

我国四倍体刺槐研究综述

林海¹, 王正颖¹, 姜金仲²

(1. 鹤壁职业技术学院, 河南 鹤壁 458030; 2. 北京林业大学生物科学与技术学院, 北京 100083)

饲料型四倍体刺槐 (tetraploidy black locust) 是北京林业大学于 1997 年从韩国引入到我国的刺槐优良无性系, 是由人工诱导二倍体刺槐 (2n) 体细胞加倍 (4n) 而育成^[1]。其叶片宽大肥厚^[2]、蛋白质含量高^[3]、柔嫩多汁、适口性好, 比照青绿饲料的典型特征^[4], 属优良饲料树种。引种试验证明: 四倍体刺槐在我国北纬 23°~24°、东经 86°~124° 的广大地区, 甚至西藏高原都可种植^[5,6]。其耐干旱瘠薄、适应性强、生物量大、萌蘖性强、根系发达、根瘤可固氮, 是水土保持、防风固沙、改良土壤、营造饲料型灌木林的优良树种。发展饲料型四倍体刺槐对加快西部生态建设, 促进西部畜牧业发展, 具有现实意义。因而, 自四倍体刺槐引入我国以来, 国内学者对其经济性状、造林及育苗技术、微体快繁技术和遗传转化等方面进行了广泛的研究, 并取得了许多有价值的成果。

1 引种与造林

1.1 引种试验与造林技术研究

引种试验和造林技术研究是树种引进工作的基础。目前, 这方面的工作已在几个生态条件比较有代表性的地区做得比较完善, 其结论具有一定的参考意义。

西藏地区引种栽培的试验研究表明^[6]: 1 年生四倍体刺槐苗存活率为 95%, 2 年生苗存活率为 76%; 叶片面积是普通刺槐的 2 倍以上。叶色浓绿, 叶肉肥厚, 适宜在海拔 2 970 m 的高寒地区生长, 越冬成活率可达 76%; 在海拔近 3 000 m 的环境条件下, 移栽成活后对水分要求不严, 成长快, 可作为西藏木本饲料树种。

分别对位于宁夏、甘肃的 3 个四倍体刺槐无

摘要: 国内学者对四倍体刺槐主要进行了如下方面的研究: 不同地域不同立地条件下的适应性、生物量及叶片营养含量的研究。常规和微繁育苗技术的研究。抗盐基因遗传转化的研究。笔者从引种、造林、微体快繁技术和遗传转化 4 个方面综述了这些研究成果, 并探讨了存在的问题及可能的解决方法。

关键词: 四倍体刺槐; 微体快繁; 遗传转化引种
中图分类号: Q949.751.9 文献标识码: A
文章顺序编号: 1672-5190(2008)01-0010-04

性系和 1 个普通刺槐无性系的生物量的调查分析表明^[7]: 3 个四倍体刺槐无性系对西北干旱、半干旱地区环境的适应性均较好, 生物量均超过了当地刺槐; 不同土壤条件能影响四倍体刺槐单位面积的生物量, 其中影响效果特别显著的是土壤水分。从而初步证明, 四倍体刺槐作为再生型木本饲料在生态环境条件比较差的西北地区有一定开发潜力, 且改善土壤水分条件可以提高单位面积生物量。

对影响四倍体刺槐在西部半干旱地区荒山造林成活率的因素的研究结果表明: 30~50 cm 的深植可明显提高造林成活率; 雨季前整地成活率为 95.5%, 秋季整地成活率为 82.4%, 不整地成活率为 63.7%; 截秆苗造林成活率(留秆高度 30 cm)为 94.7%, 未截秆苗成活率为 86.6%; 蘸浆、利用抗旱造林粉、水浸等方式处理苗木, 可提高成活率。

1.2 常规繁殖技术研究

1.2.1 硬枝扦插

四倍体刺槐用传统的硬枝扦插法成活率很低, 大约只有 3%, 但使用改进的方法可使成活率达到 40% 左右^[8]。

收稿日期: 2007-11-05

作者简介: 林海(1970—), 男, 副教授, 主要研究方向为植物生态学。

改进后的方法技术要点: 插穗处理。选用一年生硬枝, 初冬完全落叶后及时采集沙藏, 翌年春季4月中旬扦插。插穗长12~15 cm, 下端45°切口, 上端平口, 流动清水浸泡48 h, 0.2%的高锰酸钾溶液消毒10 min后, 再将插穗倒置于通风处存放1 d, 然后用质量分数100×10⁻⁶的ABT2号生根粉浸泡插穗基部1/2以下2~4 h。整地作畦、地膜覆盖。抹芽。扦插后及时观察插穗愈伤组织的发育和不定根生长情况。在愈伤组织尚未形成之前, 第1次嫩芽长到2 cm时应完全抹掉。2周内第2次嫩芽滋生, 此时如果插穗下端仍未形成愈伤组织, 还要将嫩芽抹掉。如果愈伤组织和不定根已经形成, 要保护好幼芽, 并根据气温和土壤情况适时浇水。当幼苗长到15 cm时, 选壮保留。幼苗长到30 cm后, 除去地膜, 并于1周后进行松土。

1.2.2 嫩枝扦插

嫩枝扦插技术的试验结果表明: 插穗下切口采用径切(在基部横断面沿直径部位用小刀向上纵切1刀或按十字形向上纵切2刀), 其生根率、插穗平均生根条数、插穗平均根总长度明显优于平切; 激素种类和处理方法对嫩枝扦插生根效果有显著影响, 激素处理时浸泡处理生根率比速蘸高3.8%~5.3%; IBA、ABT生根粉和“911”生根素均能提高生根率, 但IBA效果最好; 扦插时间以5月末到6月末生根效果较好, 8月中旬以后, 生根率明显降低^[9]。

1.2.3 根段扦插

选择粗0.5~2.0 cm、长15 cm的根段, 分级后打成捆, 放入背风向阳的窖内, 与湿沙交替分层放置进行催芽, 催芽时间为3月下旬; 也可冬季挖根后放入窖内, 待根上部发出新芽后即可按一定株行距进行扦插插穗与地面成60°倾角, 顶部与地面平, 插后立即灌水, 当年苗高可达1 m以上^[6]。

1.2.4 嫁接育苗

砧木苗培育: 刺槐1号(8048)、鲁刺73001、鲁刺73010、鲁刺73042、京刺12、辽刺光8、皖刺1号、皖刺8002、苏刺4号均适宜作砧木的品系。春季清明节前后将根段按20 cm×40 cm株行距埋插。粗根直埋, 细根平埋, 插穗分不清极性者平埋, 覆土1 cm踏实。亦可采用优良无性系的种子播种育苗^[1]。

嫁接: 用一年生、根径1 cm以上的刺槐作砧

木, 选择一年生、芽饱满的四倍体刺槐枝条作接穗, 于3~4月份用袋接或劈接法进行嫁接, 当年苗高可达2 m以上, 成活率可达90%以上。要克服“小脚”现象, 可用普通刺槐根进行袋接, 待接穗成活后再栽植^[8]。

1.3 叶片特征及营养评价

张西秀等^[8]对四倍体刺槐复叶特征进行了研究: 复叶平均节间长3.7 cm, 小叶9~11对, 复叶最大长35 cm, 最大小叶面积49.7 cm², 厚0.65 mm。与同一立地条件下普通刺槐相比, 四倍体刺槐单叶面积是普通刺槐的1.91倍、厚度的1.68倍、复叶鲜质量的3.27倍、干质量的3.13倍。同时也做了四倍体刺槐与二倍体叶片营养的对比, 结果表明, 四倍体刺槐比二倍体粗纤维高0.5个百分点、粗蛋白高0.2个百分点、灰分低0.8个百分点, 营养元素P、Mg、Zn、Mn、Fe、Cu的总量高2.7%, Ca的含量高19.5%, P高15.79%, Mn高158.79%, Mg低5.98%, Zn低39.53%, Fe低16.38%, Cu低1.46%。刘涛等^[10]也得到了相近的结果。

2 微体快繁技术及遗传转化

2.1 常规培养因子最佳组合的筛选

从收集的资料看, 在幼芽培养和不定根诱导过程中, 外植体的选择及灭菌、培养条件和激素配比等方面, 不同实验室的结果之间有不同程度的差异。这些结果在一定程度上反映了各个因子的变化区间。

组织培养过程中造成污染的原因多种多样。如外植体、灭菌剂种类、处理方法及时间等不妥, 均可导致培养污染。郭军战等^[1]研究了不同灭菌方法(0.1% HgCl₂、2%次氯酸钠)对离体培养的影响。结果表明, 外植体先用70%酒精灭菌30 s, 再用0.1% HgCl₂灭菌8~10 min效果最好; 外植体最佳长度为1.0~2.0 cm, 最佳外植体是带腋芽(柄下芽)的茎段^[8]。

王树芝等^[12]的试验培养条件为: 光照强度2 000 lx, 每天先照12 h, 培养温度(25±2)℃, pH值5.8; 幼芽培养基MS(WPM)+BA 0.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L, 生根培养基MS(WPM)+NAA 0.25 mg/L+IBA 0.4 mg/L。王侠礼等^[13]的试验幼芽培养条件: 光照强度1 500 lx左右, 每天光照12 h, 培养温度25~27℃, 芽培养基MS+BA 0.5 mg/L+NAA 0.05 mg/L+蔗糖30 g/L; 生根条件: 温度25~27℃、光照强度2 500 lx, 每天光照12 h, 培养基1/2 MS+NAA 0.5 mg/L+蔗糖20 g/L, 生根率可达81%。曹善东^[14]

的试验培养基条件: 光照强度 2 000 ~2 500 lx, 每天光照 14 h, 温度 (23 ±2) ; 幼芽培养基 MS+BA 1.0 mg/L+NAA 0.02 mg/L 和 MS+BA 1.0 mg/L+I-AA 1.0 mg/L, 生根培养基 MS+NAA 0.01 mg/L 或不加激素的 MS 培养基。司守霞等^[5]的试验培养基条件: 光照强度 2 000 lx, 光照时间每天 (14 ±2) h, pH 值 6.0 左右、温度 20 ~28 ; 幼芽培养基 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L, 生根培养基 1/2 MS+NAA 0.2 mg/L+IBA 0.2 mg/L。Shu 等^[6]的试验幼芽培养基为 MS+6-BA 0.5 mg/L+KT 0.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L, 根培养基 1/2 MS+BA 0.25 mg/L; 并用 RAPD 检测证明, 微繁苗的遗传性稳定。董丽芬等^[7]的试验中四倍体刺槐 K₂、K₅ 无性系所需培养条件无显著性差异。芽增殖最佳培养基均为 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L+IBA 0.5 mg/L。

2.2 影响不定根诱导的因素及不定根发育方式的研究

除了上述关于幼芽及生根培养基的综合报道外, 还有一些学者专门就影响不定根诱导的因素和不定根发育过程作了专门研究。不定根诱导的因素可归纳为 4 类: 培养基无机离子含量、激素种类和配比、其他附加物及无根苗的质量。

李云等^[8]采用 3² 析因设计, 二次回归正交设计的方法研究了在培养基中添加植物生长调节剂 NAA 和 IBA 对试管苗生根的影响, 通过统计分析, 选出四倍体宽叶刺槐无性系的适宜生根培养基是 1/2 MS+ IBA 0.4 mg/L+ NAA 0.25 mg/L+蔗糖 2%+琼脂 0.6%。并对四倍体刺槐无性系试管苗不定根的发育过程进行了解剖观察, 结果表明, 试管苗嫩梢无潜伏根原基, 不定根由诱生根原基发育形成, 诱生根原基源于髓射线细胞的分裂和分化。不定根发育过程可划分为 3 个时期: 初生髓射线细胞的分裂和分化期; 不定根原基形成期; 不定根形成期。

王莉等^[9]认为, 影响诱导愈伤组织形成根原基的主要因素是 6-BA 和 NAA 的浓度配比。试验结果表明, 生根培养过程中, 采用 MS 培养基, 激素配比为 MS+NAA 0.3 mg/L 时, 组培苗发根早、根系发达、须根多, 能够形成完整、健壮独立植株; 当培养基中琼脂用量为 6 g/L 时, 可防止“玻璃化”苗出现, 苗木生长势最好。同时, 培养基中无机离子的质量浓度也会影响到组培苗根原基的诱导, 在高离子质量浓度的 MS 培养基上, 生根较晚、且根

系细弱; 在次低离子质量浓度的 1/2 MS 培养基上, 有利于生根, 且根多而粗壮, 发根早; 在最低离子质量浓度的 1/3 MS 培养基上、发根虽早, 但不定根较少且细弱^[10]。

叶景丰等^[11]认为, 影响组培苗生根的因素有 2 个: 无根苗的质量。当幼苗高 2.5 ~4.0 cm、基茎粗 0.08 ~0.12 cm 时, 生根率最高, 且生长健壮。若幼苗已达半木质化, 则不利于组培苗的生根。生产过程中, 应将继代培养和生根培养结合起来, 能生根即生根, 不能生根则继代培养, 这样可充分利用组培苗, 提高工作效率。NAA 和 IBA 的不同浓度组合。试验结果证明, NAA 0.2 mg/L 和 IBA 0.5 mg/L 是最佳组合, 生根率达 85%; NAA 的最大浓度为 1 mg/L, 当超过 1 mg/L 时往往在基部产生很厚的愈伤组织, 不生根或从愈伤组织上生出很粗的根。

2.3 试管苗移栽的研究

试管苗的移栽效果直接影响到微体繁殖的经济效益。影响移栽效果的因素主要有苗龄、炼苗方法和过程、移栽基质及移栽方法等。不同实验室所报道的方法在这些方面有所不同, 但移栽效果却非常接近, 说明试管苗移栽有多种等效方案可供选用。

李云等^[12]的试验表明, 当嫩梢高度达到 3 ~4 cm 时, 转入生根培养基中进行生根培养, 30 d 后把生根的试管苗移至室外, 在自然光下封口炼苗 2 ~3 周后, 将小苗取出, 洗净根部的琼脂, 移栽到经过 2% 的高锰酸钾消毒过的蛭石中, 浇 1 次透水, 用塑料膜保湿, 放于 23 ~28 的温室中生长, 经过 2 ~3 周将苗栽于盛有疏松多孔的移栽基质 (腐叶土 沙石 蛭石=1 1 1) 的营养钵中, 生长温度 20 ~25 , 空气相对湿度 75% 左右。等到雨季将小苗带土坨一块栽入大田, 成活率可达 95% 以上。小苗叶片解剖证明, 叶片栅栏组织与海绵组织的比值按试管苗、蛭石苗和营养钵苗依次增加, 炼苗可使小苗抗逆性增加, 提高移栽成活率。

王侠礼等^[13]将完成生根并达到 1 cm 左右根长的试管苗在 20 、光照强度 3 000 lx 以上的条件下炼苗 1 周; 在移栽前 1 ~2 d 将培养瓶由培养室移至温室并打开瓶塞; 移栽时用清水洗去培养基, 将小苗在 0.1% ~0.3% 硫酸铜溶液中浸泡 3 ~5 min, 移栽到蛭石 沃土 河沙为 1 1.3 1 的营养钵或苗床上, 喷透水, 用塑料薄膜覆盖, 保湿防风。保持苗床温度 25 , 相对湿度 70% ~80%。幼苗成活率可达 90% 以上; 当小苗在苗床上长到 5 cm 左右

时便可移栽到苗圃中。

叶景丰等^[21]将生根后的苗经驯化移栽在细河沙和蛭石(1:1)的基质中,移栽成活率可达93.7%。

2.4 遗传转化的研究

应用转基因技术提高四倍体刺槐的抗逆能力对于拓宽四倍体刺槐适生区域、加快建设西部和谐社会具有重要意义。因此,夏阳等人首先开展了这方面的工作。由于遗传转化过程中,使用GUS报告基因检测目的基因是否在受体植物细胞组织中表达已是广泛应用、较为便捷的转基因植物鉴定方法^[23],所以,他们以所建立的四倍体刺槐高频再生体系为基础,通过农杆菌介导法转化甜菜碱醛脱氢酶基因(BADH),用GUS染色组织分析法探讨了影响四倍体刺槐遗传转化效率的各种因素。结果证明,20 mg/L乙酰香酮可显著提高转化效率,菌液浓度 OD_{600} 值0.3~0.7、预培养2 d为宜,转化后暗培养对转化效率无影响^[24],低pH值(5.8)、肌醇和激素(主要是生长素)的存在、较高的糖浓度以及用愈伤组织作为外植体有利于外源基因的整合。并在此基础上,进行了进一步的转化试验,具体做法和结果是:以愈伤组织为外植体,液体分化培养基(MS+6-BA 2.0 mg/L+HBA 0.2 mg/L)活化农杆菌,转化培养基中附加20 mg/L乙酰丁香酮,菌液浓度 OD_{600} 值0.3~0.7,预培养1~2 d,浸染4~8 min,共培养4~8 d,延迟15 d选择,400 mg/L头孢霉素抑制农杆菌,50 mg/L卡那霉素筛选愈伤组织上的芽,被筛选的芽白化死亡率达96.4%。经PCR和PCR-Southern检测,外源基因已成功整合到植株基因组DNA中,获得了15个转基因植株,转化植株丛生芽的NaCl相对抗性提高了2%~3%^[24]。

3 存在问题及建议

尽管人们对四倍体刺槐的引种试验已做了大量的工作,但仍需要更加完善及进一步研究。如试验布点密度还比较小,试验资料缺乏系统性;造林与栽培管理技术的研究深度和广度还不能完全满足生产实际需要;四倍体刺槐枝叶的深加工与青贮技术还不够成熟;还未见到有关四倍体刺槐病虫害发生规律及防治措施的研究报道等。建议今后要在这些方面加大研究力度,以使四倍体刺槐这一优良造林树种早日为我国的经济建设发挥其应有的作用。

关于幼芽和根的最佳培养基因子组合及温室培养条件,各试验结论不一。显然,这是由于各

试验的具体条件、使用材料和观测标准不一所致。若能加强沟通,建立统一标准,以此进行优化试验,则可增加试验结果的统一性和可靠性。

虽然已有了最佳培养条件组合的报道,但都没有关于增殖率及微体繁殖成本的数据。目前对四倍体刺槐微繁技术的难关虽有所突破,但就其成本而言,与生产实际尚有距离。试管苗的生产是由多个环节构成的一个生产系统,因此,今后的主攻方向应是如何利用系统工程原理降低微体繁殖的成本,缩小试管苗与实际生产应用的距离。

随着具有实际生产意义的新基因的不断克隆成功,建立可重复的、高效的、能应用于多种基因的四倍体刺槐基因转化体系具有非常现实和深远的意义。

参考文献:

- [1] 撒文清.四倍体刺槐嫁接育苗技术[J].陕西林业科技,2003,(1):77-79.
- [2] 王树芝.刺槐宽叶四倍体无性系的组织培养[J].植物生理学通讯,1999,35(3):204-205.
- [3] 张西秀.四倍体刺槐的性状表现及繁殖技术[J].林业科技开发,2002,16(6):47.
- [4] 张华林,邓小花.科学利用青绿饲料[J].草业科学,2005,22(1):40-43.
- [5] 周进,李春燕,王莉.西藏四倍体刺槐引种栽培试验初报[J].西藏科技,2003,(11):14-16.
- [6] 李春燕,王莉,刘涛,等.高寒地区四倍体刺槐引种栽培试验[J].中国野生植物资源,2003,22(3):52-54.
- [7] 王秀芳,李悦.区域化试验中饲料型四倍体刺槐生物量比较[J].林业科技,2003,28(2):1-3.
- [8] 李海民.退耕还林(牧)先锋树种——四倍体刺槐[J].林业实用技术,2004,(1):3.
- [9] 胡兴宜,张新叶,杨彦伶,等.四倍体刺槐扦插试验初报[J].湖北林业科技,2004,(3):23.
- [10] 刘涛,李春燕,王莉.西藏引种四倍体刺槐与普通刺槐营养成分对比分析[J].中国野生植物资源,2004,23(2):46.
- [11] 郭军战,舒庆艳,王丽玲,等.四倍体刺槐离体培养中的外植体选择和消毒研究[J].西北林学院学报,2002,17(1):15-18.
- [12] 王树芝,田砚亭,李云.四倍体刺槐无性系组织培养技术的研究[J].核农学报,2002,16(1):40-44.
- [13] 王侠礼,钟士传,曹帮华,等.饲料型刺槐微体快繁技术的研究[J].中国农学通报,2003,19(3):51-53.
- [14] 曹善东.四倍体刺槐组培快繁技术研究[J].山东林业科技,2003,144(1):11-12.
- [15] 司守霞,彭正峰,周青.刺槐离体快繁技术[J].河南林业科技,2004,24(2):1-18.

牛 TMR 饲料在我国推广应用的研究

李桂伶¹, 解朝辉², 李铁军²

(1. 沈阳农业大学高等职业技术学院, 辽宁 沈阳 110122; 2 辽宁众友饲料有限公司, 辽宁 沈阳 110326)

牛 TMR (totally mixed rations) 饲养技术是特指根据牛所处的不同生长发育阶段和不同的生产、生理状态的营养需求和饲养目的, 将牛日粮当中的各种饲料成分, 包括各类粗饲料和精饲料及其他饲料成分, 在特定的搅拌喂料车内生产而成的牛的全价营养日粮。

1 牛 TMR 日粮的突出优点

TMR 日粮混合均匀, 能有效地避免挑食, 从而保证营养均衡性。

能提高日粮干物质的采食量。与传统的粗、精饲料分开饲喂的方法相比, TMR 饲养技术可增加日粮干物质的采食量, 从而有效缓解营养负平衡时期的营养供给问题。

改善饲料适口性。有利于提高低等劣质粗饲料的使用量; 有利于更高效地使用尿素和氨等非蛋白氮物质。

增强瘤胃机能。TMR 日粮将日粮中的碱、酸性饲料均匀混合, 能有效地使瘤胃 pH 值控制在 6.4~6.8, 有利于瘤胃微生物的活性及其蛋白质的

摘要: 牛 TMR 饲料是一种将日粮当中的青粗饲料、精饲料和各种添加剂经科学配制、充分混合之后制成的全价平衡饲料。它具有能够大幅度提高劳动生产效率, 降低生产成本, 提高养牛经济效益等优点。笔者从 TMR 饲料的优点、TMR 技术推广应用的技术、设备条件、TMR 技术发展环境背景, 以及如何因地制宜地发展 TMR 技术等几方面加以阐述。

关键词: 牛; TMR 技术; TMR 饲料

中图分类号: S823.5

文献标识码: A

文章顺序编号: 1672-5190(2008)01-0014-03

合成, 从而避免瘤胃酸中毒和其他许多相关疾病的发生, 实践证明, 使用数月 TMR 日粮可降低消化道疾病 90% 以上。

便于因牛而异更精确控制日粮营养水平。传统饲养饲料投喂误差可达 20% 以上, 而 TMR 日粮饲料投喂精确度可提高 5%~10%。

可提高劳动生产率, 降低管理成本。由于实

收稿日期: 2007-11-12

作者简介: 李佳伶(1970—), 女, 在读硕士研究生, 主要研究方向为生物化学与分子生物学。

〔6〕 Shu Q Y. An effective method for axillary bud culture and RAPD analysis of cloned plants in tetraploid black locust 〔J〕. *Plant Cell Reports*, 2003, 22(3):175-180.

〔7〕 董丽芬, 邢世海, 张宗勤. 四倍体刺槐优良无性系间组织培养比较 〔J〕. *西北林学院学报*, 2003, 18(4):41-43.

〔8〕 李云, 田砚亭, 钱永强, 等. NAA 和 IBA 对四倍体刺槐试管苗生根影响及不定根发育过程解剖观察 〔J〕. *林业科学*, 2004, 40(3):75-79.

〔9〕 王莉, 李春燕, 邢震, 等. 培养基激素配比及琼脂用量对四倍体刺槐组织培养苗生根的影响 〔J〕. *林业科技*, 2004, 29(2):1-2.

〔10〕 王莉, 李春燕. 无机盐质量浓度及激素比对四倍体刺槐组织培养苗生根的影响 〔J〕. *江苏林业科技*,

2003, 30(6):23-25.

〔11〕 叶景丰, 姜总灏. 四倍体刺槐组培瓶苗生根培养及生根苗移栽研究 〔J〕. *辽宁林业科技*, 2004, (1):15-16.

〔12〕 李云, 王树芝, 田燕亭, 等. 四倍体刺槐离体培养及其不定根发育和叶片解剖观察 〔J〕. *中国水土保持科学*, 2003, 1(1):91-94.

〔13〕 Lagasaki T, Mohri T, Lchikawa H, et al. *Agrobacterium tumefaciens* mediated transformation of *Robinia pseudoacacia* 〔J〕. *Plant Cell Reports*, 2000, 19:448-453.

〔14〕 夏阳. 四倍体刺槐转甜菜碱醛脱氢酶基因的研究 〔J〕. *山东林业科技*, 2003, 116(3):56-58.