

文章编号: 1001-1498(2009)04-0521-05

# 刺山柑腋芽的组织培养快繁技术研究

田小霞, 姜春前\*, 陈祥义, 曲昇, 杨文姝

(中国林业科学研究院林业研究所, 国家林业局林木培育重点实验室, 北京 100091)

**摘要:**以从意大利西西里岛引进的刺山柑带腋芽茎段为外植体,进行了预处理、丛芽诱导、丛芽增殖和生根、再生植株炼苗等研究,采用正交设计筛选出各阶段的适宜培养基。结果表明:在诱导阶段,较低的激素水平能促进幼芽萌发,其适宜的培养基为  $DKW + 0.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} 6\text{-BA} + 0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NAA} + 20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  蔗糖;继代增殖阶段,丛芽增殖系数与 6-BA 用量成正比,但随着 6-BA 用量加大或长期在高浓度 6-BA 上培养,芽苗多且细弱,不适合做生根诱导,其适宜的培养基为  $DKW + 0.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} 6\text{-BA} + 0.025 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NAA} + 30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  蔗糖;生根培养阶段,其适宜的培养基为  $1/2\text{MS} + 0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{BA} + 100 \sim 200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{VB}_1 + 20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  蔗糖,生根率 87%。生根组培苗移植至草炭灰珍珠岩(3:1)基质中成活率为 92.31%。

**关键词:**刺山柑;组织培养;外植体;植株再生

中图分类号: S722.3 文献标识码: A

## Studies on the Tissue Culture of Axillary Bud and Rapid Propagation in the *Capparis spinosa*

TIAN Xiao-xia, JIANG Chun-qian, CHEN Xiang-yi, QU Sheng, YANG Wen-shu

(Research Institute of Forestry, CAF; Key Laboratory of Tree Breeding and Cultivation, State Forestry Administration, Beijing 100091, China)

**Abstract:** The *Capparis spinosa* L. introduced from Italian Sicily of which the stem segments with axillary buds were taken as the explants. The tissue culture of *Capparis spinosa* was studied systematically from aspects of disposal, shoot inducement, proliferation and rooting, plantlet hardening and etc. in the experiment. The suitable media for every stage were discussed by orthogonal experiment. The results showed: In the inducing period, low hormone level was benefit for bud multiplication, the suitable medium was  $DKW + 0.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} 6\text{-BA} + 0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NAA} + 20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  sugar, while in the inducing period, the dosage of hormone BA and the shoot multiplication were proportioned positively. But if the dosage of BA enlarged or a long time's culture made in high thick of BA, tissue culture seedling would be slimmer and weaker, which would not suitable for root induction, and  $DKW + 0.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{BA} + 0.025 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NAA} + 30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  sugar was the optimum medium for subculture. The recommended medium for rooting stage was  $1/2\text{MS} + 0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{BA} + 100 \sim 200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{VB}_1 + 20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  sugar, in which the rooting percentages were up to 87%. The plantlets survival rate was up to 92% when transplanted on the mixture (peat soil 3 perlite 1).

**Key words:** *Capparis spinosa*; tissue culture; explant; plantlet regeneration

刺山柑 (*Capparis spinosa* L.) 为白花菜科 (Capparidaceae) 山柑属 (*Capparis* L.) 植物, 落叶藤本蔓生小

半灌木, 源于西亚或中亚的干旱地区<sup>[1]</sup>。它适应性 强, 极耐干旱, 现已成为地中海地区的乡土树种。刺

收稿日期: 2009-01-08

基金项目: 国家林业局“948 项目“多功能固沙地被植物刺山柑、百里香等种质资源及其繁育技术引进”

作者简介: 田小霞 (1980—), 女, 山西长治人, 硕士, 从事园林植物栽培技术研究

\* 通讯作者: 研究员

山柑主要分布于地中海地区,具有耐干旱、耐贫瘠和耐风蚀等特性<sup>[2-5]</sup>。在我国,刺山柑主要分布于新疆、甘肃和西藏等地<sup>[6-7]</sup>。刺山柑具有发达的根系,能够高效利用地下水资源,被认为是贫瘠、干旱地区进行荒漠生态恢复与重建的优选植物<sup>[4]</sup>。刺山柑的叶、果、根皮均可入药,在抗菌、抗炎、抗氧化、抗高血压、降血糖血脂、利尿、治疗痛风和风湿等方面均有一定的功效<sup>[8]</sup>。刺山柑花芽在地中海国家已经被广泛制作成可以增加辛辣味的调味料,且种子不饱和脂肪酸中亚油酸和油酸分别为 66.10% 和 20.7%,具有很高的食用和药用价值<sup>[9-10]</sup>。刺山柑作为荒漠固沙水土保持的优选灌木,同时也是食用、药用和观赏作用的经济植物,具有广阔的开发利用前景。

国内外相关研究表明:刺山柑种子在自然状态下萌发率很低,其成熟后 2~3 个月的种子的萌发率只有 5%,而在 18℃ 的环境中 10 d 后的萌发率也只有 10%<sup>[11-12]</sup>。刺山柑繁殖的困难性大大制约了该植物的开发利用。目前,利用现代生物技术进行快速繁殖在国外未见报道<sup>[13]</sup>,国内仅栗茂腾等<sup>[14]</sup>对刺山柑的组织培养技术进行过探讨,但对多种基本培养基在增殖培养方面的影响等未作具体研究,生根率和移植成活率低等问题有待进一步研究。

本文以引入的意大利西西里岛刺山柑 2 年生裸根苗为材料,取其萌生顶梢及带腋芽小茎段作为外植体,为了保持原种苗特性,采用芽生芽方式(不是经过愈伤组织再生不定芽方式)进行快繁技术研究,本试验的目的在于研究刺山柑植株再生的适应条件,通过对刺山柑组织培养的快速繁殖研究,为干旱和半干旱区的植被恢复与荒漠化治理快速高效提供又一新的造林树种。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验材料

供试材料为 2007 年 6 月 1 日从意大利西西里岛引进的裸根苗,且及时移植到中国林业科学研究院温室内盆栽,2007 年 7 月份取当年萌生的枝条作

为试验材料。

### 1.2 试验方法

1.2.1 外植体的预处理 从西西里刺山柑植株上取萌生 5~6 cm 长梢段,剪去叶片,用洗洁精浸泡 5~10 min,流水冲洗 30 min,滤干水后,在超净工作台上,剪成 1~2 cm 长的小段,每段保留 1~2 个腋芽,用 75% 的酒精表面消毒 30 s,用无菌水冲洗 1 次,随即用 0.1% HgCl<sub>2</sub> (升汞)溶液消毒 6~8 min,无菌水冲洗 4~5 次,进行初次培养。

1.2.2 外植体的初次培养 以 DKW 和 MS 为基本培养基,进行对比试验,各附加激素 0.6-BA 0.1 mg·L<sup>-1</sup> + NAA 0.02 mg·L<sup>-1</sup>、6-BA 0.3 mg·L<sup>-1</sup> + NAA 0.05 mg·L<sup>-1</sup>,蔗糖 20 g·L<sup>-1</sup>,琼脂粉 5.5 g·L<sup>-1</sup>,pH 值 6.0。培养条件为:培养室温度(25±2)℃,光照强度为 1500~2000 lx,光照时间为 14 h·d<sup>-1</sup>。试验中同一处理 30 瓶,每瓶 3~4 株,同一设计重复 3 次,30 d 调查统计。

1.2.3 继代增殖培养与正交试验设计 基本培养基为 DKW,用 6-BA、NAA 和蔗糖 3 个因子,每个因子取 3 个水平,因子水平见表 1。采用 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)正交试验<sup>[15]</sup>,以初次培养中 DKW + 0.3 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA + 0.05 mg·L<sup>-1</sup> NAA + 20 g·L<sup>-1</sup> 蔗糖培养基上芽苗为材料,切成带 1 个腋芽的茎段接种。同一处理 12 瓶,每瓶 6 株,重复 3 次,30 d 统计增殖率。

1.2.4 生根培养与正交试验设计 将刺山柑幼芽接种于 1/2MS 培养基上,附加不同浓度的 BA 和 VB<sub>1</sub>(表 1),同样采用 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)正交试验<sup>[15]</sup>,观察对刺山柑生根的影响,筛选适宜生根培养基。以增殖培养基 DKW + 0.3 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA + 0.025 mg·L<sup>-1</sup> NAA + 20 g·L<sup>-1</sup> 蔗糖的继代苗中剪取长 3~5 cm 的茎段,作生根诱导,同一处理 28 瓶,每瓶 4 株苗,重复 3 次,30 d 统计其生根率。

1.2.5 炼苗及移植 待组培苗生根以后作炼苗移植,把组培苗运到温室,搁置 5 d,用清水洗掉根上的培养基,移植到经过消毒的草炭土和珍珠岩(3:1)基质的 10 cm × 10 cm 塑料杯中。栽后喷水保湿,覆

表 1 增殖培养基和生根培养的 L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)正交试验设计

因子水平	增殖培养			生根培养	
	A 6-BA/(mg·L <sup>-1</sup> )	B NAA/(mg·L <sup>-1</sup> )	C 蔗糖/(g·L <sup>-1</sup> )	A BA/(mg·L <sup>-1</sup> )	B VB <sub>1</sub> /(mg·L <sup>-1</sup> )
1	0.1	0.025	20	0.2	0
2	0.2	0.050	25	0.5	100
3	0.3	0.075	30	1.0	200

上薄膜,密封 4 d,揭膜检查基质干湿情况,适当补充水分,继续覆膜保湿,1 周后,通小口透气,10 d 后揭膜常规管理,30 d 后观察其移植效果。

1.2.6 数据分析 数据分析与处理采用 SPSS 软件进行分析,进行差异显著性检验。

## 2 结果与分析

### 2.1 初次转接培养

2.1.1 初培增殖效果 图 1 表明:刺山柑转接增殖培养在 DKW + 0.3 mg · L<sup>-1</sup> 6-BA + 0.05 mg · L<sup>-1</sup> NAA + 20 g · L<sup>-1</sup> 蔗糖中生长得最好,芽增殖系数高达 3.69,芽苗粗壮、直立、高度较整齐一致,而 MS 培养基生长情况普遍较差,芽的数量少,增殖系数较低,而且苗较细弱,部分苗顶端枯黄,原因是培养基

中硝态氮和铵态氮过高导致的一种普遍现象。试验中还表明,刺山柑幼芽增殖所需的激素水平较低,但是,如果培养基中不添加任何生长激素,刺山柑不出现增殖效果(表 2)。

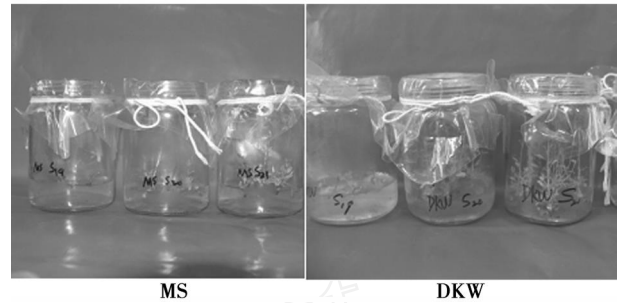


图 1 在 MS 培养基和 DKW 培养基上刺山柑初次转接培养 30 d 的增殖效果比较

表 2 刺山柑增殖培养基的培养效果比较

编号	培养基	增殖系数	芽的平均长度/mm
DKW 21	DKW + 0.3 mg · L <sup>-1</sup> 6-BA + 0.05 mg · L <sup>-1</sup> NAA	3.69a	2.59ab
MS21	MS + 0.3 mg · L <sup>-1</sup> 6-BA + 0.05 mg · L <sup>-1</sup> NAA	3.20b	2.14bc
DKW 20	DKW + 0.1 mg · L <sup>-1</sup> 6-BA + 0.02 mg · L <sup>-1</sup> NAA	2.76c	3.10a
MS20	MS + 0.1 mg · L <sup>-1</sup> 6-BA + 0.02 mg · L <sup>-1</sup> NAA	2.29d	2.25b
DKW 19	DKW	2.00e	1.36d
MS19	MS	2.00e	1.01d

注:LSD 多重比较,同列中不同小写字母表示 5% 水平上差异显著,下同。

2.1.2 刺山柑继代增殖培养效果 从表 3 可以看出:生长素对增殖系数的影响由大到小的顺序为 6-BA > NAA > 蔗糖,6-BA 的极差最大,表明它在丛芽增殖诱导中起主导作用,生长素 NAA 次之,各因素的适宜组合是:DKW + 0.3 mg · L<sup>-1</sup> 6-BA + 0.025 mg · L<sup>-1</sup> NAA + 30 g · L<sup>-1</sup> 蔗糖;对增殖芽高影响顺序为 NAA > 6-BA > 蔗糖,NAA 的极差最大,在丛芽高生长方面起主导作用,各因素水平适宜组合为:DKW + 0.1 mg · L<sup>-1</sup> 6-BA + 0.025 mg · L<sup>-1</sup> NAA + 20 g · L<sup>-1</sup> 蔗糖。6-BA 的用量与丛芽增殖系数成正比,与丛芽高生长成反比;NAA 对增殖系数的影响在 0.025 ~ 0.05 mg · L<sup>-1</sup> 用量范围内成反比关系,在 0.05 ~ 0.075 mg · L<sup>-1</sup> 用量范围内成正比关系,为提高增殖系数和丛芽高生长,理论上可加大 6-BA 用量,但经长期大量试验发现:随着 6-BA 用量增加,丛芽生长加快,芽苗甚多且很细弱,不可用于生根诱导;NAA 用量达 0.1 ~ 0.2 mg · L<sup>-1</sup> 时,丛生芽苗也很多且细弱。随后应用适宜组合培养基扩繁了上万株芽苗,显示出刺山柑继代培养基的增殖效果相当稳定<sup>[19]</sup>。

### 2.2 生根培养

西西里刺山柑生根较缓慢,培养 15 d 才有个别

植株生根,根系细白,22 d 出根率为 25%,此后 7 d 为出根高峰期。株根条数 3 ~ 5 条,侧根细而多(图 2)。通过正交试验结果表明(表 4):2 个因素对苗的生根、生长、成活的作用为 BA > VB<sub>1</sub>, BA 起主导作用,但加大 BA 用量对生根产生抑制作用,且通过试验显示附加维生素 B<sub>1</sub> (VB<sub>1</sub>) 更有利于其生根。综合分析得其适宜组合是 1/2MS + 0.2 mg · L<sup>-1</sup> BA + 100 mg · L<sup>-1</sup> VB<sub>1</sub>。长期使用以上配方生根,2 指标表现稳定。适宜西西里刺山柑生根的配方是:1/2 MS + 0.2 mg · L<sup>-1</sup> BA + 100 ~ 200 mg · L<sup>-1</sup> VB<sub>1</sub> + 20 g · L<sup>-1</sup> 蔗糖。



图 2 刺山柑试管生根苗

表 3 刺山柑最佳增殖激素配比的筛选结果

配方	因素			试验指标		
	6-BA/(mg·L <sup>-1</sup> )	NAA/(mg·L <sup>-1</sup> )	蔗糖/(g·L <sup>-1</sup> )	增殖系数	增殖芽高/mm	
处理	1	1(0.1)	1(0.025)	1(20)	1.64	2.09
	2	1(0.1)	2(0.050)	2(25)	1.78	1.52
	3	1(0.1)	3(0.075)	3(30)	1.64	1.89
	4	2(0.2)	1(0.025)	2(25)	1.97	2.09
	5	2(0.2)	2(0.050)	3(30)	1.93	1.15
	6	2(0.2)	3(0.075)	1(20)	2.21	1.90
	7	3(0.3)	1(0.025)	3(30)	3.36	1.58
	8	3(0.3)	2(0.050)	1(20)	2.15	1.40
	9	3(0.3)	3(0.075)	2(25)	2.54	1.66
增殖系数	K <sub>1</sub>	5.06	6.97	6.05	K=19.22	K=15.28
	K <sub>2</sub>	6.11	5.86	6.29	K <sub>2</sub> =369.41	K <sub>2</sub> =233.48
	K <sub>3</sub>	8.05	6.39	6.93		
	k <sub>1</sub>	1.67	2.32	2.02		
	k <sub>2</sub>	2.04	1.95	2.10		
	k <sub>3</sub>	2.68	2.13	2.31		
	R	1.01	0.37	0.29		
					K <sub>i</sub> 表示(i=1, 2, 3)水平的总和; K <sub>i</sub> 表示相应的平均值。R为最大与最小水平间距。增殖倍数=继代时芽的总个数/接种时芽的总个数。下同。	
增殖芽高	K <sub>1</sub>	5.50	5.76	5.39		
	K <sub>2</sub>	5.14	4.07	5.27		
	K <sub>3</sub>	4.64	5.45	4.62		
	k <sub>1</sub>	1.83	1.92	1.80		
	k <sub>2</sub>	1.71	1.36	1.76		
	k <sub>3</sub>	1.55	1.82	1.54		
	R	0.29	0.57	0.26		

注:括号外数值表示正交设计的水平数,括号内表示具体的数值。

表 4 刺山柑生根诱导培养结果

处理	因素		试验指标						综合评分
	BA/(mg·L <sup>-1</sup> )	VB <sub>1</sub> /(mg·L <sup>-1</sup> )	(1)	(2)	(3)	数值转换			
						(1)	(2)	(3)	
1	1(0.2)	1(0)	93.75	55.38	1.70	75.90	48.14	1.64	938.44
2	1(0.2)	2(100)	90.20	54.48	1.75	63.89	47.59	1.65	860.89
3	1(0.2)	3(200)	92.83	50.90	2.16	76.91	45.53	1.78	918.54
4	2(0.5)	1(0)	80.38	39.25	1.90	64.46	38.75	1.70	775.96
5	2(0.5)	2(100)	97.25	62.52	2.14	83.40	52.28	1.77	1024.97
6	2(0.5)	3(200)	90.18	46.45	2.13	72.62	42.98	1.77	867.29
7	3(1.0)	1(0)	80.35	36.58	1.78	64.09	37.16	1.67	757.81
8	3(1.0)	2(100)	78.58	37.50	1.57	62.48	37.64	1.60	752.88
9	3(1.0)	3(200)	80.35	27.65	1.55	64.00	31.70	1.59	702.59
K <sub>1</sub>	2 717.87	2 472.21							
K <sub>2</sub>	2 668.22	2 638.74							
K <sub>3</sub>	2 213.28	2 488.42							
k <sub>1</sub>	905.96	824.07							
k <sub>2</sub>	889.40	879.58							
k <sub>3</sub>	737.76	829.43							
R	168.20	55.51							

注:(1)(2)(3)分别代表看见生根则计算的生根率,以根长 3 mm 为准计算的生根率(因发现试管苗中根长 3 mm 的苗都能成活,故引入此指标),每丛苗根长 3 mm 的生根条数。为进行统计分析,对(1)(2)(3)作数值转换:(1)(2)作反正弦处理;(3)作 $(X+1)^{1/2}$ 转换。为兼顾 3 个指标,采用综合评分法:对炼苗成活率而言,生根是必须的,故生根率指标相对比较重要,且在此试验中,根长 3 mm 的试管苗移植成活率最高,故此指标最重要,每丛苗生根条数为次要,若将 3 个指标对移植成活率的作用定为 1,则根长 3 mm 的生根率可看作其作用的 10 倍,出根则计算的生根率是 6 倍,每丛苗生根条数为 1 倍数,综合分数 = 6 × (1) + 10 × (2) + 1 × (3),其中 10, 6, 1 分别为 3 个指标的权重<sup>[16]</sup>。

### 2.3 移植

组培生根苗移植过程在中国林业科学研究院智能温室内完成,当组培苗大部分根长 0.3~1 cm 时作炼苗移植。观察发现:首批移植 1 053 株,成活率 92%。7~9 号生根培养基的成活率较低,仅 80%;其他的生根培养基成活率都超过了 90%,其中 3 号培养基的成活率最高,达到了 95% (图 3)。而后多次批量移植 3 号生根培养基苗都是按照这个管理模式进行,苗木成活效果稳定。



图 3 刺山柑移植成活苗

## 3 讨论

组织培养技术中,激素的成分、配比和浓度会对实验结果产生重大的影响,而且各因素之间搭配效果最适宜一直是组织培养研究者所关注的问题。本研究通过正交设计,筛选出最适宜刺山柑继代增值的培养基是  $DKW + 0.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} 6\text{-BA} + 0.025 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NAA} + 30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  蔗糖,最适宜生根的培养基是  $1/2\text{MS} + 0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{BA} + 100 \sim 200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{VB}_1 + 20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  蔗糖。当然刺山柑的初培增值培养也完全可以用正交设计的方法筛选,但是由于初培养对培养基的要求不严格,所以没有用正交设计来筛选<sup>[17]</sup>。

西西里刺山柑属于种子萌发困难,引入该树种并通过组织培养的方式成功快速繁殖解决该苗木问题,为大面积种植打下良好的基础。本研究筛选出了西西里刺山柑芽继代增殖和生根培养的适宜培养基,此方法与传统的单因子方法相比,可以容纳更多的因素和水平,同时也大大减少了试验次数,可以快速找出适合西西里刺山柑组培苗各个阶段的培养基配比。

据栗茂腾等<sup>[21]</sup>对国内刺山柑的组培研究表明,利用 MS 基本培养基以及用 BA 和活性炭组合的最佳生根培养基其生根率只达到 41%。本研究采用

DKW 为基本培养基,显示出继代增殖以及生根培养效果相当好,生根率达到了 92%,优于 MS 基本培养基。本试验中也附加活性炭做一对比试验,但生根效果较差,附加活性炭粉在配制培养基过程中较麻烦且培养基呈黑色,不便观察,又因活性炭吸附性能是无选择性的,如果生长素被吸收会影响组培苗的生根效果,而附加  $\text{VB}_1$  则克服了这个弊端,能更好地促进生根。

### 参考文献:

- [1] Sophia R, George K P. Development and structure of drought-tolerant leaves of the Mediterranean shrub *Capparis spinosa* L. [J]. Annals of Botany, 2003, 92: 377 - 383
- [2] Rivera D, Inocencio C, Obón C, et al. Archaeobotany of capers (*Capparis*) (Capparaceae) [J]. Vegetation History and Archaeobotany, 2002, 11: 295 - 314
- [3] Romeo V, Ziino M, Giuffrida D, et al. Flavour profile of capers (*Capparis spinosa* L.) from the Eolian Archipelago by HS-SPME/GC-MS [J]. Food Chemistry, 2007, 101 (3): 1272—1278
- [4] Fiei S. Intraspecific variation and evolutionary trends in *Capparis spinosa* L. (Capparaceae) [J]. Plant Systematics and Evolution, 2001, 228: 123 - 141
- [5] 张立运,海鹰.《新疆植被及其利用》专著中未曾记载的植物群落类型 I 荒漠植物群落类型 [J]. 干旱区研究, 2002, 25 (1): 84 - 89
- [6] 中国科学院沙漠研究所. 中国沙漠植物志: 第二卷 [M]. 北京: 科学出版社, 1987
- [7] 新疆生物土壤沙漠研究所. 新疆药用植物志: 第一册 [M]. 乌鲁木齐: 新疆人民出版社, 1977: 74 - 75
- [8] 刘薇,栗茂腾,朱玉梅,等. 药用植物刺山柑悬浮培养细胞聚集体理化性质研究 [J]. 中国医药导报, 2008, 5 (21): 19 - 22
- [9] Gabriel O S. Caper bush: Botany and horticulture [J]. Horticultural Reviews, 2001, 27: 127 - 137
- [10] 白红进,刘文杰,赵小亮,等. 刺山柑地上部分氨基酸和种油脂肪酸成分的分析 [J]. 食品研究与开发, 2007, 28 (6): 115 - 117
- [11] Barbera G, Di L R. La coltura specializzata del cappero nell'isola di Pantelleria [J]. Informatore Agrario, 1982, 32: 22113 - 22117
- [12] Bond R E. The caper bush [J]. The Herbarist, 1990, 56: 77 - 85
- [13] Zafer Ö, Zeki Y, Ali Ö Ü Effects of  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{KNO}_3$  and  $\text{GA}_3$  treatments of caper (*Capparis ovata* Desf.) seeds [J]. Pakistan Journal of Biological Science, 2004, 7 (6): 879 - 882
- [14] 栗茂腾,王艳婷,甘露,等. 药用植物刺山柑快繁再生体系的建立 [J]. 华中农业大学学报, 2007, 26 (1): 25 - 29
- [15] 续九如,黄智慧. 林业试验设计 [M]. 北京: 中国林业出版社, 1995
- [16] 李在留,辉朝茂. 珍稀竹种巨龙竹组织培养研究 [J]. 林业科学, 2006, 42 (2): 43 - 49
- [17] 康冰,于福科,张广军,等. 应用正交试验筛选玫瑰茎段增值培养基 [J]. 西北植物学报, 2003, 23 (4): 653 - 655