

甘蓝胚状体诱导成苗因素研究

高海娜¹, 王朝阳¹, 张恩慧²

(1. 安康市农业科学研究所, 陕西 安康 725000; 2. 西北农林科技大学 园艺学院, 陕西 杨凌 712100)

摘 要:以 3 个优良甘蓝品种为试材, 进行了游离小孢子培养和胚状体植株再生技术研究, 以期探讨不同甘蓝材料的基因型、胚状体类型、不定芽大小、烯效唑对不定芽诱导和生根的影响。结果表明: 甘蓝子叶型胚容易发育单芽, 鱼雷型胚和球型胚容易形成丛生芽; 且单芽率和丛生芽率在不同基因型之间存在差异。高度大于 2 cm 的不定芽转接到生根培养基上后生长速度先慢后快, 生根数少且细长; 小于 2 cm 的不定芽生长速度先快后慢, 生根数多且粗壮。小孢子不定芽在添加 0.50 mg/L 烯效唑的 MS+0.3 mg/L NAA 生根培养基中生根率最高且根系生长健壮, 移栽成活率高达 95.6%。

关键词:甘蓝; 小孢子; 子叶型胚; 再生植株

中图分类号:S 635 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)01-0097-05

甘蓝游离小孢子培养技术是一种单倍体育种技术, 是缩短甘蓝育种年限、培养甘蓝新品种资源、提高育种效率的一条有效途径; 利用游离小孢子培养技术可使甘

蓝育种材料快速纯化, 培养自交系无需连续自交, 易克服自交衰退现象; 培养一个纯系仅需 1~2 a, 能够极大地缩短新品种育种周期。甘蓝小孢子培养已经取得了很大进展, 但是国内外研究主要关注于小孢子诱导胚胎发生频率, 对于胚胎类型, 胚胎成苗率的研究较少, 且研究不够深入。甘蓝小孢子发育成健壮的子叶型胚, 并且使胚状体直接、快速地生成再生植株是甘蓝双单倍体育种应用的重要环节, Fletcher 等^[1]用 ABA 处理 3 周龄以上的子叶型胚使得小孢子胚再生能力提高了 50%, 切除子

第一作者简介:高海娜(1988-), 女, 硕士, 现主要从事蔬菜育种及栽培等研究工作。E-mail: danbai76@163.com

基金项目:西北农林科技大学重点推广资助项目(XTG-2009-17, XTG-2010-18); 国家“十一五”科技支撑计划资助项目(2009BAD8B02)。

收稿日期:2013-09-16

[3] 赵淑春, 刘德军, 马维希. 桔梗[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2001: 1-5.

[4] 刘鸣远, 付承新. 桔梗生物学的研究[J]. 植物研究, 1985, 5(1): 71-80.

[5] 李今, 邵锦霞. 药用植物桔梗的传粉效率与结实率研究[J]. 湖南师范大学自然科学报, 2001, 24(2): 73-75.

[6] 魏建和, 杨世林, 李先恩, 等. 桔梗不同种质的比较研究-桔梗的杂交及花色、种色的新类型分离[J]. 中草药, 2002, 33(3): 455-458.

[7] 胡含, 陈瑛. 植物体细胞遗传与作物改良[M]. 北京: 北京大学出版社, 1988: 27-35.

Screening of Callus Induction Medium of *Platycodon grandiflorum* Anther

ZHAO Li-li¹, XU Fang-fang¹, XUN Yang², YI De-ping¹, YAN Yi-zi¹

(1. Agricultural College, Yanbian University, Yanji, Jilin 133002; 2. Seed Management Station of Yanbian State, Yanji, Jilin 133001)

Abstract: Taking *Platycodon grandiflorum* anther in the late uninucleate stage as material, with MS and N₆ as basic medium, the effect of different kinds of cytokinin and auxin on callus induction were studied. The results showed that as the basic culture, MS was better than N₆ both in induction rate and differentiation rate in *Platycodon grandiflorum* anther tissue culture; as cytokinin, 6-BA was better than KT both in induction rate and differentiation rate; 2,4-D as the auxin, the induction rate and differentiation rate of callus were both better than NAA and IAA, NAA was better than IAA. In conclusion the better inducing medium in *Platycodon grandiflorum* anther tissue culture were MS+1.0 mg/L 6-BA+0.2 mg/L 2,4-D and N₆+1.0 mg/L 6-BA+0.2 mg/L 2,4-D.

Key words: *Platycodon grandiflorum*; anther; tissue culture; induction rate; differentiation rate

叶提高 20%~65%, 胚干燥 45 min 能使小孢子胚再生能力提高到 95%~100%。杨丽梅等^[2]研究表明, 甘蓝子叶胚比其它类型的胚(鱼雷胚等)再生植株高; 经比较后发现 B5 培养基比 MS 培养基更适于结球甘蓝和青花菜小孢子胚培养。该试验选用课题组以往研究过程中筛选出的出胚率较高的 3 个优良的甘蓝品种, 针对当前甘蓝游离小孢子培养技术体系中所存在的子叶型胚率低和胚状体一次成苗率低等主要问题, 以基因型、胚状体类型、不定芽转接高度和生根培养基烯效唑浓度这 4 个关键因素为研究内容, 研究其对提高甘蓝胚状体再生植株率的影响, 旨在进一步改进和完善甘蓝游离小孢子培养技术体系, 为能够真正地利用该项技术培育出甘蓝丰富的新资源和选育新品种奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料甘蓝为国内外引进的 3 份杂种一代优良品种: “8398”, 代号甘 1; “绿球 66”, 代号甘 2; “和秦甘 50”, 代号甘 3, 由西北农林科技大学园艺学院甘蓝育种研究室提供。

1.2 试验方法

1.2.1 供试材料栽培 甘蓝成株供体植株于 2011 年 7 月 10 日播种, 8 月 8 日定植于露地, 11 月 25 日移植于窖内越冬; 2012 年 3 月 15 日定植于露地, 4 月 8 日起各供体植株开始抽薹开花, 取初花期主花枝上的适宜花蕾用于小孢子诱导培养。

1.2.2 甘蓝小孢子游离与培养技术 将符合标准的花蕾装入钢网篮(25 蕾/篮), 放入 150 mL 三角瓶内, 加入足量的 70% 酒精消毒 60 s, 再用 0.1% 升汞消毒 10 min, 其间不停摇动三角瓶, 彻底消毒; 随后无菌水洗 3 遍。将花蕾转入灭菌的试管中, 加入少量(约 6 mL 左右)灭过菌的 B5-14 培养基, 用灭菌的玻璃棒轻压或研磨花蕾, 使小孢子游离出来。用漏斗将小孢子提取液过 300 目的双层尼龙网滤入 10 mL 离心管中, 加入 B5-14 培养基至 10 mL, 标记名称, Parafilm 膜封口。将上述装有滤液的离心管放入离心机中, 2 000 r/min 离心 3 次, 将小孢子沉淀物均匀悬浮于含 0.2 mg/L 6-BA 和 10 mg/L 秋水仙碱的 10 mL NLN-17 培养基中, 吸取少量悬浮液用血球计数板计数, 将小孢子密度调整为 $1 \times 10^5 \sim 2 \times 10^5$ 个/mL。

1.2.3 胚状体诱导培养 分皿: 将小孢子悬浮液用 5 mL 移液枪移入直径 60 mm 培养皿中, 每皿 2 mL (即 5 蕾/皿), 再添加含 0.2 mg/L 6-BA 和 10 mg/L 秋水仙碱的 3 mL NLN-17 培养基, 共计 5 mL; 热激处理: 将培养皿静置于 32℃ 恒温箱中热激, 黑暗培养 48 h, 同时保持黑暗条件; 置换培养基: 热激黑暗培养 48 h 后取出培养皿, 将其中的培养基进行离心, 弃去原培养基, 再

用含 0.2 mg/L 6-BA 的 13 mL 悬浮小孢子 NLN-14 新鲜培养基, 培养于培养皿(直径 90 mm)中, 用 Parafilm 封口; 静止培养: 将悬浮小孢子的培养皿静置于 25℃、黑暗条件下继续培养, 直到肉眼可见一定数量的小白点(胚状体)时, 更换为振荡培养; 振荡培养: 将肉眼可见小白点(胚状体)的培养皿转至摇床振荡培养(65~70 r/min), 同时保持适当的弱光条件, 继续培养直至胚状体发育完全。

1.2.4 甘蓝胚状体生长发育和不同材料间植株再生差异

将 3 个材料经小孢子培养诱导出的子叶型胚和非子叶型胚(鱼雷型胚、球形胚), 转接到含有 MS+0.2 mg/L GA_3 +0.01 mg/L NAA+10 g/L 琼脂+30 g/L 蔗糖的诱芽培养基上, pH 调至 5.8, 诱导胚状体分化不定芽, 观察胚状体生长发育途径和比较不同类型的胚状体的诱芽效果。单芽率=单芽胚状体数/接种诱芽胚状体数 \times 100%; 多芽胚率=多芽胚状体数/接种诱芽胚状体数 \times 100%。

1.2.5 不定芽高度对再生植株生长势的影响 将甘 3 经小孢子培养获得的不同大小的不定芽(芽高度 \geq 2 cm, 芽高度 $<$ 2 cm)转接到含有 MS+0.2 mg/L GA_3 +0.2 mg/L NAA+10 g/L 琼脂+30 g/L 蔗糖的生根培养基上, pH 调至 5.8, 诱导不定芽生根。大小芽各 60 棵, 每 20 个为 1 次重复。每隔 5 d 统计芽的高度, 观察根系生长情况。20 d 后测量根系数量和长度。比较不同高度不定芽植株再生情况的差异。

1.2.6 烯效唑对小孢子再生植株生根作用的影响 当甘 3 胚状体分化出的不定芽长至 2.0 cm 左右时, 从基部切下, 转接到添加 0.05、0.10、0.50、1.00、5.00 mg/L 5 种浓度烯效唑的 MS+0.3 mg/L NAA 10 g/L 琼脂+30 g/L 蔗糖培养基上, 以不添加烯效唑为对照。20 d 后, 统计再生植株根长势和幼苗成活情况。成活率=成活苗数/移栽苗数。

1.3 数据分析

试验数据采用 DSP 软件和 Duncan's multiple range test 方法进行分析。

2 结果与分析

2.1 甘蓝胚状体生长发育和不同材料间植株再生差异

胚状体转接到诱芽培养基后, 其生长发育基本表现有 3 种途径。其一, 接种 3 d 后胚状体由黄转绿(图 1 A), 20 d 后长成独立不定芽(图 1 B); 其二, 接种 15 d 后胚状体发育成团状绿色组织(图 1 C), 再经继代培养, 20 d 后形成丛生芽(图 1 D); 其三, 接种 3 d 后胚状体未见发育, 表现为褐化(图 1 E)或白化(图 1 F)。通过前 2 种发育途径获得的不定芽长至一定高度后, 转接到生根培养基(图 1 G), 25 d 后发育成为再生植株(图 1 H)。

由表 1 可知, 不同类型的胚状体其发育途径和成芽

率不同,子叶型胚容易发育单芽,3个品种的子叶型胚的单芽胚率甘1为70.0%,甘2为86.7%,甘3为70.0%。非子叶型胚容易形成丛生芽,多芽胚率分别是甘1为43.3%,甘2为30.0%,甘3为30.0%。结果表明,发育成熟的子叶型胚主要通过单芽途径成芽,而发育不成熟的其它类型的胚状体易通过丛生芽途径成芽。不同基因型的胚状体单芽胚率和多芽胚率相互间存在差异。

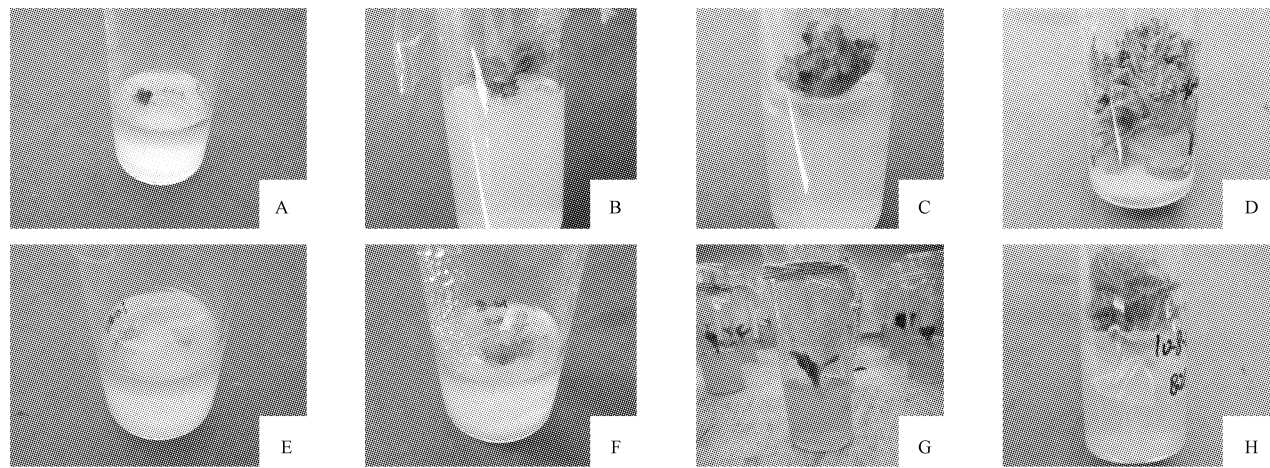


图1 甘蓝小孢子胚生长发育途径

注:A.胚状体转绿;B.胚状体分化出单一不定芽;C.胚状体形成团状绿色组织;D.丛生芽;E.胚状体褐化;F.胚状体白化;G.不定芽诱根;H.小孢子再生苗。

Fig.1 Plant regeneration process of embryos

Note: A. Embryoid turn green; B. Single plantlet derived from embryoid; C. Green tissues; D. The multiple shoots; E. Browning embryoid; F. Albino embryoid; G. Root inducing buds; H. Regenerated plantlet.

表1 甘蓝不同类型胚状体再生芽效果比较

Table 1 The rates of plants between different embryoid-types in cabbage

材料	胚状体类型	诱芽接种胚数	单芽胚状体数	单芽胚率	多芽胚状体数	多芽胚率	褐化或白化率
Materials	Embryoid-type	No. of embryos	No. single plantlet embryos	No. single plant rate/ %	No. multiple plantlet embryos	Multiple plants rate/ %	Rate of browning or albinism/ %
甘1	子叶型	30	21	70.0	6	20.0	10.0
	非子叶型	30	7	23.3	13	43.3	33.4
甘2	子叶型	30	26	86.7	3	10.0	3.3
	非子叶型	30	6	20.0	9	30.0	36.6
甘3	子叶型	30	18	70.0	4	13.3	16.7
	非子叶型	30	6	20.0	9	30.0	50.0

2.2 胚状体不定芽高度对再生植株生长势的影响

由表2可以看出,高度大于等于2 cm的不定芽转接后生长速度呈现先慢后快的趋势,第5天净生长高度为0.12 cm,第20天净生长高度为0.66 cm。高度小于2 cm的不定芽转接后生长速度呈现先快后慢的趋势,第5天净生长高度为0.29 cm,第20天净生长高度为0.12 cm。

20 d后统计根系生长状况得到高度大于等于2 cm的不定芽平均生根数为9.6条,根系长度平均为3.73 cm;发现高度小于2 cm的不定芽平均生根数为16.5条,根系长度平均为3.57 cm。大于等于2 cm的不定芽地上部分生长较快,根系数量较少,细长;小于2 cm的不定芽地上部分生长较慢,根系数量多,粗壮。

表2 胚状体不定芽高度对再生植株生长势的影响

Table 2 Effect of shoot size on growth vigor of regenerated plant

不定芽高度	植株净生长高度 Net growth of buds/cm				20 d后生根数	根系长度
	第5天	第10天	第15天	第20天		
The height of adventitious buds	The fifth day	The tenth day	The fifteenth day	The twentieth day	The No. of roots after 20 days/条	The length of roots/cm
≥2 cm	0.12	0.27	0.35	0.66	9.6	3.73
<2 cm	0.29	0.28	0.22	0.12	16.5	3.57

2.3 烯效唑对胚状体不定芽生根的影响

生根培养基中不添加烯效唑(CK)时根细长(图2 A

右),不健壮,且植株细弱,茎节较长(图2 B),生根率为70.0%,成活率为60.0%。添加烯效唑后植株根系粗壮

(图 2 A 左),节间粗短壮实(图 2 C)。从表 3 可以看出,添加 5 种浓度的烯效唑后生根率差异显著,其中添加 0.50 mg/L 的烯效唑后生根率显著高于对照,达到 96.7%,成活率达到 95.6%;添加 0.05 mg/L 和 0.10 mg/L 的烯效唑后成活率分别达到 76.2%和 85.0%;但是当烯效唑浓度超过 0.50 mg/L 时,会对根系生长产生明显的

抑制作用,添加 1.00 mg/L 的烯效唑后根系生长十分缓慢,且特别粗,生根率只有 60.0%,成活率为 58.3%。添加 5.00 mg/L 的烯效唑后根部产生愈伤组织,生根速度缓慢,且根系大都变褐,生根率只有 33.3%,幼苗大都白化,成活率为 40.0%。

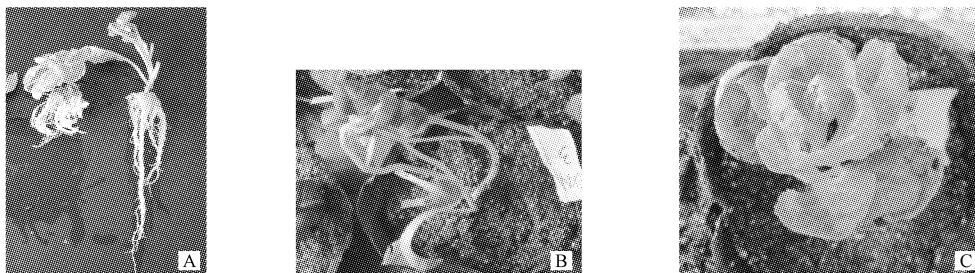


图 2 添加不同浓度烯效唑对再生植株生根的影响

注:A:0.50 mg/L 烯效唑处理过的再生植株生根情况和对照;B:对照;C:0.50 mg/L 烯效唑处理过的再生植株。

Fig. 2 Effect of adding different concentrations of uniconazole on shoot rooting

Note:A. The plant treated by 0.50 mg/L uniconazole and CK;B. CK;C. The plant treated by 0.50 mg/L uniconazole

表 3

添加烯效唑对小孢子再生植株生根的影响

Table 3

Effect of adding uniconazole on shoot rooting of embryo

激素浓度 Concentration of hormones/mg · L ⁻¹	接种芽数 No. of buds	生根芽数 No. of rootage plants	生根率 Rootage rate/%	再生植株数 No. of survival plants	再生植株成活率 Survival rate/%	根系性状 Regeneration of root characteristics
0(CK)	30	21	70.0C	18	60.0D	根较细长,细弱,数量较多
0.05	30	26	86.7B	21	76.2C	根较细长,数量较少
0.10	30	25	83.3B	20	85.0B	根稀少,褐化
0.50	30	29	96.7A	29	95.6A	根系粗壮,数量多,长度适中
1.00	30	18	60.0D	12	58.3D	根系粗壮,短小,数量较少,生长缓慢
5.00	30	10	33.3E	5	40.0E	有愈伤组织,生长缓慢,根大多变褐

注:表中数据为 3 次重复的平均值;同列数据后标不同大写字母者表示 $P < 0.01$ 。

Note: The data represents an average of explants per treatment repeated three times. The ones which are marked by uppercase letters show that the difference is extremely significant ($P < 0.01$).

3 讨论

小孢子胚状体的生长发育受到内因和外因的影响。内因主要是小孢子胚状体的质量,包括发育时期、发育是否健壮、完善等;外因包括培养基类型、水分状况、通气状况以及光照和温度条件等。Kuginuki 等^[3]认为基因型是影响胚状体成苗的主要因素,子叶型胚一般更容易诱导成正常植株,而鱼雷型胚则较难成苗。Chuong 等^[4]将油菜小孢子胚分别转到 NN 和 BS 培养基上,小植株频率分别为 9%和 1%,在 1988 年,Chuong 等^[4]又用了 12 个甘蓝型油菜品系得到的小植株率为 1%~4%。一些肉眼看来外形似乎正常的鱼雷型胚状体,用解剖显微镜进一步观察表明,有的胚状体为单子叶、多子叶、孪生胚等。胚状体形态的缺陷可能是转至固体培养基上不易形成小植株的原因之一。试验过程中观察到,在诱导小孢子培养获得的胚状体成苗的时候其沿着 3 种途径发育,直接发育成独立不定芽、形成团状绿色组

织后再经继代培养形成丛生芽、褐化或白化。Careda 等^[6]发现白化形成的原因可能是在花粉发育的早期小孢子质体 DNA 降解,阻止了叶绿体的形成之故。该研究认为甘蓝子叶型胚容易发育单芽,而鱼雷型胚和球型胚容易形成丛生芽。且单芽率和丛生芽率在不同基因型之间存在差异。

试管苗继代过程中,不定芽的大小对再生植株的生长有一定影响。马文卿等^[6]在研究大花蕙兰试管苗增殖过程中发现试管苗大小与褐化率之间呈正比关系,随试管苗增大,褐化率升高。表明试管苗的大小对再生植株的生长有一定影响。崔广荣等^[7]在文心兰试管苗增殖试验中发现接种苗的大小对试管苗的增殖率有较大影响,小苗易于形成丛生芽苗和原球茎,增殖系数可达 7.07,而大苗则不能形成丛生芽苗也无原球茎形成。王会^[8]在草莓脱毒试管苗的瓶外生根试验中发现在同一种基质中的待生根的试管苗越大,生根率也越高,生根

也越快;3~4 cm 高的试管苗生根率最高。该试验比较了甘蓝小孢子获得的不同高度不定芽生根和芽生长速度的差异,发现高度大于等于 2 cm 的不定芽转接后生长速度呈现先慢后快的趋势,平均生根数为 9.6,根系平均长度为 3.73 cm。高度小于等于 2 cm 的不定芽转接后生长速度呈现先快后慢的趋势,平均生根数为 16.5 cm,平均根系长度为 3.57 cm。表明大于等于 2 cm 的不定芽转接到生根培养基上后缓苗时间较长,随后生长速度加快,生根数少且细长,移栽不易成活。小于 2 cm 的不定芽所需缓苗时间较短,一开始生长迅速,但随后生长速度减慢,生根数多且粗壮,移栽成活率高。

烯效唑是一种作物生长延缓剂,目前在蔬菜上主要应用于控制株形,提高抗逆性,调控花期等方面。马勇斌等^[9]认为甘蓝 DH 株叶片诱导出的不定芽的最佳生根培养基为 MS+NAA 0.3 mg/L,生根率为 99%。许念芳^[10]认为,当生根培养基中添加浓度为 0.2 mg/L 的多效唑时,再生植株的茎干和根都很粗壮,移栽成活率可达 96.7%。周祖富等^[11]研究表明,在 MS 培养基中添加 0.01~0.10 mg/L 的烯效唑能延缓罗汉果试管苗的伸长,矮化试管苗,茎变的粗壮,促进不定根生长。葛云侠等^[12]用 10 mg/L 的烯效唑处理番茄侧枝后,其生根数、根干重及根系活力均有明显提高。该研究得出,适宜浓度的烯效唑对甘蓝小孢子不定芽生根和健根具有促进作用。添加 0.50 mg/L 的烯效唑后甘蓝小孢子不定芽生根率最达 96.7%,根系粗壮,茎较粗,植株矮化,移栽成活率高达 95.6%,但过高烯效唑浓度对根系及茎秆生长会起到抑制作用。

Study on Plant Regeneration from Microspore-derived Embryos in Cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata*)

GAO Hai-na¹, WANG Zhao-yang¹, ZHANG En-hui²

(1. Agricultural Science Research Institute of Ankang, Ankang, Shaanxi 725000; 2. College of Horticulture, Northwest Agriculture and Forestry University, Yangling, Shaanxi 712100)

Abstract: Taking 3 superior cabbage varieties as test materials, isolated microspores culture and embryoid plant let regeneration technology were studied, the effects of different genotypes, different type of embryoids, different size of shoots, uniconazole on embryoids seedling induction were discussed. The results showed that cotyledon embryoids were easily form to single plants, and torpedo embryoids and ball-type embryoids were easily form to multiple shoots in all different genotypes. The rate of single plants and multiple shoots were different in different genotypes. The size of adventitious shoots was larger than 2 cm, the growth rate showed slow to fast after transferred to rooting medium, and the roots were fine and longer, The size of adventitious shoots shorter than 2 cm, the growth rate showed fast to slow after transferred to rooting medium, and the roots were healthy and strong. Add 0.50 mg/L uniconazole MS+0.3 mg/L NAA regenerated plantlets rooting medium up to 95.6% survival rate of regenerated shoots thick stems and roots.

Key words: cabbage; microspore; cotyledon type embryoids; plant regeneration

参考文献

- [1] Fletcher R, Coventry, Kott L S. Double haploid technology for winter *Brassica napus* [D]. Canada University of Guelph, 1998:42.
- [2] 杨丽梅, 方智远, 刘玉梅, 等. “十一五”我国甘蓝遗传育种研究进展 [J]. 中国蔬菜, 2011(2):1-10.
- [3] Kuginuki Y, Yoshikawa H, Hirai M. Variation in virulence of *Plasmiodiophora brassicae* in Japan tested with clubroot-resistant cultivars of Chinese cabbage (*Brassica rapa* L. ssp. *pekinensis*) [J]. European Journal of Plant Pathology, 1999;105(4):327-332
- [4] Chuong P V, Beversdorf W D, Powell A D, et al. The use of haploid protoplast fusion to combine cytoplasmic atrazine resistance and cytoplasmic male sterility in *Brassicanaapus* [J]. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 1988, 12(2):181-184
- [5] Caredda S, Doncoeur C, Devaux P, et al. Plastid differentiation during androgenesis in albino and non-albino producing cultivars of barley (*Hordeum vulgare* L.) [J]. Sexual Plant Reproduction, 2000, 13(2):95-104.
- [6] 马文卿, 李青, 刘燕. 大花蕙兰试管苗增殖过程中的褐化研究 [J]. 中国农学通报, 2010, 26(7):186-190.
- [7] 崔广荣, 刘云兵, 谷业理. 琼脂浓度、pH 值及接种苗大小对文心兰试管苗增殖的影响 [J]. 生物学杂志, 2004, 21(6):29-31.
- [8] 王会. 红实美草莓试管苗瓶外生根的研究 [J]. 长江蔬菜, 2008(22):44-47.
- [9] 马勇斌, 张恩慧, 李殿荣, 等. 利用甘蓝游离小孢子不定芽叶片再生 DH 植株技术研究 [J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2011(4):111-116.
- [10] 许念芳. 诱导甘蓝小孢子高出胚率和成苗技术研究 [D]. 杨凌:西北农林科技大学, 2010:23.
- [11] 周祖富, 艾素云, 杨美纯. 烯效唑对罗汉果试管苗生长的影响 [J]. 福建果树, 2005(1):13-15.
- [12] 葛云侠, 陈凤玉. S3307 对番茄插枝生根的作用 [J]. 植物生理学通讯, 2001, 37(1):15-17.