

范丽华, 赖呈纯, 谢鸿根, 等. 福建野生葡萄松散型愈伤组织的诱导及其继代保持 [J]. 福建农业学报, 2012, 27 (7): 711-716.

FAN L-H, LAI C-C, XIE H-G, et al. Friable Callus Induction of Fujian Wild Grapes (*Vitis Amurensis* Rupr.) and Its Subculture and Maintenance [J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2012, 27 (7): 711-716.

福建野生葡萄松散型愈伤组织的诱导及其继代保持

范丽华, 赖呈纯, 谢鸿根, 余亚白

(福建省农业科学院农业工程技术研究所, 福建 福州 350003)

摘要: 以福建野生葡萄 (*Vitis amurensis* Rupr.) 带节茎段为外植体, 建立无菌株系, 并以此无菌株系小苗的茎段或叶片为外植体, 进行愈伤组织诱导、继代增殖和长期保持等方面的研究。结果表明, 光照条件下, 愈伤组织诱导以 MS+BA 2.0 mg·L⁻¹+NAA 0.2 mg·L⁻¹+蔗糖 30 g·L⁻¹培养基最佳, 诱导率可达 100%; 愈伤组织的继代增殖以 MS+2,4-D 1.0 mg·L⁻¹+蔗糖 30 g·L⁻¹培养基最佳, 可以获得生长状态良好的松散型愈伤组织; 采用 MS+2,4-D 1.0 mg·L⁻¹+蔗糖 30 g·L⁻¹培养基继代培养几代后转到 MS+2,4-D 1.0 mg·L⁻¹+KT 0.5 mg·L⁻¹+AgNO₃ 5.0 mg·L⁻¹+蔗糖 30 g·L⁻¹培养基上培养 1 代, 如此交替进行, 同时在光照条件下, 可长期继代保持野生葡萄愈伤组织, 并可保持其旺盛的生长能力。

关键词: 葡萄; 外植体; 愈伤组织; 诱导; 继代保持

中图分类号: S 663.1

文献标识码: A

Friable Callus Induction of Fujian Wild Grapes (*Vitis Amurensis* Rupr.) and Its Subculture and Maintenance

FAN Li-hua, LAI Cheng-chun, XIE Hong-gen, YU Ya-bai

(Institute of Agricultural Engineering and Technology, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou, Fujian 350003, China)

Abstract: The plantlets of Fujian wild grapes (*Vitis amurensis* Rupr.) were established by using its stems with node as explants. And its callus induction, subculture and long-term maintenance were carried out by using the stems and leaves of these plantlets. The results showed that, with the illumination of lights, the effect of medium MS+BA 2.0 mg·L⁻¹+NAA 0.2 mg·L⁻¹+Sucrose 30 g·L⁻¹ revealed the best on inducing of calluses for a rate of 100%. The medium MS+2,4-D 1.0 mg·L⁻¹+Sucrose 30 g·L⁻¹ was the best for the callus subculture multiplication to obtain the friable calluses in good growth. For a long-term maintenance, the calluses were subcultured for several generations with the medium MS+2,4-D 1.0 mg·L⁻¹+Sucrose 30 g·L⁻¹ and then followed with the sub-culture of medium MS+2,4-D 1.0 mg·L⁻¹+KT 0.5 mg·L⁻¹+AgNO₃ 5.0 mg·L⁻¹+Sucrose 30 g·L⁻¹ for one generation. Continually, the calluses were alternately sub-cultured with the two mediums and could grow vigorously with the illumination of lights.

Key words: grape (*Vitis vinifera* L.); explant; callus; induction; subculture and maintenance

葡萄 *Vitis vinifera* L. 是葡萄属 (*Vitis*) 落叶藤本植物, 其鲜果外观与风味俱佳、营养丰富, 也可制成葡萄汁、葡萄干和葡萄酒, 深受人们的青睐^[1]。研究表明, 葡萄中富含白藜芦醇、儿茶素、表儿茶素和鞣花酸等酚类和类酚类生物活性物质,

有重要药理功能和生物活性, 具有良好的保健作用^[2-5], 尤其是白藜芦醇具有抗癌的功效^[6]而受到市场的青睐。随着市场需求不断扩大, 从葡萄或其他替代植物中提取生物活性物质已不能满足需要。植物细胞培养是生物技术领域里的一个重要分支,

收稿日期: 2012-06-05 初稿; 2012-06-26 修改稿

作者简介: 范丽华 (1957—), 女, 副研究员, 主要从事葡萄栽培、引种和育种研究 (E-mail: fanlh2005@163.com)

通讯作者: 赖呈纯 (1975—), 男, 博士, 助理研究员, 主要从事园艺植物生物技术与遗传资源研究 (E-mail: lccisland@163.com)

基金项目: 福建省自然科学基金项目 (2012J01102); 福建省科技计划项目——省属公益类科研院所基本科研专项 (2011R1017-2); 福建省农业科学院博士科研启动基金项目 (2010BS-3)

具有生长速度快、周期短、不受季节影响、产物均一可控、药效成分高于天然植物等优点，所以采用大规模植物细胞培养既是解决药用植物资源匮乏也能克服药用植物药效成分低的难题，是满足天然生物活性物质需求的重要途径^[7]。近年来，植物细胞培养进行有效成分的生产已经取得了令人瞩目的成就^[8]，而葡萄细胞培养生产次生代谢产物白藜芦醇的研究还处在实验室的研究阶段，进入中试和大规模培养还亟待解决诸多问题，如细胞株的筛选、细胞系的长期继代保持、悬浮细胞系的建立和诱导子调控效率等，因此，本研究以福建野生葡萄的茎、叶为材料，以期诱导出较高质量且能长期继代保持的松散型愈伤组织，从而筛选并建立葡萄高效产生生物活性物质的细胞系，为通过葡萄细胞培养生产生物活性物质提供实验体系，同时也可为葡萄生物技术其他方面的研究提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料为福建省戴云山多年生野生葡萄，取当年生的幼嫩无病枝条的带节茎段为外植体，用于进行无菌株系建立。愈伤组织诱导的外植体为野生葡萄无菌株系小苗的茎段和叶片。

1.2 试验方法

1.2.1 培养基设计 根据预备试验的结果和试验需求，对野生葡萄愈伤组织诱导及其继代保持培养基进行设计，具体配方见表 1。基本培养基均为 MS，附加 $6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 琼脂粉、 $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 蔗糖，pH 5.8。

表 1 野生葡萄愈伤组织诱导及继代保持培养基

Table 1 Medium for inducing and maintaining of wild grape calluses
[单位/(mg·L⁻¹)]

培养基编号	2,4-D	KT	AgNO ₃	6-BA	NAA	IBA
G1				2.0	0.2	
G2				1.0	0.5	
G3				1.0		0.1
G4	1.0					
G5	2.0					
G6	1.0	0.5		5.0		

1.2.2 材料的消毒与接种 从野外采集无病枝条，带回实验室用自来水加洗涤剂浸泡 30 min，然后流水冲洗 1~2 h，取出风干水分。无菌条件下，加入适量的 75% 乙醇 (v/v)，浸泡 30 s，倒去乙

醇加入 0.1% HgCl₂ (w/v) 消毒 8 min，之后用无菌水浸洗 5 次备用。

1.2.3 无菌株系的建立 将上述消毒后的野生葡萄枝条，切取 0.5 cm 左右带节茎段，接种到腋芽萌发的培养基上，获得无菌株系。腋芽萌发的培养基配方为附加 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA 的 1/2 MS 培养基。

1.2.4 愈伤组织诱导 取上述获得的野生葡萄无菌株系的健壮小苗，切取 0.5 cm 左右茎段或 0.5 cm×0.5 cm 见方的叶片，接种到 G1~G6 培养基中，诱导产生愈伤组织。每个处理接种 15 个茎段或叶片，设 3 次重复，共接种 45 个。

1.2.5 愈伤组织的继代保持 野生葡萄愈伤组织诱导培养 25~30 d 后，挑取不同类型的愈伤组织接种到培养基上进行继代增殖培养。筛选继代培养基时，挑选松散的、生长状态良好的愈伤组织为材料，每种培养基接种 30 团愈伤组织，3 次重复，共接种 540 团。在筛选出培养基的基础上，长期继代保持松散型的愈伤组织。

1.2.6 培养条件 培养室温度设置在 23~25 °C。愈伤组织诱导和继代保持时，都设置了一组在黑暗中培养，另一组于 1 500~2 000 lx 左右的光照下培养，光照时间 $12 \text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$ 。

1.2.7 试验数据的记录与处理 外植体接种后每天观察培养材料的污染情况，愈伤组织的诱导率和生长状态，并作记录。各参数计算公式如下：

$$\text{愈伤组织诱导率 (\%)} = \frac{\text{产生愈伤组织的外植体}}{\text{(接种的总数 - 污染数)}} \times 100$$

$$\text{有效愈伤组织诱导率 (\%)} = \frac{\text{产生 GC1、GC2 和 GC3 愈伤组织的数}}{\text{(接种的总数 - 污染数)}} \times 100$$

$$\text{GC1 型愈伤组织占有率 (\%)} = \frac{\text{GC1 型愈伤组织数}}{\text{有效愈伤组织数}} \times 100$$

$$\text{有效愈伤组织率 (\%)} = \frac{\text{产生 GC1、GC2 和 GC3 的愈伤组织数}}{\text{接种的愈伤组织数}} \times 100$$

$$\text{愈伤组织褐变率 (\%)} = \frac{\text{褐变的愈伤组织数}}{\text{接种的愈伤组织数}} \times 100$$

1.3 数据统计

结果处理采用 DPS 数据分析软件处理数据，进行方差分析。

2 结果与分析

2.1 野生葡萄无菌株系的建立

将消毒后的野生葡萄带节茎段接种到附加 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA 的 1/2 MS 培养基上，污染率比较

高, 达 50%~60%, 一般培养 15~20 d 后即可见腋芽开始萌发, 35~45 d 后可形成小苗(图 1-A), 从而获得野生葡萄无菌株系。

2.2 野生葡萄愈伤组织的诱导

2.2.1 不同外植体类型对愈伤组织诱导的影响

将野生葡萄茎段或叶片接种到 G1 培养基中, 并在光照下培养。接种 7 d 后, 茎段或叶片切口处均可

观察到愈伤组织形成, 之后愈伤组织块会不断膨大, 25~30 d 后长成初代愈伤组织(图 1-B、C)。从产生愈伤组织的能力上看, 茎段或叶片的差别不大, 但从愈伤组织的长势上, 初代培养时, 茎段产生的愈伤组织长势较强; 而叶片产生的愈伤组织, 长势比较弱, 要及时继代, 否则会变褐死亡。

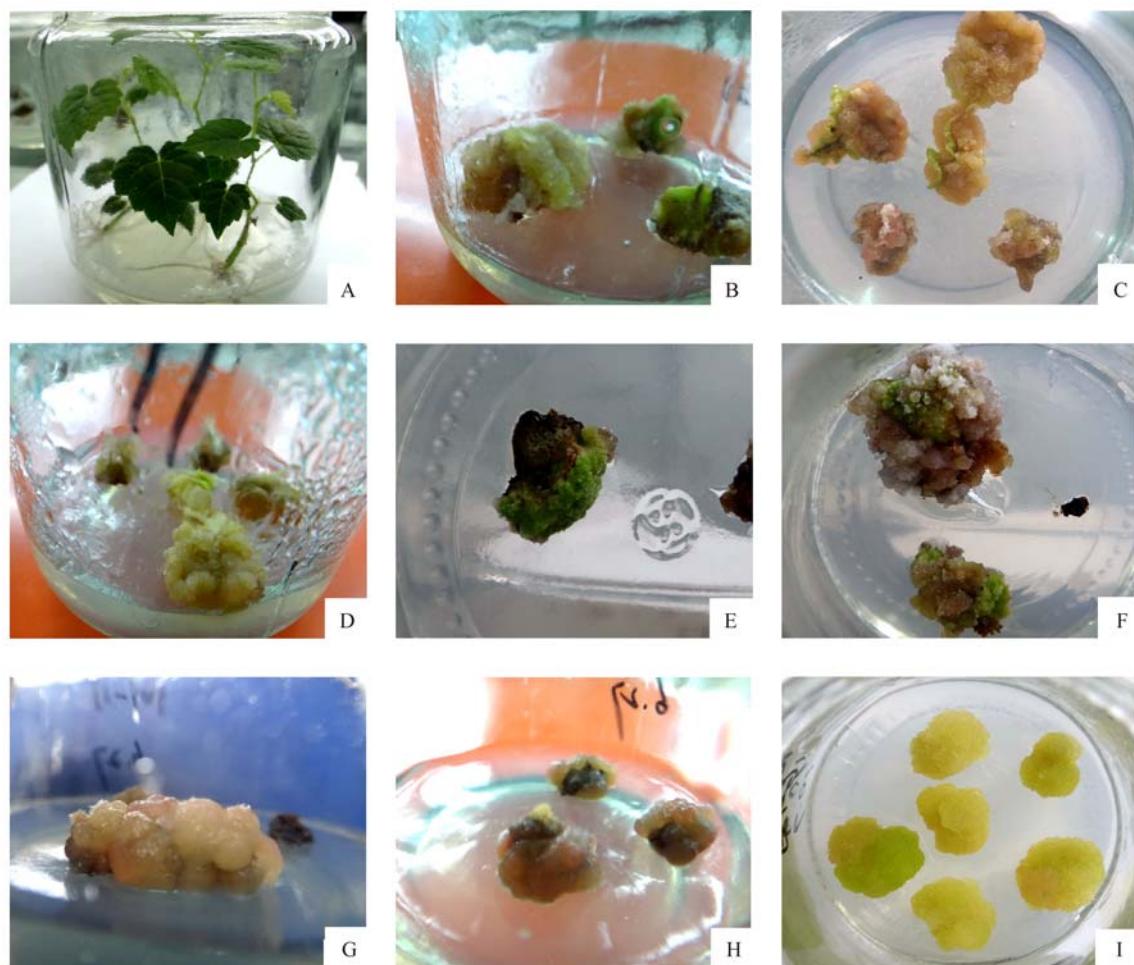


图 1 野生葡萄愈伤组织诱导与继代保持

Fig. 1 Callus induction of Fujian wild grapes and its subculture and maintenance

注: A 为野生葡萄无菌株系; B 为茎段产生的愈伤组织; C 为叶片产生的愈伤组织; D 为 GC1 类型愈伤组织; E 为 GC2 类型愈伤组织; F 为 GC3 类型愈伤组织; G 为 GC4 类型愈伤组织; H 为黑暗培养产生的 GC4 类型愈伤组织; I 为筛选出的 GC1 类型愈伤组织

2.2.2 不同培养条件对愈伤组织诱导的影响 将野生葡萄茎段接种在 G1 培养基上, 比较在光照和黑暗条件对野生葡萄茎段愈伤组织诱导的影响。结果发现, 在光照条件下愈伤组织诱导率为 100%, 产生 4 种类型的愈伤组织, GC1 类型是淡黄色、浅黄绿色或无色的松散状愈伤组织(图 1-D), GC2 是绿色或淡黄绿色硬块状的愈伤组织(图 1-E), GC3 类型是 GC1 和 GC2 的混合型

(图 1-F), GC4 型愈伤组织呈无色粉状或水渍状(图 1-E)。在黑暗中培养诱导产生的愈伤组织, 为无色或浅褐色水渍状或粉状(图 1-H), 这种愈伤组织继代后会褐变死亡, 也定为 GC4 型愈伤组织。可见, 野生葡萄愈伤组织的诱导适合在光照条件下进行, 虽然产生了 4 种类型愈伤组织, 但在后期的筛选中, 可以得到松散的、生长状态良好的愈伤组织。而黑暗条件不利于野生葡萄愈伤组织的诱导。

由于 GC1、GC2、GC3 类型的愈伤组织可以继代增殖, 为有效愈伤组织; 而 GC4 类型愈伤组织不能继代保持, 为无效愈伤组织。

2.2.3 不同培养基对野生葡萄愈伤组织诱导的影响 将野生葡萄茎段接种到表 1 所列的 6 种培养基中, 观察其在光照条件下愈伤组织诱导的情况, 结果(表 2)表明, 6 种培养基接种的茎段都能成功诱导出愈伤组织, 诱导率均为 100%, 但 6 种培养基中产生愈伤组织类型的差异很大, G1、G2 和 G3 培养基中能形成 GC1、GC2、GC3、GC4 等 4 种类型愈伤组织, G4、G5、G6 培养基中诱导产生的愈伤组织全部为 GC4 类型, 表现为无色或浅褐色水渍状。G2 培养基产生的有效愈伤组织诱导率最高, 为 80.0%, 与 G1 培养基的存在显著差异($P<0.05$), 而与 G3 培养基的存在极显著差异($P<0.01$)。从产生松散型愈伤组织的比例看, 以 G1 培养基中诱导出的 GC1 类型愈伤组织占有率最高, 为 48.8%, 与 G2 培养基的有显著差异, 与 G3 培养基存在极显著差异。可见, 在野生葡萄愈伤组织诱导时, 附加 2,4-D 的培养基虽然可以成功诱导出愈伤组织, 但不能继代增殖, 因此不适合作为野生葡萄愈伤组织诱导的培养基。表 2 显示, 不同浓度配比的 BA、NAA、IBA 都可以用来诱导野生葡萄愈伤组织, 但采用较高浓度的 NAA 不利于松散型愈伤组织的诱导, 而采用 IBA 有效愈伤组织和松散型愈伤组织诱导比例都比较低, 而 G1 培养基有效愈伤组织和松散型愈伤组织比例都比较高。综合考虑有效愈伤组织诱导率和松散型愈伤组织诱导率等 2 个因素, 以附加 $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ BA 和 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA 的 MS 培养基用于诱导野生葡萄愈伤组织为佳。

表 2 不同培养基对野生葡萄愈伤组织诱导的影响

Table 2 Effect of different mediums on inducing calluses of wild grapes

培养基	愈伤组织 诱导率/%	有效愈伤组织 诱导率/%	GC1 型愈伤组织 占有率/%
G1	100	68.9 Ab	48.8 Aa
G2	100	80.0 Aa	27.7 ABb
G3	100	48.9 Bc	24.3 Bb
G4	100	0 Cd	0 Cc
G5	100	0 Cd	0 Cc
G6	100	0 Cd	0 Cc

注: 有效愈伤组织为 GC1、GC2 和 GC3 类型愈伤组织的总和。表中不同字母表示邓肯氏新复极差测验差异显著性, 其中大写字母为差异极显著($P<0.01$), 小写字母为差异显著($P<0.05$)。下同。

2.3 野生葡萄愈伤组织的继代保持

2.3.1 不同培养基对野生葡萄愈伤组织继代培养的影响 采用表 1 所列的培养基, 选取生长状态良好的 GC1 类型野生葡萄愈伤组织, 于光照下进行继代培养试验。表 3 显示, 将刚诱导出来的 GC1 类型愈伤组织接种到继代培养基中, 都会有部分发生褐变, 从褐变率来看, 6 种培养基可大体分为 2 组, 以 BA 和 NAA 或 IBA 的组合(G1、G2、G3)为一组, 另一组则是添加 2,4-D 的培养基(G4、G5、G6), 其中添加 2,4-D 培养基的褐变率明显高于 BA 和 NAA 或 IBA 的组合, BA 和 NAA 或 IBA 的组合之间的差别不大, 随 2,4-D 浓度增加褐变率有增加的趋势, 同时在 2,4-D 浓度一致的情况下, 添加 AgNO_3 的培养基褐变率也较高。

表 3 不同培养基对野生葡萄愈伤组织继代保持的影响

Table 3 Effect of different mediums on the subculture and maintenance of wild grape calluses

培养基	愈伤组织 褐变率/%	有效愈伤 组织率/%	GC1 型愈伤组织 占有率/%
G1	10.0 Aa	89.0 ABab	63.2 Bb
G2	12.2 Aa	82.6 Bb	47.5 Cc
G3	10.0 Aa	61.9 Cc	37.7 Cd
G4	20.0 ABb	100.0 Aa	100.0 Aa
G5	28.9 Bc	100.0 Aa	100.0 Aa
G6	23.3 Bbc	100.0 Aa	100.0 Aa

从有效愈伤组织形成的情况看, 在添加 2,4-D 的 G4、G5 和 G6 培养基中培养形成的愈伤组织, 均为有效愈伤组织, 有效率达 100%。而培养在 G1、G2、G3 培养基中的情况比较复杂, 培养在这 3 种培养基中的材料, 最终都会形成 GC1、GC2、GC3 和 GC4 等 4 种类型的愈伤组织, 其中在 G3 培养基中培养后形成的有效愈伤组织率最低, 为 61.9%, 在 G1 和 G2 培养基中培养的有效率分别为 89.0% 和 82.6%, G1 与 G3 形成的有效愈伤组织率差异达到极显著水平。

从产生的松散型愈伤组织(GC1)来看, 添加 2,4-D 的 G4、G5 和 G6 培养基中培养形成的愈伤组织, 均为 GC1 类型的愈伤组织, 占有率达到 100%。培养在 BA 和 NAA 或 IBA 组合的培养基中所产生的 GC1 类型愈伤组织, 以 G1 培养基的占有率最高, 为 63.1%, 而在 G3 培养产生 GC1 的占有率最低, 为 37.7%, G2 培养的介于前两者之间, 为 47.5%。三者之间都存在极显著差异。

综上所述, 在进行野生葡萄愈伤组织继代保存

时, 考虑到有效愈伤组织和快速获得松散型愈伤组织的2个因素, 以附加 $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 2,4-D的MS培养基为最佳。

2.3.2 不同培养条件对愈伤组织继代培养的影响

选取野生葡萄GC1类型的愈伤组织, 接种到G4培养基中, 于光照或黑暗条件下培养。结果发现在黑暗条件下培养的愈伤组织, 虽然很少发生褐变, 但会产生较多的无色或浅褐色水渍状GC4类型愈伤组织, 并且这种情况会随继代次数的增加而增加。在光照条件下, 会抑制GC4类型愈伤组织的产生, 而均形成GC1类型愈伤组织。因此, 在进行野生葡萄愈伤组织继代培养时, 以在光照条件下培养为宜。

2.3.3 不同类型愈伤组织对其继代保持的影响

分别挑选生长状态良好的GC1、GC2、GC3和GC4等4种类型的愈伤组织接种于G4培养基中, 在光照条件下进行继代培养试验。GC1类型愈伤组织继代培养后虽然小部分发生褐变, 但大部分可以增殖, 一般培养25~30 d后愈伤组织团会增大到原来的6~8倍, 并可长期继代保持。GC3类型愈伤组织继代培养后会出现类型分化的情况, 继代培养1代后会产生GC1、GC3和GC4类型的愈伤组织, 并随继代次数的增加而趋向于GC1类型, 最终可筛选出一致的GC1类型愈伤组织。GC2类型愈伤组织继代培养时, 类型也会出现分化, 分化的结果产生GC1、GC2、GC3和GC4类型的愈伤组织, 但刚开始时以GC2类型的居多, 随继代次数的增加, 也会趋向于产生GC1类型愈伤组织, 最终也可获得一致的GC1类型愈伤组织, 只是继代次数要比GC3多。GC4类型愈伤组织继代培养数天后开始褐化并呈现水渍状, 且没有增殖, 随培养时间的延长, 褐化不断加重, 直至最终死亡。

2.3.4 不同外植体来源的愈伤组织对继代培养的影响

选取茎段或叶片来源的GC1类型愈伤组织, 分别接种到G4培养基中, 于光照条件下进行继代培养。试验结果表明, 茎段和叶片诱导产生的愈伤组织, 在继代培养时没有太大的差异, 经过几代培养和筛选, 都能获得生长旺盛且能长期继代保持的松散型愈伤组织, 这些愈伤组织都呈现松散, 淡黄或浅黄绿色。

2.3.5 愈伤组织的长期继代保持

在筛选出野生葡萄松散型愈伤组织后(图1-I), 附加 $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 2,4-D的MS培养基经过多代的继代保持, 愈伤组织颜色会有所淡化, 呈浅黄白色, 可以将其继代培养至附加 $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 2,4-D、 $5.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$

AgNO_3 、 $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ KT的MS培养基上1代, 可以恢复淡黄色或淡黄绿色松散的状态, 造成这种现象的原因可能是野生葡萄愈伤组织的生长是一种动态的平衡, 若要维持这种平衡, 一种培养基也许不能实现, 必须在一种培养基的基础上辅予一种或多种培养基进行交替继代培养, 以达到生长的动态平衡。

3 讨 论

3.1 野生葡萄愈伤组织诱导方面的相关问题

在进行巨峰葡萄愈伤组织诱导时, 发现自然条件来源的叶片诱导效果不佳^[9]。本研究发现在野生葡萄愈伤组织诱导时, 无菌株系小苗来源的茎段与叶片作为外植体形成愈伤组织的能力并没有明显的差异, 叶片和茎段均适合作为外植体来诱导葡萄愈伤组织。采用自然条件下来源的外植体, 可能因为叶片更易受到氯化汞的影响而极大降低其诱导效率, 因此, 在进行葡萄愈伤组织诱导时, 选用无菌培养的试管苗作为外植体最佳, 如果采用自然状态下的外植体, 要在控制污染率的情况下, 尽量减少升汞对外植体的损伤, 或使用次氯酸钠消毒剂。

野生葡萄愈伤组织诱导试验结果表明, 以BA结合NAA或IBA的效果较好, 这与多数文献有关葡萄愈伤组织诱导的试验结果相类似^[9~12]。NAA和2,4-D对细胞分裂和伸长有不同的响应, NAA对细胞的分裂和伸长均有促进作用, 而2,4-D主要对细胞分裂有促进作用, 据此推测生长素控制细胞分裂和伸长可能是通过不同的信号通路实现的^[13~14]。本研究表明, 选用2,4-D作为生长素, 不利于后期继代保持, 而采用NAA或IBA作为生长素诱导, 有利于后期的继代保持, 可能是不同生长素引起不同信号通路相应的结果, 但这有待进一步的研究。

3.2 野生葡萄继代保持的关键因素

在葡萄愈伤组织培养研究中, 以愈伤组织诱导和植株再生的报道居多, 而很少见到对愈伤组织长期继代保持的研究。然而, 一个理想的、可长期继代保持的葡萄愈伤组织实验体系, 可以持续研究, 可通过葡萄细胞培养生产次生代谢产物, 具有很高的实验和应用价值。本研究表明, 以附加BA结合NAA或IBA的培养基诱导的愈伤组织可以继代保持, 而附加2,4-D的培养基诱导的愈伤组织不能继代保持, 同时前者诱导获得的愈伤组织在附加BA结合NAA或IBA的培养基继代培养时, 不利于松散型愈伤组织的产生, 并且随继代次数增加而褐化

率提高，最终影响长期继代保持；而在附加 2,4-D 培养基上继代保持，可以快速获得生长一致的松散型愈伤组织，并可长期继代保持。在巨峰葡萄愈伤组织继代保持研究中也发现，葡萄愈伤组织诱导和继代培养基组成相同时，愈伤组织经过继代培养后不会变大，相反会褐化甚至死亡^[9]。因此，要长期继代保持野生葡萄愈伤组织，维持其生长的动态平衡尤为关键，这种现象在龙眼^[15]和桃^[16]愈伤组织保持中也有类似的发现，这一条件可以通过在不同培养基上交替继代培养得以实现。

参考文献：

- [1] 孔庆山. 中国葡萄志 [M]. 北京：中国农业科学技术出版社，2004：1—53.
- [2] SHRIKHANDE A J. Wine by-products with health benefits [J]. Food Research International, 2000, 33: 469—474.
- [3] VAN DE WIEL A, VAN GOLDE P H M, HART H C. Blessings of the grape [J]. European Journal of Internal Medicine, 2001, 12: 484—489.
- [4] KHANNA S, VENOJARVI M, ROY S, et al. Dermal wound healing properties of redox-active grape seed proanthocyanidins [J]. Free Radical Biology & Medicine, 2002, 33 (8): 1089—1096.
- [5] GONZÁLEZ-NEVES G, BARREIRO L, GIL G, et al. Anthocyanic composition of Tannat grapes from the south region of Uruguay [J]. Analytica Chimica Acta, 2004, 513: 197—202.
- [6] JANG M, LINING CAI L, UDEANI G O. Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes [J]. Science, 1997, 275 (10): 218—220.
- [7] DONNEZ D, JEANDET P, CLÉMENT C, et al. Bioproduction of resveratrol and stilbene derivatives by plant cells and microorganisms [J]. Trends in Biotechnology, 2009, 27 (12): 706—713.
- [8] 吕春茂, 范海延, 姜河, 等. 植物细胞培养技术合成次生代谢物质研究进展 [J]. 云南农业大学学报, 2007, 21 (1): 1—5.
- [9] 崔兴华, 李兴林, 周鑫, 等. 葡萄松散型愈伤组织的培养及其白藜芦醇含量的测定 [J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2009, 37 (5): 161—165.
- [10] 周鹏, 郭安平, 王跃进, 等. 2个葡萄品种系外植体愈伤组织诱导和植株再生 [J]. 热带作物学报, 2002, 23 (3): 52—57.
- [11] 吕惠平, 王起才, 马纪. 木那格葡萄快速繁殖及愈伤组织的诱导和继代 [J]. 生物技术, 2006, 16 (5): 75—77.
- [12] 冯莎莎, 刘守义. 巨峰葡萄外植体愈伤组织的诱导和植株再生 [J]. 河北北方学院: 自然科学版, 2008, 24 (6): 45—48.
- [13] CAMPANONI P, NICK P. Auxin-dependent cell division and cell elongation. 1-naphthaleneacetic acid and 2, 4-Dichlorophenoxyacetic acid activate different pathways [J]. Plant Physiology, 2005, 137: 939—948.
- [14] 吴晓霞, 周倩, 谢虹, 等. 2,4-D 和 NAA 在拟南芥细胞分裂和伸长中的作用分析 [J]. 西北植物学报, 2007, 27 (8): 1631—1636.
- [15] 赖钟雄, 潘良镇, 陈振光. 龙眼胚性细胞系的建立与保持 [J]. 福建农业大学学报, 1997, 26 (2): 160—167.
- [16] 赖呈纯, 余亚白, 赖钟雄, 等.“台农甜蜜”桃胚愈伤组织的诱导与继代保持 [J]. 中国农学通报, 2008, 24 (11): 54—59.

(责任编辑: 黄爱萍)