

## 芸薹属蔬菜再生体系研究进展

柏艾梅<sup>#</sup> 林海燕<sup>#</sup> 黄英娟 王军伟 毛舒香 徐浩然 邹苗 黄科\* 吴秋云\*  
(湖南农业大学园艺园林学院, 长沙 410128)

**摘要** 再生体系的建立对芸薹属蔬菜重要功能基因验证和重要遗传材料保存扩繁等具有重要意义。该文综述了影响芸薹属蔬菜(白菜类、甘蓝类和芥菜类)再生体系的主要因素: 基因型、植物激素(NAA、BAP等)和外源添加物(硝酸银、抗坏血酸等), 比较了不同影响因素对芸薹属蔬菜再生体系建立的影响差异。基因型方面表现为白菜类(AA基因组)较甘蓝类(CC基因组)和芥菜类(BB基因组)难再生。植物激素方面表现为适于芸薹属蔬菜预培养的激素一般为2,4-D和NAA+6-BA, 分化培养一般为NAA+6-BA, 且即使为同一类蔬菜, 不同品种所需的激素浓度也不一致。外源添加物方面, 硝酸银为白菜类蔬菜再生体系所必需, 其也能促进甘蓝类和芥菜类的不定芽分化, 但并不为两者所必需; 低浓度的抗坏血酸可促进白菜类不定芽的分化和甘蓝类愈伤组织的形成。芸薹属蔬菜再生体系诱导的分子机理研究需进一步加强, 同时不同芸薹属蔬菜再生条件差异产生的机理也需要深入研究。

**关键词** 芸薹属蔬菜; 离体再生; 基因型; 植物激素; 外源添加物

## Research Progress in Regeneration of Brassica Vegetables

Bai Aimei<sup>#</sup>, Lin Haiyan<sup>#</sup>, Huang Yingjuan, Wang Junwei, Mao Shuxiang,  
Xu Haoran, Zou Miao, Huang Ke\*, Wu Qiuyun\*

(College of Horticulture & Landscape, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China)

**Abstract** The establishment of regeneration system is important for functional gene analysis, preservation and propagation of important genetic material in Brassica vegetables. This paper summarized the factors that affected regeneration system of Brassica vegetables, such as genotype, phytohormone, AgNO<sub>3</sub> and ascorbic acid, analyzed the differences of regeneration character under different factors among Brassica vegetables. In terms of genotype, *Brassica rapa* were more difficult regenerate than *Brassica oleracea* and *Brassica juncea*. For phytohormone, 2,4-D and NAA+6-BA were suitable for Brassica vegetables preculture and NAA+6-BA was fit for differentiation culture generally. Especially, different cultivar should be at different levels of hormones even at the same classification relationship. AgNO<sub>3</sub> was the necessary exogenous additive for *Brassica rapa* and also could promote adventitious bud differentiation of *Brassica oleracea* and *Brassica juncea*. Low concentration of ascorbic acid could promote the adventitious buds differentiation of *Brassica rapa* and the callus formation of *Brassica*

收稿日期: 2018-01-20 接受日期: 2018-03-12

国家自然科学基金(批准号: 31772325)、湖南省自然科学基金(批准号: 2017JJ2118)、湖南省教育厅重点项目(批准号: 16A093)和湖南省重点研发计划(批准号: 2016NK2185、2016WK2007)资助的课题

<sup>#</sup>共同第一作者

\*共同通讯作者。Tel: 13507402011, Email: qiuyunhk@hotmail.com; Tel: 13973136794, Email: huangkeqy@hotmail.com

Received: January 20, 2018 Accepted: March 12, 2018

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No.31772325), the Natural Science Foundation of Hunan Province (Grant No.2017JJ2118), the Education Apartment Key Project of Hunan Province (Grant No.16A093) and the Key Research and Development Plan of Hunan Province (Grant No.2016NK2185, 2016WK2007)

<sup>#</sup>This authors were contributed equally to this work

\*Corresponding authors. Tel: +86-13507402011, Email: qiuyunhk@hotmail.com; Tel: +86-13973136794, Email: huangkeqy@hotmail.com

网络出版时间: 2018-05-31 16:23:41 URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20180531.1623.004.html>

*oleracea*. For future research, the molecular mechanism of induced regeneration and the difference of regeneration system in different kinds of Brassica vegetables should be emphasized.

**Keywords** Brassica vegetables; regeneration; genotype; phytohormone; exogenous additive

芸薹属(*Brassica*)蔬菜是我国重要蔬菜之一,因其营养丰富并且品种多样,所以广受消费者喜爱。在芸薹属蔬菜中,甘蓝类(CC基因组)、白菜类(AA基因组)和芥菜类(BB基因组)是最常见的类型,也是众多蔬菜研究者研究的对象。目前,采用常规育种方法培育这三类蔬菜的优质品种,依然存在极大的局限性。随着组织培养和DNA重组技术的发展,基因工程技术成为定向改良品种的常用方法,而再生体系的建立是基因工程技术成功的基础和前提。同时,高频再生体系的建立也可以快速获得更大的繁殖材料,用于植物生产和高价值植物育种材料的保存和繁殖<sup>[1]</sup>。在目前的再生体系研究中,最重要的是植株的再生诱导,涉及到基因型、激素组合、激素的浓度配比、外植体类型、硝酸银浓度和抗坏血酸浓度等几大热点,前人在此方面做过许多相关研究,本文从基因型、激素和外源添加物方面对白菜类、甘蓝类和芥菜类蔬菜再生体系建立的影响进行综述,为进一步优化芸薹属蔬菜的再生体系提供参考。

## 1 基因型对芸薹属蔬菜再生体系建立的影响

基因型对芸薹属蔬菜植株的再生频率有极大的影响。早在1982年, Dietert等<sup>[2]</sup>就认为基因型是影响植株再生的一大重要因素。Murata等<sup>[3]</sup>指出, C基因是调控芽形成的基因,因白菜类蔬菜是AA基因型,缺乏C基因,相比CC型的甘蓝类蔬菜,其植株再生能力较低。张凤兰等<sup>[4]</sup>比较了123个大白菜基因型和20个小白菜基因型再生体系的差异,研究结果表明,有8个大白菜基因型不能生成不定芽,其余的大白菜植株再生频率为2.5%~95.0%不等,有5个小白菜品种没有不定芽的生成,其余品种的再生频率为6.7%~97.5%。14种北方大白菜的再生频率变化很大,为9.8%~68.2%,且很多品种都很难再生,或者再生能力差<sup>[5]</sup>。基因型对芥菜类蔬菜的离体培养影响很大,早在1986年, Fazekas等<sup>[6]</sup>的研究发现,所有的印度结实品系的芽再生均表现良好,而中国芥菜、欧洲芥和顺子酸芥等的芽再生能力均表现出黄化,且再生率也比前者低,只有0~12%。孔娟<sup>[7]</sup>也

发现,芥菜类蔬菜的再生能力受基因型的控制表现出很大的差别,在相同的培养基中,有些基因型的外植体易于再生,而有些基因型的外植体相反。这与白菜类蔬菜类似,其原因可能是芥菜类蔬菜也缺乏CC型基因型,植株的再生能力低。而甘蓝类蔬菜则情况不同,不同芥蓝品种的再生频率分别可以达到74.24%、57.38%和52.20%<sup>[8]</sup>,不同的青花菜品种的再生频率可达到96.9%和97.8%<sup>[9]</sup>,甘蓝的最低分化率也能达到82%,其再生能力明显优于白菜类蔬菜<sup>[10]</sup>。基因型对白菜类蔬菜植株再生能力的影响不能通过改变激素和添加硝酸银等外源物质而发生,这也是白菜类蔬菜再生体系建立的关键因素<sup>[5,11]</sup>。

同一类芸薹属蔬菜中,由于不同品种之间的基因型差异,即使在同一条件下,植株的再生频率也不同。余小林等<sup>[12]</sup>研究了8个不同白菜品种的再生体系,结果表明,青梗类白菜品种的再生频率大于白梗类白菜品种,因此在建立白菜类蔬菜再生体系时,应首先考虑青梗类白菜品种。陈敏敏等<sup>[11]</sup>也在不结球白菜的离体培养中发现,暑绿、苏州青和亮白叶三个品种的再生频率有一定的区别。甘蓝类和芥菜类蔬菜有同样的效果,张丽丽等<sup>[13]</sup>比较了3个青花菜品种的再生频率,发现三个品种的植株再生能力表现均不一样。李彤等<sup>[14]</sup>发现,激素配方为0.1 mg/L NAA+3.0 mg/L 6-BA的情况下,圆大头菜、永胜大儿菜和容渝香芥菜的分化率分别为72%、84%和76%。

## 2 植物激素对芸薹属蔬菜再生体系建立的影响

### 2.1 植物激素组合对芸薹属蔬菜再生体系建立的影响

不同种类植物激素的添加对外植体不定芽的产生具有一定的影响。在植物组织培养中,生长素和细胞分裂素等植物激素扮演了不可或缺的角色,单独使用的条件下再生能力均较弱。在孙保娟<sup>[1]</sup>的研究中发现,当培养基中只有NAA时,不能产生不定芽,当培养基中只添加BAP时,虽然可以产生不定

芽, 但是愈伤组织诱导率只有17%, 不定芽的产生对细胞分裂素的需要是必需的, 而生长素并非必需, 但在添加生长素后可以极大地提高诱导率, 所以生长素和细胞分裂素必须配合使用, 才能使效率达到最高。

针对白菜类蔬菜再生体系的研究中, 侯喜林等<sup>[15]</sup>在不结球白菜不定芽培养基中添加6-BA、ZT和KT, 研究表明, 6-BA的效果最好, KT次之, ZT的效果欠佳; 同时发现, 低浓度的2,4-D和高浓度的KT可以促进不定芽的产生, 且分化率达50%。但孙敏红等<sup>[16]</sup>在四倍体不结球白菜的研究中发现, TDZ和NAA组合使用比与6-BA和KT好, 且TDZ的用量也少。马茜等<sup>[17]</sup>发现, 加入2,4-D的培养基较对照组的再生频率提高了15.2%, 且长出的芽数量多, 质量好。蔡小宁等<sup>[18]</sup>的研究发现, 2,4-D可以替代NAA。张初贤等<sup>[19]</sup>发现, 2,4-D对不定芽的产生具有很强的启动作用。TDZ可以作为细胞分裂素促进不定芽的产生<sup>[5]</sup>, 还可以替代BA发挥作用, 且效果更好, 但TDZ的浓度并非越高越好, 当浓度达到一定高度时, 会对植株有毒害作用, 导致褐化及玻璃化等现象<sup>[20]</sup>。

在针对甘蓝类蔬菜再生体系的研究中, 黄俊轩等<sup>[21]</sup>研究的花椰菜离体再生中发现, 不论是产生的芽数还是再生率, BA都明显好于KT, 而且利用KT所诱导的芽大部分都为畸形, 容易产生玻璃化。廖宣峰等<sup>[22]</sup>对花椰菜的研究中发现, TDZ和NAA组合使用分化频率可达88.9%。张宁等<sup>[23]</sup>研究发现, 花椰菜在同浓度的6-BA下, IAA比NAA的效果好, NAA有利于生根, 可在生根培养基中添加NAA, 以促进生根。范爱丽等<sup>[24]</sup>发现, 直接使用TDZ诱导芥蓝子叶, 不定芽的再生频率达到了89.06%。吕爽等<sup>[25]</sup>研究发现, 只有当2,4-D、6-BA和NAA配合使用, 才能使甘蓝愈伤组织达到好的效果, 单独添加2,4-D或2,4-D和6-BA组合使用, 均不能得到较理想的愈伤组织。虽然2,4-D会使甘蓝产生愈伤组织, 但该类愈伤组织并不适于不定芽的产生<sup>[26-27]</sup>。李艳红等<sup>[28]</sup>在研究的青花菜再生体系中发现, 在BA的MS培养基上添加NAA效果要较IBA好。

在针对芥菜类蔬菜再生体系的研究中, 蒋波等<sup>[29]</sup>研究发现, 不含植物激素的培养基中, 芥菜的子叶只膨大, 并不分化, 且子叶会变黄; 在只含NAA的培养基中, 子叶的切口只长根, 分化率很低; 而只添加6-BA的培养基中, 子叶不经过愈伤组织直接生成芽

丛, 但分化率低芽丛少。李彤<sup>[14]</sup>的研究结果表明, 不加植物激素或只加NAA或6-BA的培养基中, 芥菜子叶并无愈伤组织的形成, 而加入NAA和6-BA的培养基中, 均有较好的愈伤组织形成。还有研究表明, 6-BA对茎瘤芥再生能力的影响最大, 其次为2,4-D, 影响最小的为NAA<sup>[30-31]</sup>。徐春霞等<sup>[32]</sup>研究发现, 2,4-D是茎瘤芥愈伤组织分化所必需的, 且当NAA和2,4-D组合使用时效果最好。雷建军等<sup>[33]</sup>也发现, 添加2,4-D较不添加的培养基中, 更容易产生愈伤组织, 但高浓度的2,4-D会抑制不定芽的生成。但是, 张艳梅等<sup>[34]</sup>的研究发现, 在对愈伤组织的诱导上, NAA的效果比2,4-D好。朱婷等<sup>[35]</sup>的研究发现, 在培养基中同时添加BA和2,4-D时, 榨菜嫩叶为外植体的愈伤组织分化率极低; 当BA和NAA或IAA组合使用时, 愈伤组织的分化率也很低; 但单独使用BA时, 愈伤组织的分化率达到100%。

## 2.2 植物激素浓度对再生体系的影响

外植体的再生受培养基中不同植物激素浓度配比的影响。高红亮等<sup>[36]</sup>在对不结球白菜的研究中发现, 在一定浓度范围内, 不定芽的分化率随着NAA浓度的增加而呈上升趋势, 在0.5 mg/L时达到最高。也有研究表明, 当NAA浓度超过1.0 mg/L时, 不定芽的诱导率下降; 当6-BA的浓度超过4 mg/L时, 不定芽的诱导率下降<sup>[37]</sup>。菜心再生体系研究结果表明, 当NAA浓度一定时, 随着6-BA浓度的增大, 不定芽的分化率先增大后减小, 高浓度的NAA和6-BA都会抑制不定芽的分化, 且得出最佳的浓度组合为4 mg/L 6-BA+0.45 mg/L NAA<sup>[38]</sup>。吕艳艳等<sup>[39]</sup>发现, 不结球白菜的最适激素浓度配比为0.1 mg/L NAA+5.0 mg/L 6-BA。余小林等<sup>[40]</sup>发现, 菜心子叶和子叶柄不定芽诱导的最适浓度配比为2 mg/L BAP和0.75~1.00 mg/L NAA。在刘任源等<sup>[41]</sup>的研究中发现, 大白菜的最适植物激素浓度为5 mg/L 6-BA和0.5 mg/L NAA。

周林等<sup>[42]</sup>的研究表明, 不同浓度的6-BA对芥蓝愈伤组织的再生率有显著影响, 而NAA对此并无太大的影响。也有研究发现, 较高浓度的NAA有利于芥蓝的再生, 而且NAA和BAP的浓度对芥蓝的再生有很大的影响, 在0.03 mg/L NAA+2.00 mg/L BAP组合浓度下, 最有利于芥蓝的再生<sup>[43]</sup>。刘洁等<sup>[44]</sup>的实验中发现, 甘蓝在6-BA浓度为3 mg/L时, 外植体的芽再生率并无明显变化。张高翔等<sup>[10]</sup>发现, 2.00 mg/L



6-BA+0.1 mg/L NAA和2.00 mg/L 6-BA+0.04 mg/L NAA适于春甘蓝不定芽的再生。朱惠霞等<sup>[45]</sup>发现, 1.0 mg/L 6-BA+0.5 mg/L IAA最适于花椰菜子叶和下胚轴的诱导分化。刘煜等<sup>[46]</sup>的研究发现, 珠绿和青秀两个西兰花品种在3.0 mg/L 6-BA+0.2 mg/L NAA条件下不定芽的分化率最大。吕金浮等<sup>[47]</sup>在青花菜再生体系的研究中发现, 当6-BA/IBA为4.0/0.3 mg/L时, 下胚轴为外植体的芽再生率为96.67%。张丽丽等<sup>[13]</sup>的研究发现, 0.1 mg/L NAA+6.0 mg/L 6-BA最适于04J-20青花菜的外植体不定芽再生, 其再生频率为100%。盛小光等<sup>[9]</sup>的研究表明, NAA为0.02 mg/L、6-BA为1.00 mg/L时, 其中的两个青花菜品种的不定芽再生频率均达90%以上。黄科等<sup>[48]</sup>的研究表明, 新绿品种青花菜NAA为0.02 mg/L、6-BA为4.0 mg/L时, 不定芽的再生频率最高。

沈进娟等<sup>[49]</sup>发现, 当NAA的浓度达到0.2 mg/L时, 茎瘤芥的带柄子叶的分化率达到最大, 当NAA的浓度达到0.4 mg/L时, 下胚轴和子叶的再生能力最好。有研究发现, 较高浓度的6-BA与较低浓度的NAA有利于榨菜外植体不定芽的形成<sup>[34]</sup>。李彤等<sup>[50]</sup>的研究发现, 当0.1 mg/L NAA+3.0 mg/L 6-BA时最适合芥菜的离体培养, 而且当只加0.1 mg/L NAA时可以诱导生根。余小林等<sup>[51]</sup>在研究芥菜离体培养过程中发现, 适合外植体再生的NAA浓度为0.5~1.0 mg/L, 6-BA的浓度为2.0~2.5 mg/L。同时, 有研究发现, 在芥菜的离体培养中, 低比值的NAA/6-BA更适宜愈伤组织的形成和不定芽的分化<sup>[29,52]</sup>。原因可能为高浓度的生长素会促使不定根的产生, 而抑制不定芽的分化。陈丽萍等<sup>[53]</sup>在对榨菜再生体系的研究中发现, 当浓度组合为0.5 mg/L NAA+3.0 mg/L BA时, 带叶柄的子叶可以直接生成不定芽, 且芽的诱导率高达100%。车丽玲等<sup>[54]</sup>在对印度芥菜再生体系的研究中发现, NAA的浓度为0.5 mg/L、6-BA的浓度为2.0 mg/L时, 最适宜于外植体愈伤组织的形成, 当NAA的浓度为0.02 mg/L、6-BA的浓度为0.5 mg/L时最适于不定芽的再生。朱学栋等<sup>[55]</sup>研究茎瘤芥时发现, 当浓度组合为0.2 mg/L NAA+1.0 mg/L 6-BA时愈伤组织分化率和不定芽的量均最大。

不同的基因型对植株不定芽产生所需的激素浓度配比也有影响。刘任源等<sup>[56]</sup>以大白菜品种(北京80号、四季菜心王、油青矮脚45天)为材料进行试验, 结果表明, 北京80号在再生频率最高时的激

素浓度配比为5 mg/L 6-BA+0.5 mg/L NAA, 而其他两个品种最适的激素浓度为5 mg/L 6-BA+1 mg/L NAA。

### 3 外源添加物硝酸银和抗坏血酸对芸薹属蔬菜再生体系的影响

植物组织培养过程中, 外植体在伤口部位会产生乙烯等物质, 该物质积累过多会影响外植体的再生以及不定芽的健康生长, 因此需要在培养基中添加该类物质的抑制剂, 以减少该类物质对外植体的毒害。硝酸银是常用的乙烯抑制剂。由于白菜类蔬菜再生能力较低, 硝酸银在组织培养和再生体系研究中已被广泛地研究。早在1989年, Chi和Pua<sup>[57]</sup>就提出, 添加硝酸银能促进AA基因作物的再生。而且, 添加硝酸银可以使大白菜离体再生频率提高43.5%<sup>[58]</sup>, 也可以提高薹菜的再生频率<sup>[59]</sup>。卞莹莹等<sup>[60]</sup>的研究发现, 添加5 mg/L的硝酸银, 可以显著提高不接球白菜子叶的芽诱导率, 当硝酸银的浓度达到7 mg/L时, 芽的诱导受到抑制。孔娟等<sup>[7]</sup>在芥菜的研究中发现, 添加5.0~30.0 mg/L的硝酸银可以极大地提高不定芽的再生率, 且当硝酸银浓度为15.0 mg/L时, 效果最为显著; 但当硝酸银浓度高于15.0 mg/L时, 不定芽会有白化现象产生。陈石头等<sup>[61]</sup>也发现, 相比较未加硝酸银的培养基, 添加硝酸银的培养基榨菜外植体分化率显著提高, 玻璃化现象也得到了改善, 高浓度下分化会受抑制。1987年, Mckeron和Yang<sup>[62]</sup>提出银离子是重金属离子, 浓度过高同样会对外植体有毒害作用。虽然甘蓝类蔬菜为CC基因型, 不定芽较易产生, 而且有研究表明, 硝酸银对芥蓝不定芽的产生并无明显作用<sup>[48]</sup>, 但李艳红<sup>[28]</sup>和符庆功<sup>[63]</sup>等的研究表明, 添加硝酸银同样有利于拥有CC基因型的青花菜不定芽的产生。硝酸银的作用大小主要与植物基因型有关, 基因型决定是否添加硝酸银以及使用浓度。

在白菜类蔬菜的再生体系中, 抗坏血酸也是诸多研究者研究的因素之一。高红亮等<sup>[64]</sup>在研究不结球白菜再生体系中发现, 添加抗坏血酸可以提高不定芽的分化率。但是, 随着抗坏血酸含量的增加, 不定芽的分化会受到抑制。甘蓝类蔬菜中也有人研究发现, 低浓度的抗坏血酸会促进西兰花愈伤组织的生长, 而低浓度会有一定的抑制作用<sup>[64]</sup>。这可能是由于抗坏血酸为抗氧化物质, 可以清除外植体产生

表1 芸薹属蔬菜再生体系中影响因素比较表

Table 1 The comparison of influential factor in Brassica vegetables regeneration system

类型 Types	基因型 Genotypes	植物激素种类 Plant hormones types	植物激素浓度 Plant hormones concentration	外源添加物 Exogenous additives
<i>Brassica rapa</i>	AA: regenerate difficultly	Preculture: 2,4-D; Differentiation culture: NAA+6-BA/TDZ	NAA: (0.5±0.05) mg/L; 6-BA: (4±1) mg/L; NAA/6-BA: 0.5/5; TDZ/NAA: 0.7/0.5	AgNO <sub>3</sub> : necessary; Ascorbic acid: low concentration promotes differentiation of adventitious bud
<i>Brassica oleracea</i>	CC: regenerate easily	Preculture: 2,4-D; Differentiation culture: NAA+6-BA/BAP and TDZ	NAA: 0.02-2.00 mg/L; 6-BA: (4±1) mg/L; NAA/6-BA: depending on species	AgNO <sub>3</sub> : increasing differentiation rate of adventitious bud but not required; Ascorbic acid: low concentration promotes multiplication of callus
<i>Brassica juncea</i> Coss	BB: easy to form callus but difficult to form adventitious bud	Preculture: NAA+ 6-BA/2,4-D and 2,4-D; Differentiation culture: NAA+6-BA	Preculture: NAA, 0.5-1.0 mg/L; 6-BA: 2.0-3.0 mg/L; Differentiation culture: NAA, 0.01-0.50 mg/L; 6-BA: 0.5 mg/L; NAA/6-BA: low ratio	AgNO <sub>3</sub> : significantly increasing bud differentiation rate but not required; Ascorbic acid: no reports

的活性氧,也可能与硝酸银发挥同样的作用,抑制乙烯的活性,减少乙烯的产生和积累,但具体原因还不清楚。在芥菜类的再生体系研究中,还未有添加抗坏血酸的报道。

#### 4 讨论

在十字花科蔬菜中,不论是白菜类蔬菜还是甘蓝类蔬菜,影响其再生体系的因素都是相互作用的,而基因型是决定其他因素的关键。另外,通过选择再生能力较好的外植体类型、合适的植物生长调节剂的种类、浓度的配比以及添加一些因子以提高不定芽的诱导率。但是,在白菜类蔬菜和甘蓝类蔬菜的再生体系之间存在很大的区别,白菜类蔬菜由于缺乏CC基因,再生能力差,有许多品种即使放置在最适的条件下,依然很难再生产生不定芽。基因型对芥菜类蔬菜再生体系影响较大,印度芥菜品种的再生能力较好,在适宜的条件下,不定芽的分化率达到93.33%<sup>[54]</sup>。但有一些品种,很难由愈伤组织分化形成不定芽<sup>[53]</sup>。相对而言,甘蓝类蔬菜再生产生不定芽的能力要强很多,但随着CRISPR-Cas9基因编辑系统的快速发展,可以对此进行定向的基因编辑,为白菜类的再生体系带来突破<sup>[38]</sup>。在激素种类的使用上,白菜类、甘蓝类和芥菜类蔬菜均可添加2,4-D进行外植体预培养,分化培养基中所加的激素种类大致相似,最为常用的均为NAA和6-BA,在白菜类蔬菜中,NAA和TDZ组合的芽诱导率较NAA和6-BA组合高且能加快芽点出现的时间,但是随着TDZ浓

度的增大,畸形芽增多。除此之外,在NAA和6-BA的组合中还可以添加TDZ以促进不定芽的再生<sup>[65]</sup>。而在芥菜类蔬菜中,当外植体为嫩叶时,只在培养基中添加BA最有利于愈伤组织的形成<sup>[35]</sup>。在激素浓度上,生长素和细胞分裂素的浓度过高都会引起不定芽分化率下降。在白菜类蔬菜中,最适的NAA浓度为0.5 mg/L左右,最适的6-BA浓度为4 mg/L左右,同时也有研究者提出,NAA:6-BA的比值为0.5:5.0时再生频率为最大<sup>[59]</sup>。但是,在使用不同的激素种类时,浓度的比值不一样,TDZ:NAA的浓度比为0.7:0.5<sup>[17]</sup>。在甘蓝类蔬菜中,NAA所需的最适浓度相对较小,仅在0.02~0.20 mg/L,6-BA的最适浓度与白菜类蔬菜相比并无太大的区别,NAA和6-BA的比值在不同的品种上有一定的区别。芥菜类蔬菜中,愈伤组织分化的最适NAA浓度为0.5~1.0 mg/L,不定芽分化的最适NAA浓度为0.01~0.50 mg/L,愈伤组织分化的最适6-BA浓度为2.0~3.0 mg/L,不定芽分化的最适6-BA浓度为0.5 mg/L。有研究发现,给予适合的6-BA浓度可以使芥菜外植体直接生成不定芽<sup>[14,29]</sup>,而甘蓝类蔬菜的再生体系也出现过相似的情况<sup>[66]</sup>,该类情况极大的提高了效率,但目前其中的机理尚不清楚,还需要进一步的研究。在硝酸银和抗坏血酸的使用上,硝酸银为白菜类蔬菜再生体系所必需的<sup>[67]</sup>;抗坏血酸可以促进白菜类蔬菜不定芽的诱导,而在甘蓝类和芥菜类蔬菜中,虽然有运用且可以提高不定芽诱导率,但是效果并无白菜类蔬菜明显。

## 参考文献 (References)

- 1 孙保娟. 白菜花组织再生体系的建立及离体条件下阶段发育转变的研究. 浙江大学(博士论文)(Sun Baojuan. Shoots regeneration from different floral tissues and their transition of stage development *in vitro* *Brassica campestris ssp. chinensis*. Zhejiang University), 2005.
- 2 Dietert MF, Barron SA, Yoder OC. Effects of genotype on *in vitro* culture in the genus *Brassica*. *Plant Sci Lett* 1982; 26(2/3): 233-40.
- 3 Murata M, Orton TJ. Callus initiation and regeneration capacities in *Brassica* species. *Plant Cell Tiss Org* 1987; 11(2): 111-23.
- 4 张凤兰, 高田义人, 徐家炳. 不同基因型对白菜子叶培养不定芽再生的影响. 华北农学报(Zhang Fenglan, Takahata Yoshihito, Xu Jiabing. Effects of genotypes on shoot regeneration from cotyledonary explants of Chinese cabbage. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*) 2002; 17(3): 64-9.
- 5 王洋, 崔继哲, 李翠玲. 大白菜高频再生体系的建立及策略. 园艺学报(Wang Yang, Cui Jizhe, Li Cuiling. Strategies in establishing effective regeneration system of Chinese cabbage. *Acta Horticulturae Sinica*) 2005; 32(4): 701-3.
- 6 Fazekas GA, Sedmach PA, Palmer MV. Genetic and environmental effects on *in vitro* shoot regeneration from cotyledon explants of *brassica juncea*. *Plant Cell Tiss Org* 1986; 6(2): 177-80.
- 7 孔娟. 芥菜类蔬菜高频再生体系的建立及硝酸银的作用. 浙江大学(硕士论文)(Kong Juan. Establishment of high frequency regeneration system and the positive role of silver nitrate in *Brassica juncea* Coss. Zhejiang University), 2002.
- 8 唐君, 张蜀宁, 侯喜林, 王淑敏, 孙成振. 芥蓝高频离体再生体系的建立. 南京农业大学学报[Tang Jun, Zhang Shuning, Hou Xilin, Wang Shumin, Sun Chengzhen. Establishment of high-frequency *in vitro* regeneration system of Chinese kale (*Brassica alboglabra* Bailey). *Journal of Nanjing Agricultural University*] 2011; 34(2): 29-32.
- 9 盛小光, 顾宏辉, 虞慧芳, 王建升, 赵振卿. 青花菜DH系带柄子叶高频再生体系的建立. 中国蔬菜(Sheng Xiaoguang, Gu Honghui, Yu Huifang, Wang Jiansheng, Zhao Zhenqing. Establishment of high-frequency regeneration system from cotyledons with petiole in DH lines of broccoli. *China Vegetables*) 2012; 20: 44-8.
- 10 张高翔. 春甘蓝叶片离体培养及植株再生技术研究. 西北农林科技大学(硕士论文)[Zhang Gaoxiang. Culture *in vitro* and plantlet regeneration of leaves in spring cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata* L.). Northwest A&F University], 2009.
- 11 陈敏敏, 侯喜林. 不结球白菜离体培养再生体系的优化. 南京农业大学学报(Chen Minmin, Hou Xilin. Optimization of regeneration *in vitro* of non-heading Chinese cabbage. *Journal of Nanjing Agricultural University*) 2008; 31(1): 27-30.
- 12 余小林, 叶纨芝, 曹家树, 徐淑英. 白菜高效再生体系的建立及其不定芽发生的组织学观察. 实验生物学报(Yu Xiaolin, Ye Wanzhi, Cao Jiashu, Xu Shuying. Establishment of an efficient regeneration system for Chinese cabbage cultured *in vitro* and histological observation of shoot development. *Acta Biologiae Experimentalis Sinica*) 2004; 37(2): 151-56.
- 13 张丽丽, 张蜀宁, 吴震, 汤伟华, 杨学东. 青花菜高频离体再生体系的研究. 南京农业大学学报(Zang Lili, Zhang Shuning, Wu Zhen, Tang Weihua, Yang Xuedong. The high frequency of shoot regeneration in *Brassica oleracea* L. var. *italica* *in vitro*. *Journal of Nanjing Agricultural University*) 2008; 31(2): 41-4.
- 14 李彤. 芥菜(*Brassica juncea* Coss.)离体培养及形态发生机制的初步研究. 西南大学(硕士论文)[Li Tong. Culture *in vitro* of mustard (*Brassica juncea* Coss.) and primary studies on its morphogenesis mechanisms. Southwest University], 2008.
- 15 侯喜林, 曹寿椿. 不结球白菜子叶离体培养再生植株. 南京农业大学学报(Hou Xilin, Cao Shouchun. *In vitro* plant regeneration from cotyledon culture of non-heading Chinese cabbage. *Journal of Nanjing Agricultural University*) 1994; 17(3): 60-4.
- 16 孙敏红. 同源四倍体不结球白菜再生体系的研究. 南京农业大学(硕士论文)(Sun Minhong. Studies on regeneration system of autotetraploid non-heading Chinese cabbage. Nanjing Agricultural University), 2005.
- 17 马茜, 陈雪平, 罗双霞, 申书兴, 王彦华. 大白菜子叶高频再生体系的建立. 河北农业大学学报(Ma Qian, Chen Xueping, Luo Shuangxia, Shen Shuxing, Wang Yanhua. Establishment of high frequency regeneration system from cotyledon in Chinese cabbage. *Journal of Hebei Agricultural University*) 2009; 32(5): 36-9.
- 18 蔡小宁, 余建明, 朱卫民, 朱祯, 袁希汉. 影响大白菜离体再生及基因转化的因素研究. 江苏农业研究[Cai Xiaoning, She Jianming, Zhu Weimin, Zhu Zhen, Yuan Xihan. Factors on shoot regeneration and gene transformation of Chinese cabbage (*Brassica pekinensis*). *Jiangsu Agriculture Research*] 1999; 13(2): 110-4.
- 19 张初贤, 余建明, 蔡小宁, 朱卫民. 2,4-D对小白菜和大白菜子叶诱导不定芽的影响. 江苏农业研究(Zhang Chuxian, She Jianming, Cai Xiaoning, Zhu Weimin. *Jiansu Agricultural Research*) 1999; 20(4): 75-6.
- 20 樊明琴. 结球白菜高效离体不定芽再生体系的研究(硕士论文). 南京农业大学(Fan mingqin. Studies on high efficient *in vitro* shoot regeneration system from explants of Chinese cabbage. *Journal of Nanjing Agricultural University*), 2004.
- 21 黄俊轩, 刘艳军, 李建科, 武春霞, 杨静慧, 徐慧洁. 以花椰菜花球为外植体的离体再生体系的建立. 北方园艺(Huang Junxuan, Liu Yanjun, Li Jianke, Wu Chunxia, Yang Jinghui, Xu Huijie. Regeneration of cauliflower by *in vitro* flower bulb. *Northern Horticulture*) 2014; 5: 88-90.
- 22 廖宣峰, 吕立堂, 赵德刚. 花椰菜高效再生体系建立及农杆菌介导的遗传转化研究. 山地农业生物学报(Liao Xuanfeng, Lü Litang, Zhao Degang. Establishment of efficient regeneration and agrobacterium-mediated genetic transformation in cauliflowers. *Journal of Mountain Agriculture & Biology*) 2013; 32(3): 189-93.
- 23 张宁. 农杆菌介导的花椰菜遗传转化体系构建与应用研究. 福建农林大学(硕士论文)(Zhang Ning. Establishment of regeneration and agrobacterium mediated genetic transformation system of cauliflower and its application. Fujian Agriculture and Forestry University), 2009.
- 24 范爱丽, 黄志鹏, 张曼, 刘文君, 周建辉, 黄凤婵. 芥蓝离体再生体系的优化. 湖北农业科学(Fan Aili, Huang Zhipeng, Zhang Man, Liu Wenjun, Zhou Jianhui, Huang Fengchan. Optimum of *in vitro* regeneration system of Chinese kale. *Hubei Agriculture Sciences*) 2013; 52(9): 2171-3.
- 25 吕爽, 王超. 结球甘蓝离体培养的研究进展. 北方园艺(Lü Shuang, Wang Chao. The research progress of cabbage isolated



- culture. Northern Horticulture) 2004; 3: 6-7.
- 26 赵军良, 李昌华, 李小川, 赵美华, 任芝仙. 山西大学学报(自然科学版) [Zhao Junliang, Li Changhua, Li Xiaochuan, Zhao Meihua, Ren Zhixian. Plant regeneration and controlment of glassy shoot in tissue culture of cabbage. Journal of Shanxi University (Natural Science Edition)] 1995; 18(1): 52-8.
- 27 李光远, 王宜娜, 王凤华. 不同激素对结球甘蓝下胚轴离体培养的影响. 安徽农学通报 [Li Guangyuan, Wang Yina, Wang Fenghua. Influence of hormone on *in vitro* culture of under hypocotyls of cabbage (*Brassica oleracea* L.). Anhui Agricultural Science Bulletin] 2007; 13(15): 59-60.
- 28 李艳红, 宋秀珍, 庄木. 青花菜组织培养再生体系的研究. 首都师范大学学报(自然科学版) [Li Yanhong, Song Xiuzhen, Zhuang Mu. Studies on the regeneration system of broccoli (*Brassica oleracea* Var. *italica* Plenck.). Journal of Capital Normal University (Natural Science Edition)] 2001; 22(3): 48-53.
- 29 蒋波. 芥菜离体培养芽再生过程中的生理生化变化研究. 西南大学(硕士论文) [Jiang Bo. Studies on changes of physiology and biochemistry in the course of shoot regeneration of mustard. Southwest University], 2010.
- 30 孙全, 朱小燕, 梁婷, 刘毅, 岳显可, 何晓红, 等. 应用正交试验优选茎瘤芥子叶组培诱导培养基. 安徽农业科学 (Sun Quan, Zhu Xiaoyan, Lian Ting, Liu Yi, Yue Xianke, He Xiaohong, et al. The optimization of the optimum tissue culture medium in stem lump mustard cotyledon by using orthonogal design. Journal of Anhui Agriculture Sciences) 2011; 39(34): 20961-1020.
- 31 梁婷. 茎瘤芥高效再生体系与遗传转化体系研究. 成都中医药大学(硕士论文) [Lian Ting. Study on the efficient regeneration system and the genetic transformation system of stem tumor mustard. Chengdu University of TCM], 2012.
- 32 徐春霞. 茎用芥菜不同再生体系的建立及遗传稳定性分析. 浙江大学(硕士论文) [Xu Chunxia. Different methods of tuber mustard regeneration and its genetic stability analysis. Zhejiang University], 2005.
- 33 雷建军, 陈世儒, 郭余龙, 黄炬辉. 茎用芥菜叶片原生质体培养及植株再生. 植物学报 [Lei Jianjun, Chen Shiru, Guo Yulong, Huang Juhui. Development of plantlets from leaf protoplast culture in *Brassica juncea* var. *tastai*. Acta Botanica Sinica) 1991; 33(2): 91-7.
- 34 张艳梅, 于锡宏, 蒋欣梅, 卢志权, 丛超. 榨菜下胚轴离体培养植株再生体系的建立. 湖北农业科学 (Zhang Yanmei, Yu Xihong, Jiang Xinmei, Lu Zhiquan, Cong Chao. Establishment of the regeneration system for *in vitro* hypocotyl culture of *Brassica juncea* var. *tumida*. Hubei Agricultural Sciences) 2012; 51(16): 3628-31.
- 35 朱婷, 陈晓露, 师伟, 姜长阳. 榨菜嫩叶高效分化愈伤组织的诱导及无性系的建立. 哈尔滨师范大学自然科学学报 (Zhu Ting, Chen Xiaolu, Shi Wei, Jiang Changyang. A high efficient callus induction and establishment of regeneration clone of *Brassica juncea* var. *Tsatsai*. Natural Sciences Journal of Harbin Normal University) 2007; 23(1): 100-4.
- 36 高红亮, 李英, 宋玉萍, 高素燕, 王建军. 不结球白菜离体培养与植株再生体系研究. 西北植物学报 [Gao Hongliang, Li Ying, Song Yuping, Gao Suyan, Wang Jianjun. *In vitro* culture and regeneration system of non-heading Chinese cabbage (*Brassica campestris* ssp. *chinensis* Makino). Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica] 2008; 28(5): 963-8.
- 37 吕星光, 李敏, 刘维信, 刘倩倩. ‘紫罗兰’白菜叶片再生体系的建立. 北方园艺 (Lü Xingguang, Li Min, Liu Weixin, Liu Qianqian. Establishment of regeneration system from the leaves of Chinese non-heading cabbage ‘Horti-violet’. Northern Horticulture) 2015; 7: 103-6.
- 38 吴栋雄. 白菜TCP基因家族的鉴定及利用CRISPR-Cas9系统进行编辑的初步探索. 福建农林大学(硕士论文) [Wu Dongxiong. Identification of TCP gene family and the initial establishment of CRISPR-Cas9 gene editing system in *Brassica Rapa chinensis*. Fujian Agriculture and Forestry University], 2017.
- 39 吕艳艳, 王桂萍, 沈振国, 夏妍. 不结球白菜亮白叶再生体系的优化. 中国农学通报 (Lü Yanyan, Wang Guiping, Shen Zhenguo, Xia Yan. Optimization of regeneration system *in vitro* of non-heading Chinese cabbage. Chinese Agricultural Science Bulletin) 2010; 26(23): 93-6.
- 40 余小林, 曹家树, 徐淑英. 改良菜心离体培养植株再生体系的研究. 实验生物学报 (Yu Xiaolin, Cao Jiashu, Xu Shuying. Reclamation of the plant regeneration efficiency of *Brassica campestris* subsp. *Chinensis* var. *Parachinensis*. Acta Biologica Experimentalis Sinica) 2001; 34(2): 157-61.
- 41 刘任源, 于拴仓, 魏佑营, 张凤兰, 余阳俊, 赵岫云, 等. 白菜类作物子叶高频再生体系的建立. 西北农业学报 (Liu Renyuan, Yu Shuancang, Wei Youying, Zhang Fenglan, Yu Yanjun, Zhao Xiuyun, et al. Establishment of high frequency regeneration system from cotyledon in *Brassica rapa* L. Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica) 2012; 21(6): 118-23.
- 42 周林, 曾国平, 章崇玲, 邓智泉. 芥蓝的组织培养研究. 长江蔬菜 [Zhou Lin, Zeng Guoping, Zhang Chongling, Deng Zhiquan. Study on tissue culture of Chinese kale (*Brassica alboblabra* Bailey). Journal of Changjiang Vegetables] 2006; 8: 45-6.
- 43 黄科, 余小林, 吴秋云, 沈迎春, 向珣, 曹家树. 芥蓝植株再生体系的优化. 细胞生物学杂志 [Huang Ke, Yu Xiaolin, Wu Qiuyun, Shen Yingchun, Xiang Xun, Cao Jiashu. The optimization of plant regeneration protocol of Chinese broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *alboblabra*). Chinese Journal of Cell Biology] 2004; 26(3): 313-6.
- 44 刘洁. 结球甘蓝离体遗传转化体系的建立及转FOC1基因植株的获得. 甘肃农业大学(硕士论文) [Liu Jie. Agrobacterium-mediated transformation and regeneration of transgenic plants with FOC1 gene in *Brassica oleracea*. Gansu Agricultural University], 2016.
- 45 朱惠霞, 胡立敏, 陶兴林. 花椰菜再生体系的优化. 甘肃农业科技 [Zhu Huixia, Hu Limin, Tao Xinglin. Optimize regeneration system of cauliflowers (*Brassica oleracea* var. *botrytis*). Gansu Agricultural Science and Technology] 2011; 6: 16-8.
- 46 刘煜. 西兰花再生体系的建立及遗传转化体系初探的研究. 东北农业大学(硕士论文) [Liu Yu. Establishment of regeneration system of broccoli and preliminary exploration of genetic transformation system. Northeast Agricultural University], 2013.
- 47 吕金浮, 王然, 秦斐斐, 刘燕, 丁洁. 青花菜高频再生体系建立及芽再生机理的研究. 青岛农业大学学报(自然科学版) [Lü Jinfu, Wang Ran, Qin Feifei, Liu Yan, Ding Jie. Establishment of highly regeneration system *in vitro* and study on the regenerate mechanism of buds in broccoli. Journal of Qingdao Agricultural University (Natural Science)] 2010; 27(1): 31-5.
- 48 黄科. 利用CYP86MF反义基因转化创建青花菜与芥蓝雄性

- 不育植株的研究. 浙江大学(博士论文)[Huang Ke. Creation of artificial male sterile plant in broccoli(*B.oleracea* var. *italica*) and Chinese kale (*B.oleracea* var. *alboglabra*) by anti-sense gene *CYP86MF* transformation. Zhejiang University], 2004.
- 49 沈进娟, 范永红, 冷容, 李娟, 冉广葵. 茎瘤芥(榨菜)高效离体再生体系的建立. 生物技术通报(Shen Jinjuan, Fan Yonghong, Leng Rong, Li Juan, Ran Guangkui. Establishment of high-frequency *in vitro* regeneration system in tuber mustard. Biotechnology Bulletin) 2012; 5: 71-5.
- 50 李彤, 汤青林, 王志敏, 宋明. 芥菜离体培养体系的建立及形态发生过程中蛋白变化的研究. 南方农业(Li Tong, Tang Qinglin, Wang Zhimin, Song Ming. South China Agriculture) 2008; 2(2): 19-21.
- 51 余小林, 曹家树, 陈石头, 吴剑柄. 提高榨菜离体培养植株再生频率. 细胞生物学杂志(Yu Xiaolin, Cao Jiashu, Chen Shitou, Wu Jianbing. Improvement of plant regeneration from mustard (*Brassica juncea* var. *tumida*) culture *in vitro*. Chinese Journal of Cell Biology) 2004; 26(4): 439-43.
- 52 杨朝辉, 雷建军, 曹必好, 钟小林, 李蓉芬, 江渝, 等. 芥菜转基因再生体系的建立. 作物学报(Yan Chaohui, Lei Jianjun, Cao Bihao, Zhong Xiaolin, Li Rongfen, Jiang Yu, *et al.* Establishment of genetic transformation regeneration system in *Brassica Juncea*. Acta Agronomica Sinica) 2004; 30(5): 496-501.
- 53 陈丽萍, 徐春霞, 李春顺. 通过不同再生方法建立榨菜再生体系及RAPD分析. 蔬菜分子育种研讨会论文集(Chen Liping, Xu Chunxia, Li Chunshun. Plant regeneration of *Brassica juncea* by different regeneration methods and RAPD analysis. Symposium on Vegetable Molecular Breeding), 2004.
- 54 车丽玲. 印度芥菜(*Brassica juncea*)离体再生体系的建立及农杆菌介导的*HO-1*基因的遗传转化. 南京农业大学(硕士论文)(Che Liling. Establishment of regeneration system in *Brassica juncea* and genetic transformation of *HO-1* gene mediated by agrobacterium tumefaciens. Nanjing Agricultural University), 2010.
- 55 朱学栋, 何晓蓉, 刘华强, 杨霞, 朱菲菲, 周春江. 茎瘤芥(榨菜)子叶及带下胚轴茎段离体培养研究. 安徽大学学报(自然科学版)(Zhu Xuedong, He Xiaorong, Liu Huaqiang, Yang Xia, Zhu Feifei, Zhou Chunjiang. The study of cotyledon and hypocotyl with stem on *Brassica juncea* var. *tumida* Tsenet Lee *in vitro* culture. Journal of Anhui University (Natural Science Edition)) 2016; 40(1): 86-90.
- 56 刘任源. 农杆菌介导的大白菜和菜心遗传转化体系的构建. 山东农业大学(硕士论文)(Liu Renyuan. Establishment of efficient transformation system of Chinese cabbage and *Brassica parachinensis* mediated by *Agrobacterium tumefaciens*. Shandong Agricultural University), 2012.
- 57 Chi GL, Pua EC. Ethylene inhibitor enhanced *de novo* shoot regeneration from cotyledons of *Brassica campestris* ssp. *Chinensis* (Chinese cabbage) *in vitro*. Plant Science 1989; 64(2): 243-50.
- 58 杜虹, 庄东红, 黄文华. 影响大白菜离体培养再生频率各因素的探讨. 汕头大学学报(自然科学版)(Du Hong, Zhuang Donghong, Huang Wenhua. Studies on factors that influence the shoots regeneration ratio *Brassica Compestris* cultured *in vitro*. Journal of Shantou University (Natural Science)) 2000; 15(1): 45-51.
- 59 许会会, 赵美爱, 铃泰琳, 刘维信. 薹菜再生体系的建立. 西北农业学报(Xu Huihui, Zhao Meiai, Qian Tailin, Liu Weixin. Establishment of regeneration system in *Brassica camptris* L. ssp. *chinensis* Makino var. *tai-tsai* Hort. Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica) 2010; 19(8): 198-201.
- 60 卞莹莹, 颜彬, 崔丽洁, 潘静娴, 开国银. 不结球白菜子叶离体培养与植株再生的研究. 上海师范大学学报(自然科学版)[Bian Yingying, Yan Bin, Cui Lijie, Pan Jinxian, Kai Guoyin. Study on plantlet regeneration and *in vitro* culture of non-heading Chinese cabbage. Journal of Shanghai Normal University (Natural Sciences)] 2015; 44(6): 579-84.
- 61 陈石头. 榨菜高效再生体系的建立及其遗传转化影响因子的研究. 浙江大学(硕士论文)[Chen Shitou. Studies on the establishment of high efficient shoot regeneration system and the transformation mediated by *Agrobacterium* in tuber mustard (*Brassica juncea* var. *tumida*). Zhejiang University], 2004.
- 62 Mckeron TA, Yang SF. Biosynthesis and metabolish of ethylenel. Plant hormones and their role in plant growth and development. M Nijhoff Press 1987; 94-112.
- 63 符庆功, 吴慧敏, 胡颖. 青花菜离体再生体系研究. 北方园艺(Fu Qinggong, Wu Huiimin, Hu Ying. Study on regeneration system of broccoli. Northern Horticulture) 2010; 21: 150-2.
- 64 杨海荣. 西兰花细胞系的建立及萝卜硫素代谢调控与提取优化. 甘肃农业大学(硕士论文)(Yang Hairong. Established *in vitro* cell lines from *Brassica oleracea* L. var regulated metabolism and optimized extraction process of sulforaphane. Gansu Agricultural University), 2012.
- 65 樊明琴, 朱月林, 朱丽华. 结球白菜高效离体子叶不定芽再生的研究. 南京农业大学学报(Fan Mingqin, Zhu Yuelin, Zhu Lihua. Studies on high efficient *in vitro* shoot regeneration from cotyledon of Chinese cabbage. Journal of Nanjing Agricultural University) 2005; 28(1): 20-3
- 66 王慧芳. 甘蓝组织培养再生、转化及筛选系统的优化研究. 山西农业大学(硕士论文)(Wang Huifang. Optimization of regeneration transformation of *Brassica oleracea* in tissue culture and screening system. Shanxi Agricultural University), 2004.
- 67 吴昌银, 叶志彪. AgNO<sub>3</sub>对不结球白菜子叶离体再生的影响. 华中农业大学学报(Wu Changyin, Ye Zhibiao. The effect of AgNO<sub>3</sub> on the regeneration from cotyledons of non-heading Chinese cabbage *in vitro*. Journal of Huazhong Agricultural University) 1999; 18(1): 80-2.