

‘香玲’核桃试管苗生长条件的优化*

冀爱青^{1,2} 朱超³ 吴国良^{3**}

(¹山西农业大学园艺学院 太谷 030801)

(²晋中学院生物科学与技术学院 晋中 030600)

(³河南农业大学园艺学院 郑州 450002)

摘要 为优化核桃试管苗生长条件,向核桃优良品种规模化栽培提供大量优良的种植材料,以‘香玲’核桃实生苗为材料,对基本培养基的类型(MS, DKW, WPM)和凝固剂种类(琼脂, Phytigel, 二者结合)进行了筛选,并采用完全随机试验设计研究了细胞分裂素种类和浓度对其试管苗生长的影响. 试验结果表明:基本培养基与凝固剂的种类,以及细胞分裂素的种类与浓度对芽苗生长的影响很大. 以DKW为基本培养基, 2.2 g/L Phytigel为凝固剂, 激素配比为0.8 mg/L BA + 0.01 mg/L IBA, 有利于芽苗增殖, 增殖可达4.70; 后在0.8 mg/L KT + 0.01 mg/L IBA进行壮苗, 即可进行生根培养. 不同基因型对基本培养基中无机盐成分的需求不同, 含有较丰富矿物质的Phytigel有利于芽苗生长. BA促进腋芽的萌动和增殖, 而KT则有利于壮苗. 图4 表3 参22

关键词 ‘香玲’核桃; 试管苗; 基本培养基; 凝固剂; 细胞分裂素; 增殖; 伸长

CLC S664.104.3 : Q943.1

Optimization of Growth Conditions of *in Vitro* Shoots of Walnut ‘Xiangling’ *

Ji Aiqing^{1,2}, ZHU Chao³ & WU Guoliang^{3**}

(¹Faculty of Horticulture, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, Shanxi, China)

(²Faculty of Biology Science and Technology, Jinzhong University, Jinzhong 030600, Shanxi, China)

(³Faculty of Horticulture, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China)

Abstract To provide abundant and excellent colonial plant materials, the optimum growth conditions of *in vitro* walnut shoot were studied. Using the seedlings of walnut ‘Xiangling’ as materials, the types of nutrient media (MS, DKW and WPM) and gelling agents (Difco Bacto agar, Phytigel and a mixture of Phytigel and Difco Bacto agar) were screened, and the effects of different types and concentrations of cytokinin on growth of the seedlings were studied with randomized complete-block design. The results indicated that different types of nutrient media and gelling agents had great effects on growth of the seedlings as well as the types and concentrations of cytokinin. DKW basic medium supplemented with 0.8 mg/L BA + 0.01 mg/L IBA and solidified with 2.2 g/L Phytigel, favoured proliferation of the shoots, and the number of proliferation was 4.70. After cultured in present of 0.8 mg/L KT + 0.01 mg/L IBA for strong stock, the shoots could be rooted. Different genotypes need basic media with different compositions of inorganic salt. Phytigel containing rich minerals is helpful for bud and shoot growth. BA promotes axillary to germinate and proliferate, while KT is helpful for shoot elongation. Fig 4, Tab 3, Ref 22

Keywords walnut ‘Xiangling’; *in vitro* shoot; basic medium; gelling agent; cytokinin; proliferation; elongation

CLC S664.104.3 : Q943.1

核桃 (*Juglans regia* L.) 古称胡桃或羌桃, 属胡桃科 (Juglandaceae)、胡桃属, 是果材兼用的优良经济林树种, 作为世界四大干果之一, 以其很高的经济、生态及社会效益在世界各地广泛栽培. 长期以来, 我国核桃苗一直沿用传统的实生繁殖, 在自然授粉情况下, 子代变异很大, 个体往往出现表型的差异, 造成产量低、结果晚、品质差, 降低了核桃生产的经济价值^[1]; 采用嫁接繁殖则受穗条数量、嫁接方法、技术熟练程度、接后管理等因素影响, 限制了嫁接繁殖技术在生产中的应用^[2]. 另外, 核桃树体内存在着大量单宁类物质, 扦插不易成活. 上述种种不利因素均严重制约核桃生产的迅速发展, 而组织培养技术的发展为核桃的育种提供了

快捷、可靠的途径.

本实验室较早就开展了核桃组织培养研究, 先后建立了晚实核桃茎段外植体再生体系^[3]和体细胞胚胎发生再生体系^[4]; 近几年又建立了早实核桃的再生体系^[5]. 其他研究单位也进行了核桃组织培养研究, 如刘兰英等报道了薄壳香核桃的快繁^[6], 汤浩茹等建立了NO.120核桃体细胞胚发生再生体系^[7], 方宏筠等报道了黑核桃体细胞胚状体再生体系的建立及基因转化研究^[8]等等. 尽管核桃试管苗微繁作为无性繁殖的替代途径已被国内许多研究团体研究, 但仍不系统, 且结果存在较大的差异. 就‘香玲’核桃组培而言, 前人也做了不少研究, 如张俊林等对‘香玲’核桃茎尖增殖培养基进行了筛选, 得出DKW + 1.0 mg/L 6-BA + 0.01 mg/L IBA + 4%糖, 增殖系数最高^[9]. 邢瑞丹等研究了暗培养时间、叶片放置方式及不同浓度激素组合对叶片再生的影响^[10]. 我们在已建立的再生体系基础上, 进一步探讨基本培养基、凝固剂、细胞分

收稿日期: 2010-11-29 接受日期: 2010-12-30

*河南省科技厅重大科技攻关项目 (No. 092101110600) 资助 Supported by the Key Project of Science & Technology Department of Henan, China (No. 092101110600)

**通讯作者 Corresponding author (E-mail: walnut-wu@126.com)

裂素对核桃试管苗生长发育的影响,并对比这些因素条件下芽苗的生长反应,旨在完善并建立核桃试管苗生长发育的系统体系,为核桃快繁进入工厂化生产奠定基础。

1 材料与方法

文中缩写含义: 6-BA, 6-benzylaminopurine, 6-苄氨基嘌呤; IBA, Indole-3-butyric acid, 吲哚丁酸; TDZ, Thidiazuron, 噻苯隆; KT, 6-furfuryl-aminopurine, 6-糠氨基嘌呤; MS, Murashige and Skoog medium; DKW, Driver and Kuniyuki Walnut medium; WPM, woody plant medium; Phytigel, 植物凝胶。

1.1 材料

供试材料为‘香玲’核桃,取自河南济源市坡头镇蓼坞村。

1.2 方法

1.2.1 核桃苗的获得 取当年采收的青皮核桃不经层积处理直接种入含壤土: 蛭石= 1: 1花盆内,放入温室培养,等幼苗长到40 cm左右开始取材。以生长健壮且带有活跃生长的腋芽的枝条为采集源。

1.2.2 外植体的灭菌 剪取采集源的枝条,剪成1 cm的带芽茎段,肥皂水浸泡冲洗后,用75%酒精表面灭菌30 s,后用0.8% NaClO加两滴吐温-20灭菌15 min,最后无菌水冲洗4次,接种前用无菌滤纸吸干外植体表面的水分,接种到培养基上。

1.2.3 培养基的配制 配制的培养基装入500 mL的大三角瓶后,在121 °C下高温灭菌20 min。后在水浴锅中冷却到65 °C,放入超净工作台,把经过滤灭菌的生长调节剂加入培养基混匀,而后分装到已灭菌的100 mL的三角瓶中。培养基中添加3%蔗糖, pH值调到5.6~5.8。

1.2.4 无菌外植体的筛选 为了筛选无菌外植体,首先将外植体接种在无激素的DKW培养基上培养12~14 d,剔除外生菌的污染,然后再转移到DKW + 0.5 mg/L BA + 0.01 mg/L IBA诱导培养基上培养,诱导培养虽然重复次数很多,但由于内生菌的污染(40%左右,内生菌一般出现在第2或第3次继代过程中),使得有效芽苗量减少,直到一年后,外植体诱导的大量有效芽苗才能被应用进行完全培养基的筛选。

1.2.5 完全培养基配方筛选 试验1: 以无菌芽苗上切取的茎段为外植体,选用DKW、MS、WPM三种培养基,添加0.5 mg/L BA + 0.01 mg/L IBA, 6 g/L琼脂粉作为凝固剂,以此对核桃芽苗生长的最适基本培养基进行筛选。

试验2: 以无菌芽苗上切取的茎段为外植体,培养基添加DKW + 1.0 mg/L BA + 0.01 mg/L IBA, 凝固剂分别选用6 g/L琼脂粉(Difco Bacto agar)、2.2 g/L Phytigel、3 g/L琼脂粉 + 1.1 g/L Phytigel, 共3个处理,以此对核桃芽苗生长的最适凝固剂种类进行筛选。

试验3: 以无菌芽苗上切取的茎段(芽苗伸长培养)和芽尖(芽苗增殖培养)为外植体, DKW为基本培养基, 2.2 g/L Phytigel为凝固剂, 生长素选用0.01 mg/L IBA、细胞分裂素选用6-BA、KT、TDZ, 每个因素设计4个水平(0.4、0.6、0.8、1.0 mg/L), 共12个处理, 以茎段和茎尖为外植体, 分别研究细胞分裂素对芽苗伸长和增殖的影响。

1.2.6 培养条件 培养室温度20~25 °C, 光周期为14 h光照, 10 h黑暗, 光照强度为2 500~3 000 lx。每处理12瓶, 每瓶接种3个外植体, 3次重复, 继代周期25 d, 继代于相同成分的新鲜培养基上。

1.2.7 数据统计与分析 培养4 wk后, 统计芽苗的高度、节间的长度、叶片数和增殖数, 所得数据采用DPS软件进行标准误差和差异显著性分析。

2 结果与分析

2.1 不同培养基对试管苗生长的影响

接种在不同的基本培养基上的核桃茎段, 接种后5~6 d腋芽开始萌动生长, 同时茎段切口边缘形成愈伤组织; 15 d后可见进一步发育成芽苗。DKW和MS培养基上生长的芽苗愈伤组织的鲜重、主茎的高度及叶片的数量与WPM呈显著差异, 而DKW和MS二者在三项指标差异不显著(表1)。由实验结果可知, DKW和MS均适于核桃芽苗的生长, 但在形态上3种培养基有较大的差异, 在WPM培养基上接种的茎段底端有大量的愈伤组织形成, 很少有芽的伸长(图1-A), 培养在MS培养基上的芽苗叶片缺绿, 主茎和节间较短, 底端有少量的愈伤组织(图1-B); DKW培养基上生长的芽苗叶片大而颜色深绿, 叶间距正常, 底端有少量的愈伤组织(图1-C)。综合考虑, 核桃芽苗生长的最适培养基为DKW, 在此培养基上培养4 wk, 主茎可达1.85 cm, 芽苗叶片数平均为9.30。

2.2 凝固剂种类对试管苗生长的影响

凝固剂的种类对芽苗生长影响明显。观察发现, 在以琼脂粉和Phytigel配置培养基上生长的芽苗在表现型上有所不同, 前者的芽苗生长势弱, 叶小而少, 叶柄长(图2-A), 而后者的芽苗长势均匀, 叶柄短, 叶大而多(图2-B)。从表2得知, 凝固剂的种类对组培芽苗的愈伤组织鲜重无显著差异; 而处理2(单独使用2.2 g/L的Phytigel)对主茎的高度而言, 差异显著, 处理1(单独使用琼脂)和处理3(二者结合)则无显著差异。就叶片的数量, 处理2和处理3明显优于处理1。因此, 选用2.2 g/L的Phytigel作为核桃芽苗生长的培养基凝固剂效果较好。

2.3 细胞分裂素对试管苗生长的影响

从表3可以看出, KT和BA在0.4~0.8 mg/L的浓度范围内, 对芽苗伸长有显著的促进作用, 随着浓度的升高, 主茎和节间长度都在增加, 当浓度为0.8 mg/L时, 芽苗高度分别

表1 不同培养基对核桃芽苗再生的影响

Table 1 Effects of different types of media on shoot regeneration from walnut nodal cuttings

处理号 Treatment	培养基 Medium	愈伤组织鲜重 Fresh weight of callus (m/g)	主茎高度 Height of main shoot (h/cm)	叶片数量 No. of leaf number on shoots
1	DKW	0.49±0.04 b	1.86±0.04 a	9.32±0.07 a
2	MS	0.48±0.06 b	1.84±0.03 a	9.28±0.04 a
3	WPM	0.79±0.03 a	0.72±0.03 b	3.23±0.02 b

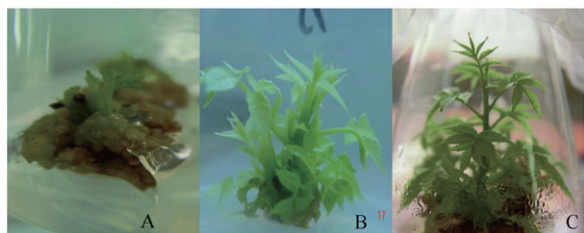


图1 培养基种类对核桃芽苗伸长的影响

Fig. 1 Effect of different types of media on shoot regeneration from walnut nodal cuttings

A: WPM培养基上形成大量的愈伤组织,且芽苗生长纤弱; B: MS培养基上生长的芽苗缺绿; C: DKW培养基上生长的芽苗生长健壮

A. Callus and delicate shoots initiate in WPM medium; B. Shoots are chlorosis in MS medium; C. Shoots grow strong in DKW medium

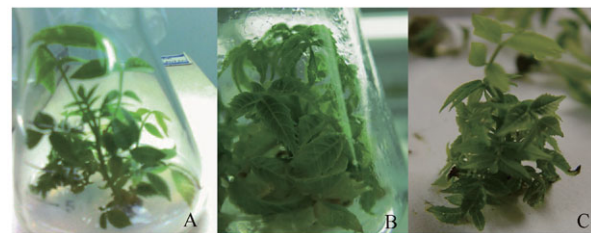


图2 凝固剂种类对核桃芽苗伸长的影响

Fig. 2 Effect of different gelling agents on shoot regeneration from walnut nodal cuttings

A: 6 g/L琼脂粉作凝固剂上生长的芽苗细弱; B: 2.2 g/L Phytigel作凝固剂上生长的芽苗健壮; C: 芽苗生长在3 g/L琼脂粉+ 1.1 g/L Phytigel作凝固剂的DKW培养基上

A. Shoots are thin in DKW gelled by 6 g/L Difco Bacto agar; B. Shoots are strong in DKW gelled 2.2 g/L Phytigel; C. Shoots are cultured in DKW gelled by 3 g/L Difco Bacto agar + 1.1 g/L Phytigel

表2 不同凝固剂对核桃芽苗再生的影响

Table 2 Effects of different gelling agents on shoot regeneration from walnut nodal cuttings

处理 Treatment	凝固剂 Gelling agent	愈伤组织鲜重 Fresh weight of callus (m/g)	主茎高度 Height of main shoot (h/cm)	叶片数量 No. of leaf number on shoots
1	6 g/L琼脂粉 6 g/L Difco Bacto agar	0.55±0.03 a	1.91±0.05 b	9.35±0.05 a
2	2.2 g/L Phytigel	0.54±0.03 a	2.03±0.03 a	11.06±0.06 b
3	3 g/L琼脂粉+ 1.1 g/L Phytigel 3 g/L Difco Bacto agar + 1.1 g/L Phytigel	0.49±0.02 a	1.88±0.02 b	10.14±0.03 c

达到最高3.75 cm和2.74 cm。当KT浓度为1.0 mg/L时,芽苗表现为叶片变小,叶间距缩短,叶片似丛生状(图3-A),而BA在1.0 mg/L时,苗顶芽受到抑制,形态上表现为近顶芽有长叶柄的叶(图3-B),顶端优势的抑制对芽苗的进一步分化不利。附加0.4 mg/L TDZ培养基上生长的芽苗高度为2.12 cm,但芽苗顶芽坏死明显(图3-C),且随着TDZ浓度增加,坏死加重,表明TDZ不利于核桃茎段芽苗伸长培养。茎尖培养观察发现,随着细胞分裂素浓度的升高,顶芽萌发时间缩短,

表3 细胞分裂素对核桃芽苗伸长和增殖的影响

Table 3 Effects of cytokinin on shoot elongation from walnut nodal cutting and shoot proliferation from shoot tip explants

细胞分裂素 Cytokinin	$\mu\text{g/L}$	茎段 Nodal cutting		茎尖 Shoot tip
		主茎高度 Height of main shoot (h/cm)	节间长度 Length of internodes (h/cm)	增殖数 No. of auxiliary shoot
KT	0.4	1.05±0.03 fg	0.23±0.02 c	3.33±0.15 d
	0.6	2.61±0.20 bc	0.32±0.04 ab	3.63±0.15 cd
	0.8	3.35±0.21 a	0.34±0.08 a	3.80±0.20 c
	1.0	2.34±0.11 cd	0.25±0.03 bc	4.20±0.10 b
BA	0.4	0.92±0.07 gh	0.29±0.01 abc	3.33±0.15 d
	0.6	2.48±0.17 bc	0.29±0.03 abc	4.16±0.31 b
	0.8	2.74±0.10 b	0.34±0.02 a	4.70±0.17 a
	1.0	1.29±0.27 ef	0.23±0.03 c	5.00±0.10 a
TDZ	0.4	2.12±0.22 d	0.25±0.03 bc	3.30±0.10 d
	0.6	1.42±0.07 e		3.37±0.25 d
	0.8	0.69±0.12 hi		2.77±0.15 e
	1.0	0.53±0.05 i		2.37±0.25 f

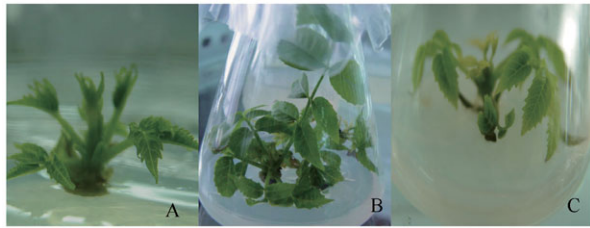


图3 细胞分裂素对核桃芽苗伸长的影响

Fig. 3 Effect of cytokinin on shoot elongation from walnut nodal cutting explants

A: 茎段在KT为1.0 mg/L时形成的丛生芽; B: 茎段在BA为1.0 mg/L时芽苗顶端受到抑制; C: 茎段在TDZ为 0.4 mg/L时顶芽出现坏死状

A. Clumpy buds on DKW medium with 1.0 mg/L KT; B. Apical quiescence on DKW medium with 1.0 mg/L BA; C. Apical necrosis on DKW medium with 0.4 mg/L TDZ

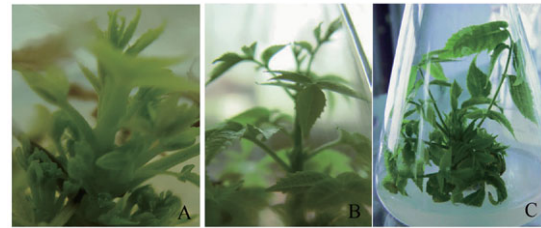


图4 细胞分裂素对核桃芽苗增殖的影响

Fig. 4 Effect of cytokinin on shoot proliferation from walnut shoot tip explants

A: BA为1.0 mg/L时,腋芽增殖数较高; B: KT为1.0 mg/L时,腋芽只有较少的增殖; C: TDZ为0.6 mg/L时腋芽形成的不定芽聚集缩短

A: Auxiliary proliferation on DKW medium with 1.0 mg/L BA; B. Auxiliary proliferation on DKW medium with 1.0 mg/L KT; C. Accumulation of adventitious buds on DKW medium with 0.6 mg/L TDZ

萌发率随之增加。从表3可以看出, BA与KT增殖数呈显著差异, BA在浓度为1.0 mg/L时, 增殖可达5.00 (图4-A), 而KT只有4.20 (图4-B), 但考虑高浓度会产生一定的延后效应, 因而增殖需要0.8 mg/L的BA。而TDZ则不利于芽的增殖, 虽然腋芽增殖数高, 但其生长的芽苗顶芽受到抑制, 使不定芽聚集短缩 (图4-C), 增加了进一步分离增殖或生根时的操作难度。根据各项指标进行综合分析, 在保持合理的增殖系数条件下, 按照商品苗的质量要求, 选用0.8 mg/L BA进行增殖, 0.8 mg/L KT进行壮苗效果好, 而后继代于1/2 DKW + 0.5 mg/L IBA进行生根培养。

3 讨论与结论

本研究得出DKW培养基为核桃茎段最佳诱导培养基, 这与Ponchia等在研究核桃茎段培养的结果^[11]一致, 在此培养基上生长的芽苗生长势均匀, 叶色正常, 而在MS培养基中, 外植体出现了缺绿症。然而, 朱玉球等认为WPM才是山核桃茎段再生的最适培养基^[12]; 李建军则认为MS是美国黑核桃试管苗生长的最佳培养基, 说明不同属间存在着差异^[13]。在同一属内造成这种现象的原因可能是培养基离子强度不同所致, MS和DKW的离子强度是WPM的二倍之多, 而MS和DKW近似等量, 也可能是WPM的 NH_4^+ 浓度 (5.0 mmol/L) 较其它两种培养基低 (MS和DKW分别为20.6和17.7 mmol/L)^[14]。但也有不少研究者以MS培养基进行核桃苗增殖的成功报道^[15~17]。

长期以来, 植物组织培养中一直用琼脂作为凝固剂。琼脂往往含有杂质, 有时对培养物会产生不利的影响。Phytigel (植物凝胶) 是一类新的凝固剂, 在植物组织培养中具有通气性好、凝固温度低、含杂质少、不易发生玻璃化现象等优点。此外, 由于不同凝固剂中矿物质含量不同, 导致不同的凝固剂对芽苗的生长有很大的差异。Phytigel含有大量的Ca、Mg、K、Fe, 提高了离子浓度, 因而在此凝固剂上生长的芽苗较好, 也有可能由于琼脂粉含Na较高 (是Phytigel的3倍), 导致了芽苗叶片未老先衰。尽管Phytigel对芽苗生长发育有良好作用, 考虑到Phytigel的价格因素, 本研究认为在无菌苗筛选过程中可用廉价的琼脂, 而在无菌苗的增殖和壮苗过程中应使用Phytigel较为经济。

外源激素中细胞分裂素对不定芽的再生起关键作用, 而生长素对外植体的分化起辅助作用^[18]。本试验的细胞分裂素有BA、KT和TDZ。据Huetteman和Rreece报道, TDZ是木本植物离体培养中活性最强的细胞分裂素类似物质^[19], 但本研究表明TDZ并不适宜于核桃试管苗的生长发育。Pawlicki和Welander^[20]、Caboni等^[21]也曾分别报道TDZ对部分苹果品种和野生梨的离体再生表现不利, 说明TDZ并非对所有木本植物均能表现出良好的离体诱导效果。考虑到芽苗长期在含有BA的培养基上继代培养的材料 (例如, 苹果通常在4 mo后) 出现BA伤害, 改用其它种类的细胞分裂素可能会得到缓解^[22]。另外, 细胞分裂素浓度过高会引起后效应, 抑制根的诱

导或出现移栽后侧芽过多的现象。本试验综合考虑得出, 芽苗增殖选用0.8 mg/L BA, 壮苗则用0.8 mg/L KT。

综上所述, 可得出以下结论: 以DKW为基本培养基, 2.2 g/L Phytigel为凝固剂, 在0.8 mg/L BA + 0.01 mg/L IBA进行芽增殖, 后在0.8 mg/L KT + 0.01 mg/L IBA进行壮苗, 芽苗表现为叶片大而颜色深绿, 叶间距正常, 再进入1/2 DKW + 0.5 mg/L IBA进行生根培养。本研究优化了核桃试管苗生长及增殖的条件, 为核桃新品种的工厂化快速繁殖进入生产奠定了基础。

References

- 1 Wu GL (吴国良). 核桃无公害高效生产技术. Beijing, China: Chinese Agriculture Press (北京: 中国农业出版社), 2010
- 2 Gao QH (高清华), Duan K (段可), Gan L (甘霖), Zhang DF (张大福). Advances in walnut propagation techniques in China. *J Fruit Sci* (果树学报), 2000, 17 (3): 220~224
- 3 Tian AM (田爱梅). Study on factors affecting tissue culture of axillary shoots of seedling walnut: [Master's Degree Thesis]. Taigu, China: Shanxi Agriculture University (太谷: 山西农业大学), 2001
- 4 Ji AQ (冀爱青). Study of factors affecting on somatic embryogenesis in walnut. [Master's Degree Thesis]. Taigu, China: Shanxi Agriculture University (太谷: 山西农业大学), 2003
- 5 Zhang Y (张燕). Study on the problems in the tissue culture of Fenyang walnut. *J Anhui Agric Sci* (安徽农业科学), 2006, 34 (11): 2365~2367
- 6 Liu LY (刘兰英). Tissue culture and rapid propagation of *Juglans regia* L. *Plant Physiol Commun* (植物生理通讯), 2000, 36 (5): 434~435
- 7 Tang HR (汤浩茹), Wang YQ (王永清), Ren ZL (任正隆), Krczal G.. Somatic embryogenesis and plant regeneration from embryonic axes and cotyledons of walnut immature embryos of cv. No.120. *Acta Horti Sin* (园艺学报), 2000, 27 (1): 59~61
- 8 Fang HJ (方宏筠), Wang GL (王关林). Somatic embryogenesis of *Juglans nigra* L. and establishment of gene transformation system of walnut. *Acta Horti Sin* (园艺学报), 2000, 27 (6): 406~411
- 9 Xing RD (邢瑞丹), Li YD (李亚东), Liu QZ (刘庆忠), Li GT (李国田), Chen X (陈新), Chen M (陈明). Adventitious shoot regeneration from *in vitro* leaf of *Juglans regia* cv. Xiangling. *J Fruit Sci* (果树学报), 2010, 27 (1): 146~149
- 10 Zhang JL (张俊林), Liu QZ (刘庆忠), Fan J (樊靖), Qin L (秦岭). 核桃茎尖增殖培养基筛选试验. *China Fruits* (中国果树), 2008 (2): 40~42
- 11 Ponehia G, Tonon G. Preliminary result of research on micropropagation of walnut. *Rivista di Frutticoltura*, 1993, 55 (1): 91~94
- 12 Zhu YQ (朱玉球), Liao WY (廖望仪), Huang JQ (黄坚钦), Sun XP (孙晓萍). A preliminary study on induction of callus in *Carya cathayensis*. *J Zhejiang For Coll* (浙江林学院学报), 2001, 18 (2): 115~118
- 13 Li JJ (李建军), Li MJ (李明军). The primary study of *Juglans nigra* *in vitro* culture. *J Henan Agric Sci* (河南农业科学), 2005 (9): 64~66
- 14 George EF, Puttock DJM, George HJ. Plant Culture Media. Edington,

- US: Exegetics, 1987. 987
- 15 Liu SL (刘淑兰), Han BW (韩碧文). *In vitro* propagation of walnut (*Juglans regia* L.). *Acta Agric Univ Pekinensis* (北京农业大学学报), 1986, **12** (2): 143~147
- 16 Gruselle R, Boxus P. Walnut micropropagation. *Acta Hort*, 1990, **284**: 45~52
- 17 Fatima A, Kamili AN, Shah AM. Plantlet regeneration from excised embryonal axes, shoot apices, and nodal segments of *Juglans regia* L. *Acta Hort*, 2006, **705**: 387~392
- 18 Xie QX (谢启鑫), Huang ML (黄美连), Wu XP (吴晓萍), Zhuang DH (庄东红). Plant regeneration from leaves of date plum (*Diospyros lotus* L.). *Scientia Agric Sin* (中国农业科学), 2008, **41** (2): 607~612
- 19 Huettelman CA, Preece JE. Thidiazuron: A potent cytokinin for woody plant cell tissue culture. *Plant Cell Tiss Org Cult*, 1993, **33**: 105~121
- 20 Pawlicki G, Welander M. Adventitious shoot regeneration from leaf segments of *in vitro* cultured shoots of the apple rootstock 'Jork 9'. *J Hort Sci*, 1994, **69** (4): 687~696
- 21 Caboni E, Tonelli MG, Lauri P, Angeli SD, Damiano C. *In vitro* shoot regeneration from leaves of wild pear. *Plant Cell Tiss Org Cult*, 1999, **59**: 1~7
- 22 Yu YJ (于亚军), Dai HP (代汉萍), Li BJ (李宝江). 植物激素和生长调节在果树组织培养中的应用. *North Hort* (北方园艺), 2002 (6): 68~70



木本植物有性杂交生殖生物学图谱

李文钊, 马丰山 著 科学出版社出版(2011年3月) ISBN 978-7-03-030472-8/Q·2658 ¥80.00 B5开本 平脊精装

内容简介

本书含80个图版, 其中彩版35版, 700多幅照片。全书共三篇。第一篇, 杨树杂交胚胎学: 杂交亲本种子发育的规律; 组间和属间有性杂交发育的过程; 杂交成功的证明和杂交失败的障碍。第二篇, 杉木远缘杂交有性生殖生物学: 用软X射线检测和分子生物学技术证明了杉木与柳杉属间杂交的可配性; 从胚胎学角度, 揭示了杉木与侧柏科间杂交的不可配性。第三篇, 用细胞生物学技术克服杂交障碍: 用胚珠离体培养克服杨属组间和属间杂交中胚的败育, 获得了杂种苗; 为克服受精作用不能发生而探索雌、雄配子体外受精技术, 获得了杨、榆、松、杉等分离的雌、雄配子。

木本植物有性杂交生殖生物学是从植物胚胎学在树木育种中的应用发展而成的综合性学科。它以传统植物胚胎学、细胞学、生物化学等学科的知识与技能为基础, 以植物生殖生物学的研究内容为中心, 以现代新仪器和新技术为手段研究木本植物有性杂交可配性的机理, 同时探索克服杂交障碍的细胞生物学技术, 以达到挽救杂种的目的。

本书适合大学植物学专业和林学专业的师生, 植物学和林业科学研究机构的研究工作者, 植物园、公园和林场工作的植物育种工作人员参考。

小麦染色体工程 (现代农业高技术丛书)

李集临, 曲敏, 张延明 著 科学出版社出版(2011年4月) ISBN 978-7-03-030688-3/Q·2671 ¥48.00 16开本 平装

内容简介

本书以小麦的染色体工程与分子标记育种为主要内容, 目的是为小麦育种提供一些现代染色体工程和分子标记方面的理论与应用基础。全书共分5章, 第一章是小麦的分类, 第二章是小麦的远缘杂交, 第三章是小麦的染色体工程, 第四章是小麦的细胞质工程, 第五章是小麦分子标记与育种, 主要介绍一些分子标记基础理论知识与方法和小麦转基因研究的进展。

本书文字简练, 引用大量图表, 深入浅出, 注意理论与实际结合, 可读性强, 适合遗传育种专业的本科生、研究生、教师及小麦育种工作者参考。

欢迎邮购各类图书 欢迎致电索要书目

联系人: 科学出版社科学销售中心 周文字 电话: 010-64031535 E-mail: zhouwenyu@mail.sciencep.com

网上订购: <http://shop.sciencepress.cn>

科学出版中心生物分社 电话: 010-64012501 网址: www.lifescience.com.cn E-mail: lifescience@mail.sciencep.com