溶性糖含量呈先升后降的趋势, 但变化幅度不大。本试验

明暗条件下可溶性糖含量均呈先升后降趋势, 且光照条件下的含量高于黑暗条件下愈伤组织含量, 但总体相差不大, 说明了欧洲卫矛愈伤组织更适宜在光照条件下培养。

可溶性蛋白含量的变化一定程度上反映了愈伤组织细胞生理活动和形态结构的变化<sup>[22]</sup>, 是愈伤组织诱导、增殖和分化以及体细胞胚发生的重要生理指标之一<sup>[23]</sup>。可溶性蛋白含量与愈伤组织状态有很大的相关性, 代谢活跃, 分裂能力强的愈伤组织, 可溶性蛋白含量较高<sup>[22]</sup>, 可溶性蛋白在愈伤组织形态建成和不定芽分化过程中都起着十分重要作用<sup>[24]</sup>。本试验得出在光照条件下, 欧洲卫矛愈伤组织的可溶性蛋白含量高于黑暗条件下, 这与成璐<sup>[25]</sup>的结果相似。且愈伤组织分化出芽苗时, 可溶性蛋白含量较高。

SOD 酶是一种抗氧化酶, 可以避免植物细胞受到伤害。本试验得出在光照和黑暗的培养条件下, SOD 活性的变化总体变化趋势相似, SOD 活性高的时候, 愈伤组织分化率也就高, 这与徐锡荣等<sup>[26]</sup>的研究结果相似。POD 在植物组织中与植物生长分化、生理代谢、环境适应状况等方面都有密切关系<sup>[27]</sup>, 可作为衡量植物衰老状况的指标。刘亚菊等<sup>[28]</sup>在平贝母鳞片离体培养试验中发现可溶性蛋白和 POD 酶活性的变化趋势基本一致, 这与本试验的研究结果相似。本试验中 POD 活性在不定芽分化时快速上升, 这与张雯等<sup>[29]</sup>的结果相似。PPO 能催化酚类物质形成醌, 可以导致褐变<sup>[30]</sup>。有试验得出 PPO 活性越低, 褐化越严重<sup>[31]</sup>, 这与本试验的结果相似, 随着 PPO 在培养后期活性降低, 愈伤组织的褐化程度升高。

## 参考文献:

- [1] 陈香波, 田旗. 话说彩叶树: 赏叶观果俱佳的欧洲卫矛[J]. 园林, 2005(4): 36.
- [2] BONNEAU L, BERANGER-NOVAT N, MONIN J. Somatic embryogenesis and plant regeneration in a woody species: the European Spindle Tree (*Euonymus europaeus* L.)[J]. Plant Cell Rep, 1994, 13(3/4): 135-138
- [3] THOMAS P A, EL-BARGHATHI M, POLWART A. Biological flora of the British Isles: *Euonymus europaeus* L.[J]. J of Ecol, 2011, 99(1): 345-365.
- [4] 蒋金炜, 黄翠虹, 薛堃, 等. 秋家蝇对两种卫矛植物的趋性[J]. 昆虫学报, 2008, 51(12): 1309-1312.
- [5] 邢歆, 丁彦芬, 余义亮. 不同品种欧洲卫矛光合特性[J]. 东北林业大学学报, 2018, 46(1): 12-16; 26.
- [6] 李浚明. 植物组织培养教程[M]. 北京: 北京农业大学出版社, 1992
- [7] 李合生. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000
- [8] 杨暖. 北美豆梨叶色变化及生理特性研究[D]. 泰安:

山东农业大学, 2016.

- [9] 刘思好, 杨悦, 王鹰, 等. 北细辛悬浮培养体系的建立及优化[J]. 草业科学, 2017, 34(11): 2254-2260.
- [10] DAS J, MAO A A, HANDIQUE P J. Callus-mediated organogenesis and effect of growth regulators on production of different valepotriates in Indian valerian (*Valeriana jatamansi* Jones.)[J]. Acta Physiol Plant, 2013, 35(1): 55-63.
- [11] 戚甫友, 范伟军, 胡秀, 等. 土党参茎段的愈伤组织诱导与植株再生[J]. 浙江农业学报, 2017, 29(8): 1313-1320.
- [12] 何朋, 刘思好, 王宏宇, 等. 北细辛叶柄愈伤组织的增殖培养及器官分化研究[J]. 中草药, 2016, 47(13): 2341-2345
- [13] 杨成行, 李晓婷, 袁建振, 等. 金线莲组织培养技术研究进展[J]. 草业科学, 2018, 35(5): 1047-1056.
- [14] 付航, 黄涵签, 王妍, 等. 防风愈伤组织诱导及植株再生体系的建立[J]. 中草药, 2018, 49(13): 3127-3133.
- [15] 张俊娥, 邓华锋. 杜仲愈伤组织转录组分析及其类黄酮合成相关基因的 qRT-PCR 分析[J]. 中草药, 2018, 49(16): 3912-3917.
- [16] 李水根, 范晓芬, 侯稚群, 等. 红掌“粉冠军”愈伤再生及组织学观察[J]. 分子植物育种, 2017, 15(2): 652-657.
- [17] 钱丽华, 毛碧增. 光温条件对三叶青愈伤生长及黄酮积累的影响[J]. 浙江农业科学, 2013, 54(9): 1098-1100.
- [18] 何雪娇, 赖钟雄. 光照和氮源对朱砂根愈伤组织生长及岩白菜素含量的影响[J]. 福建农林大学学报(自然科学版) 2012, 1(5): 486-490.
- [19] 张凌云, 杨奕, 邓赞, 等. 不同因子对月季愈伤组织诱导的影响[J]. 贵州农业科学, 2011, 39(10): 51-53.
- [20] 孟姣, 张存旭, 孙琳, 等. 栓皮栎胚性和非胚性愈伤组织生化特性研究[J]. 西北林学院学报, 2015, 30(5): 106-110.
- [21] 史爱琴. 红花檫木叶片离体培养与植株再生研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2015.
- [22] 马健, 梁玉玲, 潘笑, 等. 甘草根愈伤组织诱导与可溶性蛋白含量变化[J]. 河北大学学报(自然科学版), 2018, 38(3): 291-298.
- [23] PAREEK A, KOTHARI S L. Direct somatic embryogenesis and plant regeneration from leaf cultures of ornamental species of *Dianthus*[J]. Scientia Horticulturae, 2003, 98(4): 449-459.
- [24] 栾非时, 牛明明, 张慧君, 等. 甜瓜不定芽发生过程中酶活性分析[J]. 东北农业大学学报, 2013, 44(7): 112-116.
- [25] 成璐. 两种铁线莲植物组织培养的初步研究[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2014.
- [26] 徐锡荣, 邓毛琴, 林壮辉, 等. 尾巨桉不同类型愈伤组织抗性相关酶活性差异与不定芽分化关系研究[J]. 基因组学与应用生物学, 2017, 36(2): 798-804.
- [27] 赵洁, 程井辰, 熊进, 等. 石刁柏愈伤组织根和芽分化过程中 POD 和 SOD 活性的变化[J]. 武汉植物学研究, 1997, 15(1): 49-53.
- [28] 刘亚菊, 殷红, 朱四易, 等. 噻二唑苯基脲在平贝母组织培养中的作用[J]. 西北大学学报(自然科学版), 2000, 30(2): 139-142.
- [29] 张雯, 周存田, 王飞, 等. 葡萄风信子器官和体胚发生的解剖及生理特性研究[J]. 西北林学院学报, 2013, 28(4): 32-37.
- [30] 张伟伟. 多酚氧化酶活性对小麦穗发芽的影响及其配合力分析[D]. 保定: 河北农业大学, 2010.
- [31] 李林, 陈益燕, 杨梅, 等. 土沉香启动培养及其生理特性研究[J]. 湖北农业科学, 2015, 54(7): 1742-1745; 1750.