

生长素与乙烯在沙田柚上胚轴不定芽再生中的作用

黄涛, 董高峰, 张兰英, 李耿光

(中国科学院华南植物研究所, 广东广州 510650)

摘要: 结果表明, 6-BA 只能诱导较低频率的不定芽再生, IBA 的加入可以促进不定芽的再生。从再生率与单位外植体再生芽数综合考虑, 以高浓度 IBA ($1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 与低浓度 6-BA ($0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 配合的效果最佳, 加入生长素极性运输的调节剂 TIBA 与 Flavone 可进一步提高不定芽的再生频率。乙烯抑制上胚轴不定芽的再生, 而乙烯生理作用的拮抗剂 Ag^+ 与生物合成抑制剂 AOA、 Co^+ 可以显著提高不定芽再生频率。水杨酸 (SA) 也抑制不定芽的再生。

关键词: 沙田柚; 不定芽再生; 生长素; 乙烯

中图分类号: Q945 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2003)02-0169-06

Roles of auxin and ethylene in direct bud regeneration from epicotyl of *Citrus grandis* (L.) Osbeck cv. *Shatian Yu*

HUANG Tao, DONG Gao-feng, ZHANG Lan-ying, LI Geng-guang

(South China Institute of Botany, Chinese Academy of Science, Guangzhou 510650, China)

Abstract: The roles of auxin and ethylene in direct bud regeneration from epicotyl of *Citrus grandis* (L.) Osbeck cv. *Shatian Yu* were investigated. The results showed that 6-BA could not induce bud regeneration efficiently. The addition of IBA could promote it synergistically. The best results was obtained with the combination of $1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IBA and $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA in terms of regeneration frequency and regenerated shoot number per explant. The auxin polar transport regulators, TIBA and Flavone, could further improve regeneration frequency. Ethylene inhibited shoot regeneration, while its antagonist, Ag^+ , and synthetic inhibitors, AOA and Co^+ , could significantly improve regeneration frequency. SA also inhibited shoot regeneration.

Key words: *Citrus grandis*; bud regeneration; auxin; ethylene

我国有关柑桔组织培养的研究已先后在柠檬^[1]、甜橙^[2]、金桔^[3]、蕉柑^[4]、红江橙^[5]与四季桔^[6]等品种上有详细报道, 而有关沙田柚的研究较少。前人有关柑桔组织培养的研究大多仅以获得高频的再生体系及离体再生的试管苗为目的, 而各种植物

激素在离体再生与形态建成中的作用及其信号传导途径并没有详细的报道。本文以沙田柚上胚轴为材料初步研究了生长素与乙烯在不定芽直接再生中的作用, 为其它柑桔品种的组织培养提供有益的借鉴。

收稿日期: 2002-03-25; 修订日期: 2002-07-18

基金项目: 国家自然科学基金(39870539); 广东省自然科学基金(980478); 广东省百项创新工程(99B05902X)资助。

作者简介: 黄涛(1972-), 男, 河南正阳县人, 博士, 从事细胞工程研究。

1 材料与方 法

1.1 实生苗培养

除掉种皮的沙田柚 (*Citrus grandis* (L.) Osbeck cv. *Shatian Yu*) 种子先 75% 乙醇表面灭菌 30 s, 后用 0.1% HgCl_2 灭菌 10 min, 无菌水洗 2 次后, 播种于内装有 10 mL 1/2 MS 固体培养基的试管内。在 27 ± 2 °C 黑暗下培养 3 周, 待上胚轴长度约为 7~8 cm 时取出直接用于芽的再生。

1.2 不同细胞分裂素对上胚轴再生的影响

以 MS 为基本培养基, 外加不同浓度的 6-BA (6-Benzyl-aminopurine) 与 TDZ (Thidiazuron), 对照为不加任何激素的 MS 培养基。

1.3 BA 与 IBA 配合对上胚轴再生的影响

以 MS 为基本培养基, 按照试验的要求在基本培养基中加入不同浓度的 6-BA 与 IBA (Indole-3-butyric acid) 的组合 (表 2)。

1.4 外植体部位及光照对上胚轴再生的影响

以附加 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA 与 $1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IBA 的 MS 为培养基, 分别从上胚轴上、中、下部位取外植体在光照与黑暗下培养。

1.5 生长素极性运输调节剂对上胚轴不定芽再生的影响

以附加 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA 与 $1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IBA 的 MS 为培养基, 另外分别加入不同浓度的 TIBA (2, 3, 5-Triiodobenzoic acid), Quercetin (3, 3', 4', 5', 7-pentahydroxyflavone) 与 Flavone (表 4), 三者均过滤加入灭菌后的培养基中。

1.6 乙烯对上胚轴再生的影响

以附加 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA 与 $1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IBA 的 MS 为基本培养基, 分别再加入不同浓度的乙烯释放剂 ethrel、乙烯合成抑制剂 CoSO_4 与 AOA (Aminoxyacetic acid)、乙烯拮抗剂 AgNO_3 与水杨酸 (Salicylic acid) (表 5)。其中 ethrel、AOA 与 AgNO_3 均过滤后加入灭菌的培养基中。

培养基 pH 调为 5.8, 在 121 °C 灭菌 20 min。取上胚轴切成 0.5~1.0 cm 的小段, 平放在培养基上, 在 27 ± 2 °C, 光照强度 $40 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 条件下培养, 每天光照 16 h。每处理有 4 瓶培养基, 每瓶接种 12 个外植体。培养不同时间后, 统计各处理上胚轴切段的再生频率、单位外植体生芽数和再生芽的平均长度。再生频率为每处理中出芽外植体数占外植

体总数的百分比, 平均出芽数为每处理中再生芽的总数与总外植体数的比率, 芽长度为随机统计 20 个外植体再生芽的长度的平均值。各处理的多重比较采用新复极差测验, 显著水平 0.01。

2 结 果

2.1 6-BA 与 TDZ 对上胚轴不定芽再生的影响

当上胚轴切段在附加不同浓度 6-BA 或 TDZ 的 MS 培养基上培养 12 周后, BA 可以诱导不定芽的再生, 随着浓度的升高, 再生频率有所提高, $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA 可以诱导 37.5% 的外植体再生不定芽, 但高于 $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时反而抑制不定芽的再生。6-BA 对于单位外植体的生芽数也具有同样的影响 (表 1)。但所有浓度的 TDZ 均抑制不定芽的再生, 同时 TDZ 处理使上胚轴切段膨胀、开裂, 并诱导黄色疏松的愈伤, 随着浓度的升高, 愈伤率增加 (表 1)。

表 1 6-BA 与 TDZ 对沙田柚上胚轴不定芽再生的影响
Table 1 Influences of 6-BA and TDZ on adventitious shoot regeneration from epicotyl of *C. grandis* Osbeck. cv. *Shatian Yu*

浓度 Concentration ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	再生率 (%) Regeneration frequency	平均出芽数 Shoot number per explant	愈伤率 (%) Callusing frequency	
CK	0.0	$6.25 \pm 0.78 \text{ a}$	$1.2 \pm 0.16 \text{ a}$	0.0
6-BA	0.5	$6.3 \pm 1.1 \text{ a}$	$1.4 \pm 0.31 \text{ a}$	0.0
	1.0	$12.5 \pm 2.3 \text{ b}$	$1.9 \pm 0.44 \text{ b}$	0.0
	1.5	$12.5 \pm 3.8 \text{ b}$	$1.5 \pm 0.23 \text{ a}$	0.0
	2.0	$37.5 \pm 5.6 \text{ c}$	$2.8 \pm 0.58 \text{ c}$	0.0
	3.0	0.00	0.0	0.0
TDZ	0.01	0.00		$50.6 \pm 4.5 \text{ a}$
	0.05	0.00		$70.5 \pm 6.7 \text{ b}$
	0.10	0.00		$75.4 \pm 8.2 \text{ b}$
	0.50	0.00		$94.5 \pm 11.3 \text{ c}$
	1.00	0.00		$81.3 \pm 13.4 \text{ bc}$

2.2 6-BA 与 IBA 组合对上胚轴不定芽再生的影响

为了进一步提高上胚轴不定芽再生频率, 我们研究了 6-BA 与 IBA 组合处理对不定芽再生的影响。上胚轴切段培养 10 周后的统计结果表明, 在某一固定的 IBA 浓度上, IBA 与低浓度的 6-BA 组合时可以诱导较高的不定芽再生频率与单位外植体再生芽数, 随着 6-BA 浓度的增加, 不定芽再生频率与单位外植体芽数降低。IBA 单独并不能诱导不定芽的再生, 但在某一固定的 6-BA 浓度上, 随着 IBA 浓

度的增加,单位外植体再生芽数增加(表 2)。从不定芽再生频率与单位外植体生芽数两者综合考虑,以低浓度 6-BA 与高浓度 IBA 组合较好,当 $1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IBA 与 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA 组合时,其单位外植体生芽数可达到 5.6 个。在下文中上胚轴不定芽再生均以附加 $1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IBA 与 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA 的 MS 为基本培养基。

表 2 6-BA 与 IBA 组合对上胚轴不定芽再生的影响
Table 2 Effects of 6-BA in combination with IBA on adventitious shoot regeneration from epicotyl of *C. grandis*(L.) Osbeck cv. *Shatian Yu*

IBA ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	6-BA ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	再生率(%) Regeneration frequency	平均出芽数 Shoot number per explant
0.5	0.5	$86.67 \pm 8.9 \text{ a}$	$3.7 \pm 0.25 \text{ b}$
	1.0	$70.5 \pm 6.8 \text{ cd}$	$2.1 \pm 0.68 \text{ c}$
	2.0	$40.0 \pm 6.2 \text{ f}$	$1.2 \pm 0.11 \text{ d}$
1.0	0.5	$93.33 \pm 11.2 \text{ a}$	$4.1 \pm 0.82 \text{ b}$
	1.0	$86.67 \pm 8.6 \text{ ab}$	$3.8 \pm 0.58 \text{ b}$
	2.0	$53.33 \pm 9.3 \text{ e}$	$1.4 \pm 0.13 \text{ d}$
1.5	0.5	$80.0 \pm 7.7 \text{ bc}$	$5.6 \pm 0.34 \text{ a}$
	1.0	$90.5 \pm 8.9 \text{ ab}$	$4.0 \pm 0.41 \text{ b}$
	2.0	$56.67 \pm 6.4 \text{ e}$	$1.6 \pm 0.22 \text{ cd}$

2.3 外植体部位与黑暗处理对上胚轴不定芽再生的影响

分别从上胚轴的上、中、下不同部位取外植体切段接种在基本培养基上,然后分别在光照与黑暗下培养。培养 6 周后的结果表明,光照培养条件下,上部与中部的的外植体再生频率相差不大,而下部的的外植体再生频率较高。对于单位外植体再生芽数而言,也以下部的的外植体较高(表 3)。在黑暗条件下,各处理的外植体不能再生不定芽(结果未列出),这说明光照对于不定芽的再生是非常必要的。

表 3 上胚轴不同部位对不定芽再生的影响
Table 3 Effect of epicotyl position on adventitious shoot regeneration

上胚轴部位 Epicotyl position	再生率(%) Regeneration frequency	平均出芽数 Shoot number per explant
上	$56.4 \pm 7.25 \text{ a}$	$2.36 \pm 0.39 \text{ b}$
中	$58.4 \pm 14.5 \text{ a}$	$1.69 \pm 0.16 \text{ a}$
下	$71.8 \pm 15.8 \text{ b}$	$2.78 \pm 0.28 \text{ b}$

2.4 生长素极性运输调节剂对上胚轴不定芽再生的影响

生长素在植物细胞内具有极性运输的特性,三

碘苯甲酸(TIBA)、槲皮素(Quercetin)与黄酮甙(Flavone)均可以调节生长素在细胞内的运输与细胞内生长素的含量。表 2 已经证明生长素的配合可以提高 6-BA 诱导的不定芽再生频率。我们进一步研究了这些生长素极性运输调节剂对不定芽再生的影响。在附加 $1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IBA 与 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA 的 MS 培养基上,分别加入不同浓度的 TIBA、Quercetin 与 Flavone。培养 4 周后的结果表明, $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 TIBA 与 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 Flavone 均可以显著提高不定芽的再生频率与单位外植体生芽数(表 4),而 Quercetin 显著抑制外植体不定芽的再生,并且随着浓度的增加,外植体坏死的比率越大(结果未列出)。

表 4 TIBA、Quercetin 与 Flavone 对上胚轴不定芽再生的影响

Table 4 Effects of TIBA, Quercetin and Flavone treatments on adventitious shoot regeneration from epicotyl of *C. grandis* (L.) Osbeck cv. *Shatian Yu*

生长调节剂($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) Plant growth regulator	再生率(%) Regeneration frequency	平均出芽数 Shoot number per explant
CK	$28.6 \pm 1.7 \text{ d}$	$1.15 \pm 0.14 \text{ c}$
TIBA	0.1	$26.7 \pm 2.2 \text{ d}$
	0.5	$83.3 \pm 8.9 \text{ a}$
	1.0	$51.5 \pm 4.7 \text{ b}$
	3.0	$33.3 \pm 3.2 \text{ d}$
Flavone	0.5	$40.5 \pm 4.8 \text{ cd}$
	1.0	$71.6 \pm 6.5 \text{ a}$
	2.0	$53.3 \pm 6.1 \text{ b}$
	4.0	$46.7 \pm 4.5 \text{ bc}$
	8.0	$23.3 \pm 6.8 \text{ d}$
Quercetin	1.0	$7.67 \pm 4.6 \text{ e}$
	2.0	$6.67 \pm 3.8 \text{ e}$
	4.0	0.0
	8.0	0.0

2.5 乙烯在上胚轴不定芽再生中的作用

乙烯是一类气体的植物激素,在很多生理过程中起着重要的作用。在基本培养基上分别加入乙烯合成抑制剂 AOA 与 CoSO_4 、乙烯作用拮抗剂 AgNO_3 、乙烯释放剂 Ethrel 以及 SA,上胚轴培养 4 周后的结果表明, AgNO_3 、AOA 与 CoSO_4 处理均可以提高不定芽再生频率与单位外植体芽数。其中低浓度 AOA 与 CoSO_4 促进不定芽再生频率与单位外植体芽数,高浓度则抑制。乙烯释放剂 Ethrel 显著抑制不定芽再生与降低单位外植体芽数(表 5),

同时 Ethrel 使外植体膨胀、开裂,部分产生愈伤。SA 也抑制不定芽再生,随着浓度的增加,1.0 mg · L⁻¹ 可以完全抑制不定芽的再生(表 5),其抑制效果强于 Ethrel。

表 5 Ethrel 与乙烯抑制剂及拮抗剂对沙田柚上胚轴不定芽再生的影响

Table 5 Effects of ethrel as well as ethylene antagonist and synthetic inhibitors on adventitious shoot regeneration from epicotyl of *C. grandis* (L.) Osbeck cv. *Shatian Yu*

生长调节剂(mg. L ⁻¹) Plant growth regulator	再生率(%) Regeneration frequency	平均出芽数 Shoot number per explant
CK	31.4 ± 4.2 fg	1.2 ± 0.11 e
AgNO ₃	0.5	63.3 ± 7.5 c
	2.0	78.5 ± 9.6 b
	5.0	61.0 ± 5.4 cd
	7.0	50.2 ± 6.6 de
CoSO ₄	0.2	56.7 ± 7.5 cd
	0.5	83.3 ± 9.2 ab
	0.75	33.3 ± 4.3 fg
	1.0	36.7 ± 5.2 f
AOA	1.0	90.1 ± 8.2 a
	2.0	66.7 ± 7.3 c
	5.0	46.7 ± 6.1 e
	10.0	26.7 ± 3.3 fg
SA	0.2	23.3 ± 4.2 g
	0.5	10.5 ± 3.4 h
	0.75	6.67 ± 2.6 h
	1.0	0.0
Ethrel	0.5	30.4 ± 6.4 fg
	1.0	23.3 ± 4.5 g
	2.0	6.67 ± 1.9 h
	5.0	0.0

3 讨 论

在组织培养中,通常用细胞分裂素可诱导不定芽的再生。但不同种类的细胞分裂素的作用差别很大,6-BA 可以诱导不定芽的再生,而 TDZ 作为活性最强的一种细胞分裂素并通常可以有效地用在多种木本植物的再生体系中^[7],却不能诱导沙田柚上胚轴不定芽的再生(表 1)。通常认为细胞分裂素与生长素的比例决定外植体的分化再生的方向,较高的细胞分裂素与生长素比例将诱导外植体分化芽,而该比例低时有利于诱导外植体根的分化^[8]。通过转化 rolB 基因增加生长素的含量或增加对生长素的

敏感性将有利于生根^[9,10],而转化 CKII 基因将加强细胞分裂素的信号传导而诱导芽的发生^[11]。通过对细胞分裂素或生长素突变体的分析进一步阐明了细胞分裂素与生长素分别诱导芽与根分化的分子机理^[12]。本研究表明适当浓度的生长素有利于不定芽的再生(表 2)。对生长素的需求决定于外植体内的生长素含量及细胞对生长素的敏感性。生长素极性运输抑制剂 TIBA 与 NPA 能抑制 IAA 从植物细胞输出及增加细胞内 IAA 净含量^[13~15]。在本试验中,TIBA 处理可以显著提高不定芽再生频率与单位外植体生芽数(表 4),有可能是改变了细胞内的 IAA 含量所致。Jacobs 与 Gibert (1983)运用单克隆抗体与荧光标记技术鉴定了生长素极性运输抑制剂的结合载体分布在薄壁细胞的下端^[16]。Jacobs 与 Rubery (1988)报道酚类化合物中的黄酮类物质可以取代 NPA 而与输出载体结合,其中 Quercetin 等取代 NPA 的程度与促进 IAA 净吸收量呈显著相关^[17],因此黄酮类物质可能是植物体内 IAA 极性运输的天然调节剂。Beffa (1990)发现 TIBA 抑制 IAA 氧化酶的活性,Quercetin 等黄酮类物质对 IAA 氧化也有抑制作用^[18]。故 TIBA 与黄酮类物质抑制 IAA 的极性运输与氧化,这两方面的作用均可以提高细胞内 IAA 浓度。在本文中,Flavone 促进沙田柚上胚轴不定芽的再生,但 Quercetin 抑制不定芽的再生(表 4),可能的原因是近年来又发现 Quercetin 同时还是酪氨酸激酶抑制剂^[19]及抑制 DNA 合成^[20]。

乙烯是一种分子结构简单的以气态分子存在的植物激素,它在组织培养的过程中因伤害胁迫或生长素的诱导而产生,并对细胞分裂、外植体的分化与再生植株的形态建成产生复杂的影响^[21]。AOA 可以显著抑制 ACC 合成酶的活性及生长素诱导的乙烯产量的增加^[22,23]。Co²⁺ 不仅能抑制生长素、细胞分裂及 Ca²⁺ 引起的乙烯产量的增加,而且可以有效抑制 ACC 氧化酶的活性,使 ACC 不能合成乙烯而造成 ACC 的积累^[24]。Ag⁺ 是乙烯作用的拮抗剂,能阻止因乙烯而引起的种种生理反应。据报道,Ag⁺ 以非竞争方式阻止乙烯与受体结合^[25,26]。Tadeo 等(1995)报道乙烯合成前体 ACC 促进柑桔愈伤组织的形成与乙烯的生成,而 Ag⁺ 与 Co²⁺ 抑制由 ACC 引起的愈伤组织的生长及乙烯的合成^[27]。另外,乙烯也促进由柑桔幼芽^[28]、苜蓿叶柄^[29]、未成熟玉米胚^[30]、向日葵茎尖^[31]、莴苣髓细胞^[32]与油菜上

胚轴^[33]诱导的愈伤组织生长。本研究也表明乙烯释放剂 ethep 处理使沙田柚上胚轴切段膨胀、开裂, 并产生黄色疏松的愈伤组织。乙烯对外植体直接出芽的抑制在很多植物的再生体系中得到了证实, 并且乙烯的抑制可以被 Ag^+ 、 Co^{2+} 与 AOA 所逆转^[34~37]。本研究结果也证实乙烯处理显著降低沙田柚上胚轴切段的再生频率, 而乙烯作用拮抗剂 Ag^+ 及其合成抑制剂 Co^{2+} 与 AOA 处理提高不定芽的再生频率(表 5)。水杨酸(SA)近年来被当作一种新的植物激素越来越受到广泛的研究。据报道水杨酸可以抑制乙烯的合成^[38], 而 Meijer 与 Brown(1988)报道 AVG、AOA 与 SA 都抑制苜蓿体细胞胚的形成, 但不影响乙烯的产量, 其中 SA 反而提高乙烯的生成量^[39]。SA 促进乙烯的生成量在马铃薯切片中也得到证实^[40]。本研究结果证明 SA 显著降低沙田柚上胚轴不定芽的再生频率, 其抑制效果比乙烯更强烈(表 5), 这还需要进一步的证实。

参考文献:

- [1] 杨乃傅. 柑桔与金桔的器官发生研究[J]. 植物生理学通讯, 1983, 6: 33—37.
- [2] 林伯年, 胡春根, 沈德绪, 等. 甜橙成年树侧芽离体繁殖诱导成苗的研究[J]. 园艺学报, 1992, 19(3): 209—214.
- [3] 王秀琴, 王闰珍, 林 荣. 金柑组织培养研究[J]. 中国柑桔, 1984, (4): 19—21.
- [4] 贺 红, 李耿光, 张兰英, 等. 蕉柑组织培养与植株再生的研究[J]. 华南师范大学学报(自然科学版), 1997, (4): 63—66.
- [5] 贺 红, 韩美丽, 李耿光, 等. 红江橙不同外植体离体培养的研究[J]. 热带亚热带植物学报, 1997, 5(2): 85—88.
- [6] 贺 红, 潘瑞炽, 何亚文, 等. 影响四季桔器官发生的因素[J]. 热带亚热带植物学报, 1997, 5(3): 53—56.
- [7] Huetteman CA, Preece JE. Thidiazuron: a potent cytokinin for woody plant tissue culture[J]. *Plant Cell Tiss Organ Cult.*, 1993, 33: 105—119.
- [8] Skoog F, Miller CO. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissues cultured in vitro [J]. *Symp Soc Exp Biol*, 1957, 11: 118—131.
- [9] Maurel C, Barbier-Brygoo H, Spena A, et al. Single rol genes from *Agrobacterium rhizogenes* TL-KNA alter some of the cellular responses to auxin in *Nicotiana tabacum* [J]. *Plant Physiol*, 1991, 97: 212—216.
- [10] Schmülling T, Fladung M, Grossmann K, et al. Hormonal content and sensitivity of transgenic tobacco and potato plants expressing single rol genes of *Agrobacterium rhizogenes* T-DNA [J]. *Plant J.*, 1993, 3: 371—382.
- [11] Kakimoto T. CKI1, a histidine kinase homolog implicated in cytokinin signal transduction [J]. *Science*, 1996, 274: 982—985.
- [12] Frank M, Ruop H-M, Prinsen E, et al. Hormone autotrophic growth and differentiation identifies mutant lines of *Arabidopsis* with altered cytokinin and auxin content or signaling [J]. *Plant Physiol*, 2000, 122: 721—729.
- [13] Estelle M. Polar auxin transport. New support for an old model [J]. *Plant Cell*, 1998, 10: 1 775—1 778.
- [14] Estelle M. Transporters on the move [J]. *Nature*, 2001, 413: 374—375.
- [15] Palme K, Galweiler L. PIN-pointing the molecular basis of auxin transport [J]. *Curr Opin Plant Biol*, 1999, 2: 375—381.
- [16] Jacobs M, Gilbert SF. Basal localization of presumptive auxin transport carrier in pea stem cell membranes [J]. *Science*, 1983, 220: 1 297—1 300.
- [17] Jacobs MJ, Rubery PH. Naturally occurring auxin transport regulators [J]. *Science*, 1988, 241: 346—349.
- [18] Beffa R, Martin HV, Pilet P-E. In vitro oxidation of indoleacetic acid by soluble auxin-oxidases and peroxidases from maize roots [J]. *Plant Physiol*, 1990, 94: 485—491.
- [19] Huang YT, Hwang JJ, Lee PP, et al. Effects of luteolin and quercetin, inhibitors of tyrosine kinase, on cell growth and metastasis-associated properties in A431 cells overexpression epidermal growth factor receptor [J]. *Br J Pharmacol*, 1999, 128: 999—1 010.
- [20] Uddin S, Chaudhry MA. Quercetin, a bioflavonoid, inhibits the DNA synthesis of human leukemia cells [J]. *Biochem Mol. Biol. Int.*, 1995, 36(3): 545.
- [21] Yang SF, Hoffman NE. Ethylene biosynthesis and its regulation in higher plants [J]. *Ann Rev Plant Physiol*, 1984, 34: 155—189.
- [22] Yu YB, Adams DO, Yang SF. Regulation of auxin-induced ethylene production in mung bean hypo-

- cotyls. Role of 1-amino-cycloprane-1-carboxylic acid [J]. *Plant Physiol.* 1979, **63**: 589—590.
- [23] Yu YB, Adams DO, Yang SF. 1-aminocycloprane-1-carboxylate synthase, a key enzyme in ethylene biosynthesis[J]. *Arch Biochem Biophys*, 1979, **198**: 280—286.
- [24] Bradford KJ, Hsiao TC, Yang SF. Inhibition of ethylene synthesis in tomato plants subjected to anaerobic root stress[J]. *Plant Physiol.* 1982, **70**: 1503—1507.
- [25] Beyer Jr EM. A potent inhibitor of ethylene action in plants[J]. *Plant Physiol.* 1976, **58**: 268—271.
- [26] Beyer Jr EM. Effect of silver ion, carbon dioxide, and oxy-gen on ethylene action and metabolism[J]. *Plant Physiol.* 1979, **63**: 169—173.
- [27] Tadeo FR, Tudela D, Primo-Millo E. 1-aminocycloprane-1-carboxylic acid-induced ethylene stimulates callus formation by cell enlargement in the cambial region of internodal explants of citrus[J]. *Plant Sci.* 1995, **110**: 113—119.
- [28] Goren R, Altman A, Giladi I. Role of ethylene in abscisic acid-induced callus formation in citrus bud cultures[J]. *Plant Physiol.* 1979, **63**: 280—282.
- [29] Kepczynski J, Mckersie BD, Brown DCW. Requirement of ethylene for growth of callus and somatic embryogenesis in *Medicago Sativa* L[J]. *J. Exp. Bot.* 1992, **43**: 199—202.
- [30] Vain P, Flament P, Soudain P. Role of ethylene in embryogenic callus initiation and regeneration in *Zea Mays* L[J]. *J Plant Physiol.* 1989, **135**: 537—540.
- [31] Robinson KEP, Adams DO, Lee RY. Differential physiological and morphological responses of inbred lines to the ethylene precursor 1-aminocycloprane-1-carboxylic acid by cultured *Helianthus annuus* (Sunflower) shoot tips[J]. *Plant Cell Rep.* 1987, **6**: 405—409.
- [32] Zobel RW, Roberts LW. Effects of low concentrations of ethylene on cell division and cytodifferentiation in lettuce pith explants[J]. *Can J. Bot.* 1978, **56**: 987—990.
- [33] Sethi U, Basu A, Mukherjee SG. Control of cell proliferation and differentiation by modulators of ethylene biosynthesis and action in *Brassica hypocotyl* explants[J]. *Plant Sci.* 1990, **69**: 225—229.
- [34] Chraibi BKM, Latche A, Roustan JP, *et al.* Stimulation of shoot regeneration from cotyledons of *Helianthus annuus* by the ethylene inhibitors: silver and cobalt [J]. *Plant Cell Rep.* 1991, **10**: 204—207.
- [35] Palmer CE. Enhanced shoot regeneration from *Brassica campestris* by silver nitrate [J]. *Plant Cell Rep.* 1992, **11**: 541—545.
- [36] Chi GL, Pua EC, Goh CJ. Role of ethylene on de novo shoot regeneration from cotyledonary explants of *Brassica campestris* ssp. *Pekinensis* (Lour) Oison in vitro [J]. *Plant Physiol.* 1991, **96**: 178—183.
- [37] Mohiuddin AKM, Chowdhury MKU, Abdullah ZC, *et al.* Influence of silver nitrate (ethylene inhibitor) on cucumber in vitro shoot regeneration[J]. *Plant Cell Tiss Org Cult.* 1997, **51**: 75—78.
- [38] Leslie CA, Romani RJ. Salicylic acid: a new inhibitor of ethylene biosynthesis [J]. *Plant Cell Rep.* 1986, **5**: 144—166.
- [39] Meijer EGM, Brown DCW. Inhibition of somatic embryogenesis in tissue cultures of *Medicago Sativa* by aminoethoxyvinylglycine, amino-oxyacetic acid, 2,4-dinitrophenol and salicylic acid at concentrations which do not inhibit ethylene biosynthesis and growth[J]. *J Exp Bot.* 1988, **39**(199): 263—270.
- [40] Liang WS, Liang HG. Enhancement of ethylene production by salicylic acid during aging of potato tuber slices [J]. *Acta Phytophysiologica Sinica*, 1998, **24**: 11—16.