东北百里香组培再生体系的建立

王 玲*, 杨丽鹏, 张秀珍, 马喜娟

(东北林业大学园林学院, 哈尔滨 150040)

摘 要: 以中国特有地被植物东北百里香为试材, 研究了植物生长调节剂组合对腋芽萌发和茎段、叶片外植体愈伤诱导和不定芽分化的影响。结果表明: 百里香茎段腋芽可直接诱导萌发, 在 MS + 6-BA 0.5 mg · L⁻¹ + NAA 0.1 mg · L⁻¹ 培养基上萌发率最高, 达 74%, 在 MS + 6-BA 0.5 mg · L⁻¹ + NAA 0.1 mg · L⁻¹ 的培养基上增殖倍数为 36.43。由茎段萌发的组培苗在 1/2MS + IBA 0.5 mg · L⁻¹ 的培养基中 20 d 后生根率 100%, 移栽成活率 76.7%。继代培养中叶片外植体可以诱导出愈伤组织, 但是不能进一步分化成苗。茎段愈伤诱导的最适培养基为 MS + 6-BA 0.5 mg · L⁻¹ + 2,4-D 1.0 mg · L⁻¹, 再分化培养基为 MS + 6-BA (0.1 ~ 1.0) mg · L⁻¹ + GA₃ (0.1 ~ 0.5) mg · L⁻¹, 分化率为 33.3%。

关键词: 东北百里香; 再生体系; 植物生长调节剂

中图分类号: S 685

文献标识码: A

文章编号: 0513-353X (2011) 06-1185-06

The Establishment of the Adventitious Bud Regeneration System of *Thymus manschuricus*

WANG Ling*, YANG Li-peng, ZHANG Xiu-zhen, and Ma Xi-juan

(The College of Landscape Architecture, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China)

Abstract: Understand the effect of different combinations of plant growth regulators on bud germination, callus growth induction of stem and leaves, and the regeneration of adventitious buds, by using different tissues of *Thymus manschuricus* Ronn., an endemic ground-cover species of China, as explants. The research results indicated that the axillary buds of *Th. manschuricus* can directly germinate in MS + 6-BA 0.5 mg · L⁻¹ + NAA 0.1 mg · L⁻¹ and the germination rate was 74%. The proliferation of axillary buds on MS medium containing 0.5 mg · L⁻¹ 6-BA and 0.01 mg · L⁻¹ NAA was achieved to 36.43. The best medium for rooting was 1/2MS + IBA 0.5 mg · L⁻¹. The rooting ratio was 100%. The survival rate reaches 76.7%. Callus can be induced through the leaf in subculture but can not develop further. The optimizing medium for pedicels explants inducing callus is MS + 6-BA 0.5 mg · L⁻¹ + 2,4-D 1.0 mg · L⁻¹ and inducing multiple buds is MS + 6-BA (0.1 - 1.0) mg · L⁻¹ + GA₃ (0.1 - 0.5) mg · L⁻¹ with the buds induction frequency of 33.3%.

Key words: *Thymus manschuricus*; adventitious bud regeneration system; plant growth regulator

东北百里香 (*Thymus manschuricus* Ronn.) 为百里香属 (*Thymus*) 矮生木本地被植物, 为中国

收稿日期: 2011 - 04 - 06; 修回日期: 2011 - 06 - 07

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30872062); 中央高校基本科研业务费专项 (DL09CA10); 黑龙江省自然科学基金项目 (C200811); 哈尔滨市科技攻关项目 (2008AA6CN090); 东北林业大学研究生科技创新项目

* E-mail: wanglingyaoyao@yahoo.com.cn

特有种(中国科学院中国植物志编辑委员会, 1978), 仅分布在黑龙江省帽儿山山顶。东北百里香株形良好, 耐干旱, 耐践踏, 免修剪, 作为城市观花和芳香地被植物, 其应用前景广阔, 可以用作观赏地被、芳香疗养功能地被、护坡地被等。但原本有限的资源由于人为干扰破坏, 现存数量急剧减少, 为了有效保护和利用该资源, 快速有效的繁殖方法研究非常必要(王玲和苏含英, 2008)。

目前对百里香属植物的研究主要集中在百里香的精油提取、抗菌作用(张继等, 2004; 张知侠, 2004; Rasooli et al., 2006; 邓盾, 2009; Toro-Sánchez et al., 2010)、化感作用(侯维, 2007; Shati & Elsaid, 2009)、药用价值(王全林, 1998)、萜类成分提取(Vasilenko et al., 1978)等方面。关于百里香属植物的组织培养和快繁技术研究虽已有一些报道(赵庆臻等, 2002; 沙红, 2004; 魏艳等, 2007; 李晓东等, 2009), 但繁殖系数不高, 有待进一步优化。

本研究的目的是建立东北百里香有效的组织培养再生体系, 保护有限的野生资源, 为园林推广应用供应大量的种苗, 并为进一步开展百里香属植物的基因转化、品种改良等工作奠定基础。

1 材料与amp;方法

1.1 材料及外植体处理

供试的东北百里香取自东北林业大学园林学院苗圃, 于2009年6月在晴天的上午或中午使用消毒过的剪刀采集带腋芽的茎段, 在洗衣粉水中浸泡15 min, 自来水冲洗1~2 h后, 置于超净工作台上, 用75%的酒精浸泡10~30 s, 无菌水冲洗4~6遍, 然后加入2%的次氯酸钠或1%升汞, 杀菌5~20 min, 无菌水冲洗4~6遍, 用无菌滤纸吸干材料表面水分, 切割成1~1.5 cm长的茎段。

1.2 茎段腋芽萌发诱导

将带有腋芽的茎段接入到(1)初代培养基+6-BA(0.1、0.3、0.5、0.8、1.0、1.5和2.0) $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 组合;(2)MS、6-BA(0.01、0.05、0.1、0.3、0.5和1.0) $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +NAA 0.1 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 组合的培养基上。每处理接种30个外植体, 重复3次, 10 d左右观察各培养基中腋芽的萌发程度。

1.3 叶片及茎段愈伤组织的诱导及不定芽的分化

无菌叶片切割成约0.5 cm^2 的小块远轴面朝下, 无菌茎段切割成0.5 cm小段, 接种到由6-BA和组合的愈伤组织诱导培养基上, 每处理接种30个外植体, 重复3次, 30 d后统计愈伤组织诱导率并记录生长状况。再将生长状态良好, 颜色浅绿色, 较透明, 质地疏松的胚性愈伤组织转接到不同组合的培养基上, 叶片愈伤组织分化培养基组合分别为: 6-BA和NAA; 6-BA和 GA_3 ; 6-BA、 GA_3 和IBA以及6-BA和 GA_3 的组合。茎段愈伤组织分化培养基组合为6-BA和2,4-D。每处理接种50个外植体, 重复3次, 30 d后统计不定芽分化率并记录生长情况。

1.4 生根与移栽

茎段腋芽萌发形成的再生苗在锥形瓶中长到2 cm左右时转入1/2MS培养基以及1/2MS+IAA 0.1、0.5、1.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和1/2MS+IBA 0.1、0.5、1.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的生根培养基上。

当根长2~3 cm时进行移栽。移栽前先在组培室半开口膜放置1 d, 再去掉封口膜放置1 d, 然后用镊子小心取出小苗, 用自来水冲去附着在根上的培养基, 放入装有自来水的三角瓶中培养2 d, 炼苗结束后将小苗移栽到已灭菌的蛭石中, 浸透水后放入人工气候箱内缓苗, 15 d后移到温室, 30 d后统计成活率。

2 结果与分析

2.1 不同浓度 6-BA 和 NAA 组合对东北百里香腋芽萌发和增殖的影响

在 MS 培养基上, 带腋芽的茎段培养 10 d 左右有不同程度的萌发, 仅加 6-BA, 茎段的腋芽 10 d 开始增殖, 4~5 周可获得大量的丛生芽。但 6-BA 0.8~1.5 mg·L⁻¹ 时, 诱导的部分丛生芽出现玻璃化现象。培养基中加 NAA, 芽的长度明显增长, 且部分出现愈伤组织。东北百里香腋芽萌发的最适培养基为 MS + 6-BA 0.5 mg·L⁻¹ + NAA 0.1 mg·L⁻¹。腋芽可直接萌发增殖 (图版, 1)。

将带腋芽的无菌苗接种到不同浓度 6-BA 和 0.1 mg·L⁻¹ NAA 组合的增殖培养基上, 10~15 d 所有腋芽基部开始有丛生芽萌发, 接种 30 d 后 (表 1), 在 6-BA 为 0.5 mg·L⁻¹ 时, 增殖倍数为 36.43, 丛生芽长势健壮 (图版, 1、7); 但随着 6-BA 浓度升高, 玻璃化现象严重 (图版, 8)。因此, 东北百里香腋芽增殖最佳培养基也为 MS + 6-BA 0.5 mg·L⁻¹ + NAA 0.1 mg·L⁻¹。

表 1 不同浓度 6-BA 对东北百里香腋芽增殖的影响

Table 1 Effects of different concentrations of 6-BA on the multiplication of axillary buds of *Th. manschuricus*

6-BA/ (mg·L ⁻¹)	NAA/ (mg·L ⁻¹)	增殖倍数 Breeding ratio
0.1	0.1	3.06 ± 0.15e
0.3	0.1	8.87 ± 0.35d
0.5	0.1	36.43 ± 1.07c
0.8	0.1	44.73 ± 1.20b
1.0	0.1	50.33 ± 1.15a
1.5	0.1	44.66 ± 0.51b
2.0	0.1	4.10 ± 0.36e

注: 基本培养基 MS。所有数据为培养 30 d 时的统计值; 差异显著水平为 0.05。下同。

Note: Base medium is MS. Data were recorded after 30 days of culture on induction mediums; The significant difference is 0.05. The same below.

2.2 不同浓度 NAA 和 IBA 对东北百里香生根的影响

当继代苗高为 2~3 cm 时转入添加了 IAA 0.1、0.5 和 1.0 mg·L⁻¹ 和 IBA 0.1、0.5 和 1.0 mg·L⁻¹ 的 1/2MS 生根培养基中, 5 d 左右幼叶开始伸展并有新根产生。在未添加的 1/2MS 培养基中, 生根率达 76.7%, 但根的数量较少; 加入 IAA 和 IBA 后, IBA 更有利于生根 (图版, 9、10)。培养 20 d 时, 在加入 IBA 0.5 mg·L⁻¹ 的培养基中生根率达到 100%, 平均根长 2.12 cm, 组培苗健壮, 移栽成活率达 76.7% (图版, 11、12)。

2.3 叶片外植体愈伤组织诱导及不定芽的分化

由表 2 可知, 叶片在愈伤组织诱导培养基上培养 5 d 后, 开始变脆并卷曲, 切口处开始明显膨

表 2 不同的生长调节剂组合对东北百里香叶片愈伤组织诱导的影响

Table 2 Effect of different plant growth regulators combinations on production of leaf callus of *Th. manschuricus*

6-BA/ (mg·L ⁻¹)	2,4-D/ (mg·L ⁻¹)	NAA/ (mg·L ⁻¹)	外植体数 Number of explants	愈伤诱导率/% Callus formation rate	分化率/% Differentiation rate
0	0	0	50	0 h	0
0.3	0	0.3	50	99.67 ± 0.58 ab	0
0.5	0	0.5	50	99.67 ± 0.58 ab	0
1.0	0	1.0	50	99.67 ± 0.58 ab	0
0	0.5	0.3	50	76.00 ± 2.00 f	0
0.3	0.5	0	50	97.67 ± 0.58 c	0
0.5	0.5	1.0	50	98.00 ± 0 bc	0
1.0	0.5	0.5	50	100.00 ± 0 a	0
0	1.0	0.5	50	96.00 ± 2.00 d	0
0.3	1.0	1.0	50	90.00 ± 1.00 e	0
0.5	1.0	0	50	100.00 ± 0 a	0
1.0	1.0	0.3	50	99.67 ± 0.58 ab	0
0	2.0	1.0	50	58.67 ± 0.58 g	0
0.3	2.0	0.5	50	99.67 ± 0.58 ab	0
0.5	2.0	0.3	50	99.67 ± 0.58 ab	0
1.0	2.0	0	50	99.67 ± 0.58 ab	0

大。培养 10~15 d 时,大多数处理中的叶片均开始产生愈伤组织,30 d 后除不添加植物生长调节剂的 MS 培养基外,其他所有处理都可产生愈伤组织。其中愈伤诱导率高,(达 100%),且长势好,表现为黄绿色较疏松(图版,2)。MS + 6-BA $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + 2,4-D $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 诱导出的愈伤组织切割成小块转接到(1) MS + 6-BA (0.1, 0.5, 1.0, 2.0) $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + IBA $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + GA₃ (0.05, 0.1, 0.5) $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$; (2) MS + 6-BA (0.1, 0.5, 1.0) $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + GA₃ $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; (3) MS + 6-BA $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + GA₃ $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 组合的培养基上,40 d 后,在大部分组合上的愈伤组织出现增殖现象,但未见分化(图版,3)。当 6-BA 浓度为 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, GA₃ 浓度为 $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, IBA 浓度为 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,叶片愈伤组织部分褐化。可见,东北百里香叶片愈伤组织诱导分化出芽是相对较困难的。

图版说明: 1. 腋芽直接诱导萌发出定芽; 2. 叶片诱导出愈伤组织; 3. 叶片愈伤组织增殖但不分化; 4. 茎段诱导出愈伤组织; 5. 茎段愈伤组织加入 GA₃ 后出现刺状物的愈伤组织; 6. 茎段愈伤组织分化出不定芽; 7. 再生苗的增殖培养; 8. 增殖苗的玻璃化现象; 9. 再生苗生根; 10. 再生苗的根; 11. 炼苗; 12. 再生苗移栽生根。

Explanation of plates: 1. The axillary buds of *Th. manschuricus* can directly germination; 2. Callus from leaves explants; 3. Leaf callus can proliferate but cannot differentiate; 4. Callus from leaves explants stem section; 5. Callus changes to needling after adding GA₃; 6. Regeneration of adventitious buds; 7. Multiplication of plants; 8. Vitrified buds from proliferation seedlings; 9. Rooting of planets; 10. Root of planets; 11. Hardening of plantlet; 12. Survived *in vitro* plantlets.

2.4 茎段愈伤组织诱导及不定芽的分化

茎段在不同生长调节剂组合的愈伤组织诱导培养基上培养 10~15 d 时开始产生愈伤组织。东北百里香的茎段比较容易产生愈伤组织,但只有组合为 MS + 6-BA $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + 2,4-D $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时产生的愈伤组织较为疏松,长势较好(图版,4)。

在大多数诱导分化培养基上, 东北百里香茎段愈伤组织未见分化, 只有在去掉 IBA 并添加赤霉素的组合中的愈伤组织有分化, 其中在 6-BA ($0.1 \sim 1.0$) $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + GA₃ ($0.1 \sim 0.5$) $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的分化培养基上, 茎段愈伤组织愈分化出芽, 分化率最高为 32.67% (表 3 及图版, 5、6)。分化出的不定芽再进行增殖、生根培养, 最终可以得到再生植株。

表 3 不同生长调节剂组合对东北百里香茎段愈伤组织分化的影响

Table 3 Effect of growth regulator combinations on adventitious bud differentiation from the stem callus of *Th. manschuricus*

6-BA/ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	IBA/ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	GA ₃ / ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	分化率/% Differentiation ratio	6-BA/ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	IBA/ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	GA ₃ / ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	分化率/% Differentiation ratio
0.1	0.1	0.05	0	0.1	0.1	0.05	0
0.5	0.1	0.05	0	2.0	0.1	0.5	0
1.0	0.1	0.05	0	0.1		0.05	0
2.0	0.1	0.05	0	0.5		0.05	0
0.1	0.1	0.1	0	1.0		0.05	0
0.5	0.1	0.1	0	0.1		0.1	12.00 ± 3.00 d
1.0	0.1	0.1	0	0.5		0.1	32.67 ± 2.52 a
2.0	0.1	0.1	0	1.0		0.1	22.00 ± 1.00 b
0.1	0.1	0.5	0	0.1		0.5	7.00 ± 1.00 e
0.5	0.1	0.5	0	0.5		0.5	16.00 ± 1.00 c
1.0	0.1	0.5	0	1.0		0.5	9.67 ± 0.58 de

3 讨论

本研究中, 在 MS 培养基上, 东北百里香茎段的腋芽可以直接诱导萌发; MS 中仅加 6-BA, 茎段腋芽 10 d 开始增殖; 加 6-BA 和 NAA, 由腋芽萌发的定芽长度明显增长和大量增殖并且部分出现愈伤组织。这与李晓东等 (2009) 对银斑百里香 (*Th. vulgaris*) 定芽的诱导有相似之处。

Mendes 等 (1999) 以乳香百里香 (*Th. mastichina* L.) 茎段为外植体, MS 为基本培养基, 认为 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ BAP 有利于乳香百里香的增殖, $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA 有利于生根。本研究中东北百里香的最佳增殖培养基为 MS + 6-BA $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, MS + IBA $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 增殖倍数为 36.43, 这高于沙红 (2004) 对银斑百里香 (*Th. vulgaris* L.) 增殖培养得到的增殖倍数 4.24, 也高于杨莉等 (2010) 对银斑百里香 (*Th. vulgaris*) 增殖 5.97 倍的研究, 高繁殖倍数的获得除了可能与不同种和不同植物生长调节剂有关外, 还可能与光照、温度等因素有关。

在东北百里香愈伤组织诱导中, 叶片的愈伤组织诱导率达到 100%, 但是叶片愈伤分化很困难且容易褐化。有些芳香植物如甘草 (于林清 等, 1999)、山苍子 (马崇坚和邓艳敏, 2005) 等也会出现类似的现象, 其原因可能是因为芳香植物的成分易氧化导致其分化困难。

东北百里香茎段愈伤组织的诱导在 MS + 6-BA $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + 2,4-D $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时愈伤组织较为疏松, 长势较好。在 MS + 6-BA ($0.1 \sim 1.0$) $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + GA₃ ($0.1 \sim 0.5$) $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 中, 茎段愈伤组织分化出芽, 分化率最高达 33%。这证明百里香属植物愈伤组织分化不定芽是可行的。本研究中虽获得了愈伤组织分化的不定芽, 但分化率不是很高, 今后可以在此基础上进一步优化培养基的配方, 提高分化率。

References

- Chinese Academy of Sciences in China Plant Volunteer Editors Committee (Yunnan Institute of Botany). 1978. Flora of China. Beijing: Science Press. (in Chinese)
- 中国科学院中国植物志编辑委员会 (云南植物研究所). 1978. 中国植物志 (第 2 分册). 北京: 科学出版社.
- Deng Dun. 2009. Tissue culture and analysis of essential oil from plant tissue cultures of *Thymus vulgaris* [M. D. Dissertation]. Guangzhou: Jinan

- University. (in Chinese)
- 邓 盾. 2009. 百里香组织培养及其组织培养物中精油成分的分析[硕士论文]. 广州: 暨南大学.
- Hou Wei. 2007. Studies on the allelopathy and the identification of allelopathical substance of *Thymus vulgaris* L. [M. D. Dissertation]. Sichuan: Sichuan Agricultural University. (in Chinese)
- 侯 维. 2007. 百里香化感作用研究与化感物质鉴定[硕士论文]. 四川: 四川农业大学.
- Li Xiao-dong, Wang Yong-fei, Ma San-mei, Cheng Zhi-hui, Deng Dun. 2009. Tissue culture and rapid propagation of *Thymus vulgaris*. Hubei Agricultural Sciences, 48 (6): 1294 - 1297. (in Chinese)
- 李晓东, 王永飞, 马三梅, 程智慧, 邓 盾. 2009. 普通百里香的组织培养和快速繁殖. 湖北农业科学, 48 (6): 1294 - 1297.
- Ma Chong-jian, Deng Yan-min. 2005. Culture of the *Litsea cubeba* of buds. Guangxi Sciences, 12 (2): 156 - 157, 160. (in Chinese)
- 马崇坚, 邓艳敏. 2005. 山苍子带芽茎段的组织培养. 广西科学, 12 (2): 156 - 157, 160.
- Mendes M L, Romano A. 1999. *In vitro* cloning of *Thymus mastichina* L. field grown plants. Acta Horticulture (ISHS), 502: 303 - 306.
- Rasooli I, Rezaei M B, Allameh A. 2006. Ultrastructural studies on antimicrobial efficacy of thyme essential oils on *Listeria monocytogenes*. International Journal of Infectious Diseases, 10 (3): 236 - 241.
- Sha Hong. 2004. Study on micro propagation technique of plant tissue culture of several medicinal aromatic plants[M. D. Dissertation]. Xinjiang: Xinjiang Agricultural University. (in Chinese)
- 沙 红. 2004. 几种药用芳香植物组织培养快速繁殖的研究[硕士论文]. 新疆: 新疆农业大学.
- Shati A, Elsaid F G. 2009. Effects of water extracts of thyme (*Thymus vulgaris*) and ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) on alcohol abuse. Food and Chemical Toxicology, 47: 1945 - 1949.
- Toro-Sánchez C L del, Ayala-Zavala J F, Machi L, Santacruz H, Villegas-Ochoa M A, Alvarez-Parrilla E, González-Aguilar G A. 2010. Controlled release of antifungal volatiles of thyme essential oil from β -cyclodextrin capsules. Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry, 67 (3 - 4): 431 - 441.
- Vasilenko Y K, Oganessian É T, Lisevitskaya L I, Aleksanyan R A, Shinkarenko A L, Simonyan A V, Golovina T N, Milenina N G, Frolova L M, Asatryan O T, Tolarenko L F. 1978. Isolation and physiological activity of triterpene compounds found in residues of industrial thyme extraction. Pharmaceutical Chemistry Journal, 12 (9): 1165 - 1169.
- Wang Ling, Su Han-ying. 2008. Shoot cutting propagation of four species of *Thymus* genus in Heilongjiang Province. Journal of Northeast University, 36 (1): 12 - 13, 30. (in Chinese)
- 王 玲, 苏含英. 2008. 黑龙江省4种百里香属植物嫩枝的扦插繁殖. 东北林业大学学报, 36 (1): 12 - 13, 30.
- Wang Quan-lin. 1998. Research into the medical component of thyme and its clinical appliance. Journal of Guyuan Teachers College, 19 (6): 39 - 42. (in Chinese)
- 王全林. 1998. 百里香营养成分分析及开发应用. 固原师专学报, 19 (6): 39 - 42.
- Wei Yan, Nie Yan-xia, Zhao Hui-en, Li Qing. 2007. Tissue culture of *Thymus Serpyllum* var. *mongolicus* Ronn. Plant Physiology Communications, 43 (3): 516. (in Chinese)
- 魏 艳, 聂艳霞, 赵慧恩, 李 青. 2007. 百里香的组织培养. 植物生理学通讯, 43 (3): 516.
- Yang Li, Li Xiao-dong, Li Jian-guo. 2010. Study on propagation of adventitious bud of *Thymus vulgaris*. Hubei Agricultural Sciences, 48 (6): 1807 - 1809. (in Chinese)
- 杨 莉, 李晓东, 李建国. 2010. 百里香不定芽的增殖研究. 湖北农业科学, 48 (6): 1807 - 1809.
- Yu Lin-qing, He Mao-tai, Wang Zhao-lan. 1999. Study on techniques for rapid propagation of licorice (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch) by tissue culture. Grassland of China, (1): 12 - 14, 18. (in Chinese)
- 于林清, 何茂泰, 王照兰. 1999. 甘草组织培养快速繁殖技术研究. 中国草地, (1): 12 - 14, 18.
- Zhang Ji, Liu A-ping, Yang Yong-li, Yao Jian. 2004. Studies on the essential chemical constitution of *Thymus serpyllum* L. Journal of Sichuan University: Natural Science Edition, 41 (4): 890 - 892. (in Chinese)
- 张 继, 刘阿萍, 杨永利, 姚 健. 2004. 百里香挥发性成分的研究. 四川大学学报: 自然科学版, 41 (4): 890 - 892.
- Zhang Zhi-xia. 2004. Identification and determination of thyme aromatic oil. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica, 13 (3): 151 - 153. (in Chinese)
- 张知侠. 2004. 百里香芳香油化学成分的研究. 西北农业学报, 13 (3): 151 - 153.
- Zhao Qing-zhen, Yan Hua -chao, Cheng Shuang, Sun Zhen-xiao. 2002. The tissue culture and plant regeneration of ground pepper. Plant Physiology Communications, 38 (4): 357. (in Chinese)
- 赵庆臻, 阎华超, 程 霜, 孙震晓. 2002. 地椒的组织培养及植株再生. 植物生理学通讯, 38 (4): 357.