

## 品种基因型和 2, 4-D 浓度对青稞成熟胚出愈率的影响\*

陈升位, 陈疏影, 赵志萍, 郭华春\*\*

(云南农业大学 农学与生物技术学院, 云南 昆明 650201)

**摘要:** 成熟胚培养是转基因的关键技术之一, 研究品种基因型和 2, 4-D 浓度对成熟胚培养的影响, 有利于提高青稞转基因的效率。本文采用加入 20 g/L 麦芽糖的 MS 培养基 [ $m$  (麦芽糖):  $m$  (蔗糖) = 1: 2] 和完全随机设计, 分析了 5 种 2, 4-D 浓度对 5 个青稞品种成熟胚出愈率的影响, 比较了 14 个青稞品种的成熟胚出愈率。结果表明, 2, 4-D 浓度和品种基因型均极显著地影响青稞成熟胚出愈率, 两者之间具有显著的互作效应; 青稞成熟胚出愈率随 2, 4-D 浓度的增加而增加, 并在 4 mg/L 处理中出愈率达到最高, 随后出愈率随 2, 4-D 浓度的增加而降低; 对照 (0 mg/L) 的出愈率极显著地低于其他处理的出愈率, 但其他 4 个 2, 4-D 浓度处理的出愈率之间没有显著差异; 14 个青稞品种的成熟胚出愈率之间具有极显著差异, 其中 ZJ-45 等 7 个品种的出愈率达到了 (90.00 ± 7.07)%, 显著高于 D-5 等 6 个品种的成熟胚出愈率。ZJ-45 等 7 个品种可用于成熟胚培养; 用 PEG 和双蒸水先后浸种 3 h 和 19 h, 将成熟胚置于加入 20 g/L 麦芽糖和 4 mg/L 2, 4-D 的 MS 培养基 [ $m$  (麦芽糖):  $m$  (蔗糖) = 1: 2] 上培养是 ZJ-45 等 7 个青稞品种成熟胚培养的适宜方法。

**关键词:** 青稞; 成熟胚培养; 2, 4-D 浓度; 品种基因型; 出愈率

**中图分类号:** S 512.303.53    **文献标识码:** A    **文章编号:** 1004-390X (2012) 06-0777-06

## The Effects of the Cultivar Genotypes and 2, 4-D Concentrations on the Rate of Callus Induced from the Mature Embryo of Highland Naked Barley

CHEN Sheng-wei, CHEN Shu-ying, ZHAO Zhi-ping, GUO Hua-chun

(College of Agronomy and Biotechnology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

**Abstract:** The mature embryo culture is a key technology for the transgenic of highland naked barley, to study the effect of cultivar genotype and 2, 4-D concentration on the rate of callus induced from the mature embryo is helpful for improving the transgenic efficiency of highland naked barley. In the present paper, the MS medium containing 20 g/L maltose (the ratio between maltose and sucrose was 1: 2) and completely random design were employed to study the effect of the 2, 4-D concentration and cultivar genotypes on the reduction rate of the callus, and compared the reduction rate of callus from the mature embryo of 14 different highland naked barley. The result showed that 2, 4-D concentration and cultivar genotype could both impact very significantly on the reduction rate of callus, there was a significant interaction between them; The reduction rate of callus increased with the increment of 2, 4-

收稿日期: 2012-05-17

修回日期: 2012-09-20

网络出版时间: 2012-11-09 09:10

\* 基金项目: 云南农业大学农学与生物技术学院基金资助。

作者简介: 陈升位 (1967-), 男, 博士, 副教授, 主要从事麦类作物遗传与育种研究。

E-mail: chenshengweis@yahoo.com.cn

\*\* 通讯作者 Corresponding author: 郭华春 (1964-), 男, 博士, 教授, 主要从事马铃薯遗传育种研究。

E-mail: ynghc@126.com

网络出版地址: http://www.cnki.net/kcms/detail/53.1044.S.20121109.0910.201206.777\_001.html

D concentration, reached the maximum in the treat with 4 mg/L 2, 4-D, and then decreased with the increment of 2, 4-D concentration; The reduction rate of callus was lower very significantly in the contrast (0 mg/L concentration treat) than those in the other treats, but the difference was not significant between the reduction rates of callus in 4 treats with different concentration of 2, 4-D; The difference was very significant between the rate of callus induced from the mature embryo of 14 different highland naked barley respectively, the rates of callus induced from the mature embryo of 7 cultivars, include ZJ-45 *ect*, all reached  $(90.00 \pm 7.07)\%$ , and higher significantly than the rate of callus induced from the mature embryo of 6 cultivars, included D-5 *ect*, respectively. Seven cultivars, included ZJ-45 *ect*, are suitable materials for the mature embryo culture; the method, soaking seeds with PEG and double distilled water for 3 h and 19 h successively, and then placing the peeled mature embryos on the MS medium containing 20 g/L maltose (the ratio between maltose and sucrose is 1: 2) and 4 mg/L 2, 4-D, is a suitable mature embryo culture method for them.

**Key words:** highland naked barley; mature embryo culture; 2, 4-D concentration; cultivar genotype; reduction rate of callus.

青稞是藏族主要的粮食作物,具有一定的药用价值和保健功能。青稞籽粒营养成分丰富,不仅可食用,还可作为酿酒和饲料工业原料。随着全球气候变暖、干旱危害日益加剧,青稞还因具有耐寒、抗旱和适应性广等优良性状而备受关注。在青稞生产中,白粉病、锈病、蚜虫等危害严重并有不断加剧的趋势,严重影响了青稞的产量和品质<sup>[1]</sup>。系统选育是目前青稞种质创新和新型品种选育的主要技术策略,但具有费时、费力、效率低等缺点。转基因技术克服了传统系统选育的不足,被认为是创新作物种质和新品种选育的有效技术之一<sup>[2-4]</sup>。胚性愈伤组织的高效培养是转基因研究的关键技术之一,外植体是影响胚性愈伤培养的主要因素。在大麦组织培养中常使用的外植体主要有未成熟幼胚、花药 2 种<sup>[5-6]</sup>。花药培养的愈伤组织中胚性愈伤比例较低,未成熟胚培养愈伤组织中胚性愈伤比例较高,但两者的取材均极大地受季节限制<sup>[5-6]</sup>。成熟胚是小麦、水稻、大麦、假俭草等植物组织培养的有效外植体,所形成的愈伤组织中胚性愈伤比例较高,而且取材不受季节限制,被认为是转基因研究中的最佳外植体<sup>[4,6-10]</sup>。

筛选适合成熟胚培养的材料及其适宜的 2, 4-D 浓度是青稞转基因研究的关键技术之一。但有关青稞成熟胚培养的报道较少,所使用的材料大多数不是我国青稞生产用的推广品种<sup>[6,9,11]</sup>。从目前的推品种中筛选适合成熟胚培养的材料及其适宜的 2, 4-D 浓度,可促进转基因技术在我国青

稞种质创新和新品种选育等研究中的应用。本文以我国目前推广的青稞品种为材料,采用加入 20 g/L 麦芽糖的 MS 培养基(麦芽糖与蔗糖的质量比为 1: 2),研究 2, 4-D 浓度和外植体基因型对青稞成熟胚出愈率的影响,筛选适合成熟胚培养的青稞品种,为青稞转基因研究提供一定的理论和技术支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

本文采用分别从浙江省农业科学院和云南迪庆藏族自治州农科所引进的 298 个大麦材料中挑选出 14 个青稞和裸大麦品种为试验材料,14 个品种的名称及其代号详见表 1。

**表 1** 用于成熟胚培养的 14 个不同基因型的青稞品种  
Tab. 1 Fourteen different genotype varieties of highland naked barley used in the mature embryo culture

材料编号 material code	材料名称 material name	材料编号 material code	材料名称 material name
ZJ-45	黄青稞	D1	格洽
ZJ-46	青稞	D4	洪星
ZJ-49	京裸 11	D5	昆仑 5 号
ZJ-57	红原黑青稞	D6	喜马拉雅 22
ZJ-62	机械裸	D7	康青 8 号
ZJ-165	洞头米麦	D9	北青 7 号
ZJ-247	旱地六棱白青稞	D11	藏青

## 1.2 方法

### 1.2.1 种子浸泡和消毒

选择籽粒饱满的成熟种子用双蒸水浸种 2 h 后, 用 30% 的 PEG 浸种 3 h, 然后用双蒸水浸泡 19 h, 再用 70% 的酒精和 2% 的次氯酸钠分别消毒 2 ~ 4 min 和 12 ~ 14 min, 最后用无菌水冲洗 3 次。

### 1.2.2 取胚及胚培养

在无菌操作台上, 将消毒后的成熟种子放到无菌培养皿中, 腹沟向下。用镊子夹住种子并将成熟胚挤出, 然后将剥离的胚接种到加入 20 g/L 麦芽糖的 MS 培养基 [ $m$  (麦芽糖) :  $m$  (蔗糖) = 1:2] 的培养基上, 盾片朝上。在 25℃, 16 h/d 的光照条件下培养。

### 1.2.3 试验设计和数据分析

本文选取 ZJ-45, ZJ-49, ZJ-247, D6, D5 共 5 个种子较多的青稞品种, 设置 0, 2, 4, 6, 8 mg/L 5 个 2, 4-D 浓度, 分析 2, 4-D 浓度对 5 个品种成熟胚出愈率的影响, 筛选适合实验材料的 2, 4-D 浓度。然后利用添加适宜 2, 4-D 浓度的 MS 培养基 [ $m$  (麦芽糖) :  $m$  (蔗糖) = 1:2] 培养 14 个材料 (表 1) 的成熟胚, 并分析不同材料成熟胚出愈率之间的差异。两组实验均采用完全随机设计, 每个处理接种 40 个结构完整的成熟胚, 重复 3 次。利用 SPSS 15.0 软件分析试验数据。

### 1.2.4 出愈率调查及其计算

接种后 20 d 调查出愈率, 并按下列公式计算成熟胚出愈率:

$$\text{成熟胚出愈率} = \frac{\text{接种后生长愈伤的成熟胚数}}{\text{接种的成熟胚数}} \times$$

100%。

## 2 结果与分析

### 2.1 2, 4-D 浓度和品种基因型对青稞成熟胚培养中出愈率的影响

为了研究 2, 4-D 浓度和品种基因型对青稞成熟胚出愈率的影响, 利用 SPSS 15.0 软件对不同处理中成熟胚出愈率数据进行了方差和多重比较分析。方差分析结果表明 2, 4-D 浓度和品种基因型极显著地影响成熟胚培养的出愈率, 而且两者之间具有显著的互作效应 (表 2)。

表 2 2, 4-D 浓度和品种基因型对青稞成熟胚出愈率的影响

Tab. 2 The effect of 2, 4-D concentration and cultivar genotype on the rate of callus induced from the mature embryo of highland naked barley

变异来源 sources of variation	平方和 sum of squares	自由度 ( <i>df</i> ) degree of freedom	均方 mean square	<i>F</i> 值 <i>F</i> value
2, 4-D 浓度间 among 2, 4-D concentrations	2.034	4	0.509	64.22**
品种间 among cultivars	1.157	4	0.289	36.535**
2, 4-D 浓度 × 品种 2,4-D concentrations × cultivars	0.300	16	0.019	2.368*
重复 repeat	0.025	2	0.012	1.570
误差 error	0.380	48	0.008	
总变异 total variation	3.896	74		

注: 表中 \* 和 \*\* 两种上标分别表示被标记的 *F* 值达到显著 ( $P < 0.05$ ) 和极显著水平 ( $P < 0.01$ ), 下同。

Note: \* and \*\* show respectively that the *F* value marked by it arrived at the significant level ( $P < 0.05$ ), extremely significant level ( $P < 0.01$ ); the same as below.

多重比较 (least significant difference, LSD) 结果表明, 在 4 个 2, 4-D 浓度处理中, 青稞成熟胚培养的出愈率极显著地高于对照 (0 mg/L) 处理的出愈率, 表明 2, 4-D 可有效促进青稞成熟胚的出愈率 (表 3)。虽然 4 个浓度处理中出愈率之间没有显著差异 (表 3), 但是当 2, 4-D 浓度低于 4 mg/L 时, 出愈率随 2, 4-D 浓度的增加而升高, 4 mg/L 的 2, 4-D 浓度处理中出愈率最高, 当 2, 4-D 浓度高于 4 mg/L 时, 青稞成熟胚培养的出愈率随 2, 4-D 浓度增加而呈现下降趋势。

### 2.2 不同基因型青稞品种的成熟胚出愈率的比较分析

为了筛选适合成熟胚培养的我国目前推广的青稞品种, 本文采用完全随机设计, 在加入 4 mg/L 2, 4-D 和 20 g/L 麦芽糖的 MS 培养基 [ $m$  (麦芽糖) :  $m$  (蔗糖) = 1:2] 上培养了 14 个不同基因型青稞品种的成熟胚, 并分析 14 个材料的成熟胚出愈率之间的差异。从方差分析结果来看, 不同基因型青稞品种的成熟胚出愈率之间具有极显著差异, 再次证明品种基因型极显著地影响青稞成熟胚出愈率 (表 4)。

表 3 不同 2, 4-D 浓度处理中青稞成熟胚的出愈率及其 LSD 多重比较结果

Tab. 3 The rates of callus induced from the mature embryo of highland naked barley treated with different concentrations of 2, 4-D and their multiple comparison results by LSD

w(2,4-D)/ (mg · L <sup>-1</sup> ) concentration of 2, 4-D	出愈率/% (mean ± s) induction rate of callus	多重比较 multiple comparison	
		5% 显著水平 significant level at 5%	1% 显著水平 significant level at 1%
0.00	40.67 ± 1.15	b	B
2.00	82.67 ± 3.51	a	A
4.00	85.33 ± 1.50	a	A
6.00	81.67 ± 5.51	a	A
8.00	76.33 ± 2.31	a	A

表 4 不同基因型大麦品种成熟胚出愈率的方差分析

Tab. 4 Variance analysis of the rate of callus induced from the mature embryo of highland naked barley cultivar with different genotypes

变异来源 sources of variation	平方和 sum of squares	自由度 (df) degree of freedom	均方 mean square	F 值 F value
品种间 among cultivars	2.276	13	0.175	40.798**
重复间 among repeat	0.019	2	0.009	2.171
误差 error	0.112	26	0.004	
总变异 total variation	2.407	41		

14 个青稞品种成熟胚出愈率的多重比较 (LSD) 结果来看, ZJ-45 等 7 个品种的出愈率均达到了 (90.00 ± 7.07)%, 出愈率之间没有显著差异, 但显著地高于 D-5 等 6 个品种的出愈率 (表 5)。D-7 和 D-4 两个品种的出愈率较低, 不到 30%, 其出愈率与其他 12 个青稞品种的出愈率之间具有极显著差异 (表 5)。ZJ-45 等 7 个青稞品种成熟胚培养所诱导的愈伤组织疏松, 呈白黄色, 继代培养性能较好, 在第 2 次继代培养中即可分化出小绿苗 (图 1)。

### 3 讨论

成熟胚培养受外植体基因型、基本培养基、外源激素和碳源类型及其比例等因素的影响, 其中外植体基因型和 2, 4-D 浓度被认为是影响成熟胚培养的主要因素<sup>[12-14]</sup>。外源激素可以通过与外植体中内源激素互动, 影响成熟胚培养的出愈率<sup>[14-16]</sup>。常用的外源激素主要是 2, 4-

表 5 不同基因型青稞品种的成熟胚出愈率及其多重比较结果

Tab. 5 The rate of callus induced from mature embryo of highland naked barley with different genotypes and their multiple comparison results by LSD

品种编号 variety code	出愈诱导 率/% (mean ± s) induction rate of callus	多重比较 multiple comparison	
		5% 显著水平 significant level at 5%	1% 显著水平 significant level at 1%
ZJ-45	98.33 ± 1.67	a	A
ZJ-165	96.00 ± 1.58	a	AB
D9	95.33 ± 1.67	a	AB
ZJ-46	91.67 ± 5.90	a	AB
ZJ-62	91.67 ± 4.49	a	AB
ZJ-247	91.67 ± 6.35	a	AB
D6	90.00 ± 7.07	a	AB
D11	88.00 ± 0.00	ab	AB
D5	78.33 ± 6.35	b	B
D1	70.33 ± 1.67	b	BC
ZJ-49	70.00 ± 3.54	b	BC
ZJ-57	58.67 ± 6.62	c	C
D7	29.33 ± 8.53	d	D
D4	23.67 ± 6.62	d	D

D, 但在不同植物或同种植物不同基因型品种的成熟胚培养中, 2, 4-D 的适宜浓度明显不同<sup>[4-5,10,12,16]</sup>, 因此在成熟胚培养中 2, 4-D 浓度还是一个值得研究的因素。在大麦成熟胚培养中, 王卉等人认为在 1 ~ 8 mg/L 的范围内 2, 4-D 对大麦成熟胚愈伤的诱导率没有差异<sup>[9]</sup>。潘向群等人发现不同基因型的大麦品种所需 2, 4-D 浓度不同, 2, 4-D 的适宜浓度及其与其他外源激素浓度的配合比例需要根据品种和培养时间的长短而定<sup>[11]</sup>。REN 等人发现在加入麦芽糖浓度为 30 g/L 的 MS 培养基中, 小麦成熟胚培养的 2, 4-D 的适宜浓度为 4 mg/L<sup>[15]</sup>。张林等人发现高浓度的 2, 4-D 会影响愈伤质量, 形成难以分化的愈伤组织, 水稻成熟胚培养中 2, 4-D 的适宜浓度为 1 ~ 3 mg/L<sup>[8]</sup>。本文研究结果与前人报道的基本一致, 并发现 2, 4-D 浓度与品种基因的互作效应显著地影响成熟胚出愈率。已有的一些报道表明, 不同基因型的成熟胚或种子中 IAA, ABA 等内源激素的种类和含量不同, 而且浸种后不同基因型的成熟胚中内源激素的含

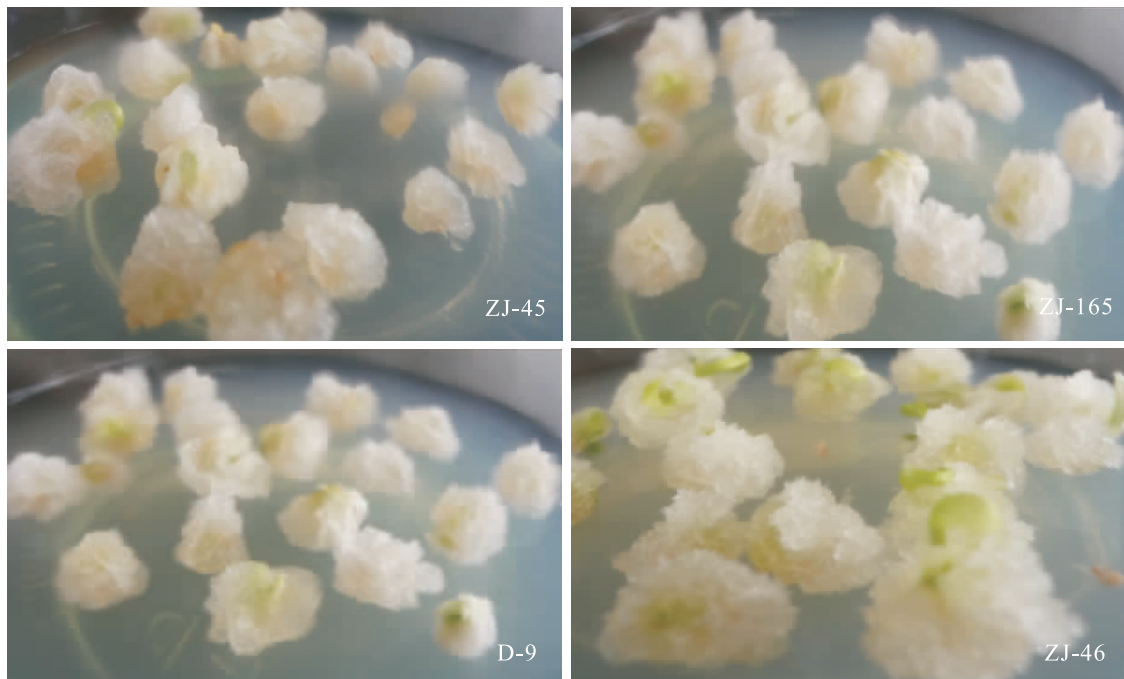


图1 部分青稞品种成熟胚在接种60d后诱导出的愈伤组织  
Fig.1 The calluses induced from the mature embryo of partial highland naked barley variety on the 60th day after inoculation.

量变化也存在差异<sup>[16-17]</sup>。由于 2, 4-D 主要通过 与成熟胚中的内源激素 交互而影响出愈率, 不同基因型大麦品种成熟胚培养所需的 2, 4-D 量存在差异<sup>[9,12]</sup>。因此我们认为青稞成熟胚培养的 2, 4-D 浓度在 2~4 mg/L 范围内比较合适, 但特定基因型青稞成熟胚培养的 2, 4-D 的适宜浓度因品种基因型不同而可能存在差异。

有关研究表明, 大麦、小麦、水稻、玉米等植物的不同基因型的成熟胚均有诱导胚性愈伤的能力, 但不同基因型成熟胚的愈伤诱导能力具有明显差异<sup>[4,6-7,10,12]</sup>。REN 等人在研究影响小麦成熟胚培养的因素时, 发现周麦 18 和豫麦 34 的成熟胚的平均出愈之间具有显著差异, 周麦 18 的平均出愈率较高, 可达到  $(82.74 \pm 1.48)\%$ <sup>[15]</sup>。王卉等发现在 17 个 大麦品种中, 二棱大麦品种的出愈率高于六棱和四棱大麦品种的出愈率, 皮大麦的出愈率高于裸大麦的出愈率, 而且相同棱数不同基因型的大麦品种的出愈率之间具有明显差异, 17 个 大麦品种成熟胚出愈率在 0~100% 变化<sup>[9]</sup>。潘向群等人发现 15 个 大麦品种的出愈率在 0~62.3% 变动, 不同大麦品种成熟胚出愈率之间具有明显差异<sup>[11]</sup>。本研究也发现 14 个不同

基因型青稞品种成熟胚的出愈率之间具有明显差异, 品种基因型是影响青稞成熟胚出愈率的重要因素。我们认为不同基因型大麦或其他作物品种的成熟胚培养出愈率之间的差异可能与其内源激素的类型、含量有直接关系。在 14 个青稞品种中, ZJ-45 等 7 个品种的出愈率均达到了 90%, 出愈率接近或超过了李新玲等人的研究结果<sup>[4,7,10,15,18]</sup>。大部分愈伤组织疏松, 呈白黄色, 可在继代培养中可以分化出绿苗 (图 1), 因此我们认为 ZJ-45 等 7 个品种可作为青稞成熟胚培养的候选材料。

研究特定基因型青稞品种的成熟胚培养的适宜 2, 4-D 浓度, 必须考虑青稞品种基因型的影响。本文采用加入 4 mg/L 2, 4-D 和 20 g/L 麦芽糖的 MS 培养基 [ $m$  (麦芽糖):  $m$  (蔗糖) = 1: 2] 培养 ZJ-45 等 7 个青稞品种的成熟胚, 结果表明 7 个品种成熟胚培养 的出愈均达到了 90%, 而且大部分愈伤组织疏松, 呈白黄色, 并可在第 2 次继代培养中分化出小绿苗 (见图 1)。因此笔者认为采用 30% 的 PEG 和双蒸水先后浸泡大麦干种子 3 h, 19 h, 将剥离的成熟胚置于加入 4 mg/L 2, 4-D 和 20 g/L 麦芽糖的 MS 培养基 [ $m$  (麦芽

糖) :  $m$  (蔗糖) = 1 : 2] 上培养是 ZJ-45 等 7 个青稞品种成熟胚培养的适宜方法。

#### [参考文献]

- [1] 卢良恕. 中国大麦学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1995: 413-435.
- [2] 陈浩, 林拥军, 张启发. 转基因水稻研究的回顾与展望 [J]. 科学通报, 2009, 54 (18): 2699-2717.
- [3] 喻修道, 徐兆师, 陈明, 等. 小麦转基因技术研究及其应用 [J]. 中国农业科学, 2010, 43 (8): 1539-1553.
- [4] 李新玲, 曲敏, 阎玉清, 等. 影响小麦成熟胚培养及植株再生因素的研究 [J]. 植物研究, 2005, 25 (1): 49-52.
- [5] 何玉池, 魏琼, 江爱明, 等. 大麦花药内源游离脯氨酸的含量及在离体培养中的作用分析 [J]. 农业科学与技术, 2008, 2 (12): 25-28.
- [6] 严华军, 王君晖, 黄纯. 大麦成熟胚胚性愈伤组织的高频诱导和植株再生 [J]. 作物学报, 1996, 22 (1): 59-64.
- [7] CHA-UM S, SRIANAN B, PICCHAKUM A, et al. An efficient procedure for embryogenic callus induction and double haploid plant regeneration through anther culture of Thai aromatic rice (*Oryza sativa* L. subsp. *indica*) [J]. *In vitro Cell & Developmental Biology*, 2009, 45 (2): 171-179.
- [8] 张林, 普晓英. 水稻种胚诱导愈伤组织高再生力基因的转育效应 [J]. 作物学报, 2005, 31 (11): 1528-1530.
- [9] 王卉, 阮义理. 大麦成熟胚培养及其影响因素 [J]. 大麦科学, 1993 (2): 17-19.
- [10] BARAMPURAM S, CHUNG B Y, LEE S S, et al. Development of an embryogenic callus induction method for centipede grass (*Eremochloa ophiurosdes* Munro) and subsequent plant regeneration [J]. *In vitro Cell & Developmental Biology*, 2009, 45 (2): 155-161.
- [11] 潘向群, 梁海曼. 大麦成熟胚培养的培养基研究 [J]. 作物学报, 1991, 17 (4): 267-272.
- [12] 付凤玲, 冯质雷, 渠柏艳, 等. 玉米未成熟胚胚性愈伤组织诱导率与内源激素含量的关系 [J]. 核农学报, 2006, 20 (1): 10-14.
- [13] 张智奇. 蔗糖浓度、激素配比及不同培养方式对水稻胚性愈伤组织的诱导效应 [J]. 上海农业学报, 1991, 7 (3): 19-22.
- [14] 李雪梅, 刘熔山. 小麦幼穗胚性愈伤组织诱导及分化过程中内源激素的作用 [J]. 植物生理学通讯, 1994, 30 (4): 255-260.
- [15] REN J P, WANG X G, YIN J. Dicamba and sugar effects on callus induction and plant regeneration from mature embryo culture of wheat [J]. *Agricultural Sciences in China*, 2010, 9 (1): 31-37.
- [16] 罗琼, 胡延玉, 周开达. 内源激素对水稻成熟胚培养力的影响 [J]. 中国水稻科学, 1998, 12 (4): 238-240.
- [17] 邵宏波, 梁海曼. 种壳对大麦种子生理和成熟胚培养的影响及机理探讨 II [J]. 西北植物学报, 2002, 22 (3): 617-624.
- [18] 魏日凤. 蔗糖与麦芽糖质量浓度及添加成分对水稻成熟胚培养的效应 [J]. 福建农林大学学报: 自然科学版, 2006, 35 (6): 565-568.