

## 枣树组织培养研究进展

赵薇 彭建营

(河北农业大学园艺学院,保定 071001)

**摘要:** 综述了枣树的器官培养、愈伤组织培养、花药培养、胚与胚乳培养、原生质体培养以及影响枣树组织培养的其他因素。营养器官培养报道的最多,其他外植体的培养相对较少,研究尚处于起步阶段。还针对枣树组织培养存在问题提出了今后的研究方向。

**关键词:** 枣 组织培养 愈伤组织 原生质体

## Advances in Tissue Culture of Chinese Jujube

Zhao Wei Peng Jianying

(College of Horticulture, Agricultural University of Hebei, Baoding 071001)

**Abstract:** This paper deals with the advances of tissue culture in Chinese jujube, including culture of vegetative organ, callus, anther, embryo, endosperm and protoplast, and other influencing factors, are reviewed. Many researches in culture of vegetative organ have reported in the paper, but a few researches have reported in the other culture of explant. According to the latest achievements and problems in this field, some important aspects about tissue culture of Chinese jujube that should be stressed on in the future are pointed out.

**Key words:** Chinese jujube Tissue culture Callus Protoplast

枣树 (*Ziziphus jujuba* Mill.) 是我国特有果树资源, 在区域经济发展中占有举足轻重的地位, 已成为枣区人民脱贫致富的稳定支柱产业。枣树的组织培养可用于苗木的快繁、无病毒苗木的培育、种质资源的离体保存, 同时也为生物技术育种奠定基础, 其研究始于 20 世纪 70 年代末, 1978 年山东农学院首次利用枣胚乳培养获得三倍体植株<sup>[1]</sup>。之后, 陈维伦等利用组织培养方法诱导酸枣产生胚状体<sup>[2]</sup>。1983 年, 张福泉等以坛坛枣当年生幼嫩茎段为试材获得枣树组培苗<sup>[3]</sup>。此后, 陆续有枣树不同品种组培成功的报道。相对国内研究增多的状况, 国外却鲜有报道, 这与国外枣树栽培数量很少有关。就枣树营养器官培养、愈伤组织培养、花药培养、胚培养、原生质体培养等方面研究现状和存在问题作一评述。

## 1 枣树不同外植体的培养

1.1 营养器官培养通常以茎尖、茎段、芽作为外植体

1.1.1 外植体的选择 外植体的取材部位、大小、时间等直接影响植物组培的结果, 选择合适的外植体是植物组培成功的重要保证。枣树具有木本植物的一般特点, 有幼年型 (juvenility) 和成年型 (maturity) 之分<sup>[4]</sup>。幼年型的状态比较容易培养成功, 因此, 枣树组培外植体取材部位很关键。在茎尖、茎段培养中, 一般选用幼嫩的枣头<sup>[3, 5-12]</sup>, 包括根蘖和休眠枝的水培芽 (梢) 作为外植体<sup>[13, 14]</sup>, 也有采用休眠芽<sup>[15]</sup>做外植体的成功报道。罗晓芳等以金丝小枣为试材, 比较了室外嫩茎、根蘖条水培抽出的嫩芽以及休眠芽作为外植体的效果, 以根蘖条水培抽出的嫩芽效果最好, 其污染率低, 存活率高, 且以后的生长

收稿日期: 2007-01-19

基金项目: 国家自然科学基金项目 (编号: 30270927); 河北省自然科学基金项目 (编号: C2004000363)

作者简介: 赵薇, 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 果树遗传育种和生物技术

通讯作者: 彭建营, E-mail: pjy@hebau.edu.cn; Tel: 0312-7528315

分化状况也最好<sup>[16]</sup>。以上研究表明,不同的枣品种营养器官培养选用不同外植体材料均有可能获得成功,可视具体情况掌握。

对于茎尖、茎段培养,一般来说,材料体积小培养较困难,成苗所需时间长,而培养材料体积大的容易培养成功,但体积大,消毒困难,所以在枣树快繁中接种的茎尖或带腋芽的茎段一般为 1.0cm 左右。

外植体取材时间对枣树组培也有重要影响。室外取材,以枣树萌芽到枣头生长到 10cm 左右时比较适宜,此时期取材污染率低;到夏季,降雨量增大,此期取材污染率高。对于室内做水培用的枝条的采集时间,以枝条通过自然休眠为宜,一般 11 月底至次年萌芽前采集<sup>[16-18]</sup>。不同枣品种取材时间不尽相同,但均以生长旺盛易启动,不易污染为原则。

另外,枣树枝条较强的极性关系在组织培养中也有所体现。研究发现,茎段存在着明显的节位效应<sup>[19]</sup>,充分利用这一特点可大大提高增殖系数和生根率,加快培养进程,缩短培养时间。

**1.1.2 外植体的消毒灭菌** 消毒方法因植物材料的种类和采集时期不同而不同。一般分为两步,先是外植体的前处理,即将外植体浸入稀释的肥皂液、洗衣粉或洗涤剂液中浸泡,再用软刷或油画笔轻轻刷洗外植体表面,除去外植体表面的尘土和部分菌体,然后用自来水冲洗,去除皂液与污物。接着是接种前的消毒,先用 70%~75%乙醇处理 10~50s,再用 0.1%HgCl<sub>2</sub> 浸泡 5~10min,或用 0.5%~2.5%的次氯酸盐浸泡 5~15min,最后用无菌水冲洗 3 次以上<sup>[20]</sup>。嫩枣头枝、叶片或花药的接种前的消毒处理大都采用 70%~75%乙醇处理 10~60s,后用 0.1%HgCl<sub>2</sub> 浸泡 5~10min,最后用无菌水冲洗 3 次以上<sup>[3,10,11,16]</sup>。还有的采用 75%乙醇处理 10s,接着用饱和漂白粉上清液+吐温-20 混合液处理 20min,再用无菌水冲洗 3 次以上<sup>[13]</sup>。也有先用 75%乙醇浸蘸 1min,再用 0.1%HgCl<sub>2</sub>、0.8%次氯酸钠各浸泡 10min,最后用无菌水冲洗 3~4 次的报道<sup>[9]</sup>。另外,只用 2%的 NaClO 溶液消毒 15min 或 0.1%HgCl<sub>2</sub> 浸泡 7~8min,再用无菌水冲洗 3~4 次,也能达到效果<sup>[21,22]</sup>。刘翠云等对黑山晋枣芽采用的是二次升汞灭菌方法,即分 2 次使用 0.1%HgCl<sub>2</sub> 分别消毒 4min,每次

均用无菌水冲洗 3~4 次<sup>[23]</sup>,达到了很好的灭菌效果。采自室内培养植株的材料,用 0.1%HgCl<sub>2</sub> 处理的时间可以适当缩短<sup>[24]</sup>。

**1.1.3 培养基的选择** 枣树的启动培养、增殖培养的培养基一般采用 MS 培养基<sup>[7,10,11,13,17,21]</sup>,也有用改良 MS 培养基的报道<sup>[5,25-27]</sup>。另有研究表明,适当降低 MS 培养基中大量元素的含量,对枣树器官分化有利。李师翁等对临泽小枣的研究发现,适当降低无机盐浓度对枣芽的生长有利,在 1/2MS 上芽的生长较 MS 为好<sup>[28]</sup>,但这一研究结果与刘翠云的结果不一致<sup>[23]</sup>,可能与品种有关。除了 MS 和改良 MS 培养基外,对鸣山大枣、临泽小枣的培养还使用了 H 培养基<sup>[6,30,31]</sup>;对金丝小枣使用了 WP 培养基<sup>[16]</sup>。对于生根培养多采用 1/2MS 培养基<sup>[10-13,22,26]</sup>。陈宗礼等以狗头枣、掉牙枣和骏枣为试材研制出了适宜一次成苗的基本培养基 Cy II,培养结果表明 Cy II 的生根率和成苗率均达 100%<sup>[32]</sup>。

**1.1.4 生长调节物质的影响** 生长调节物质在启动培养中起着关键作用,主要表现在激素的种类、浓度和激素之间的配比等方面。枣树组织培养用到生长素和细胞分裂素。生长素的种类主要有 IBA、IAA、NAA、2,4-D,浓度范围一般在 0.1~0.5mg/L。细胞分裂素多采用 6-BA (1.0~2.0 mg/L)、KT(2.0 mg/L)<sup>[33]</sup>,最近几年用 TDZ 也获得了成功,而且发现其在诱导愈伤组织分化方面作用尤为突出<sup>[19,34]</sup>。激素配比是调控器官发生的主要方法之一,枣树茎段的启动培养中需要较低的细胞分裂素和生长素,设计细胞分裂素和生长素比值一般在 3~5 之间<sup>[35]</sup>。比值过高,虽可提高芽的分化率,但生长较差,并易产生畸形叶和节间短的小枝条;而比值过低,叶、芽长势良好,叶片舒展健壮,但多数是单芽生长,形成一条主茎,分化率较低。

增殖培养中生长素和细胞分裂素的浓度和配比同样起着重要的作用,生长素的浓度一般在 0.1~0.5mg/L。细胞分裂素多采用 6-BA 和 KT,也有使用 BN<sup>[36]</sup>和 TDZ<sup>[37]</sup>的,单独使用 KT、BN 或 TDZ 效果不理想,但与 6-BA 配合使用,对增殖有较好的协同促进作用。增殖阶段的显著特点是加入细胞分裂素的浓度成倍提高,6-BA 浓度达到 2.0mg/L 以上<sup>[13]</sup>。为了缩短继代时间,经常在芽增殖阶段加入一定浓度

的  $GA_3$ , 以达到促进丛生芽伸长的目的。

生根培养的关键在于生长素的种类和浓度。IBA、IAA、NAA 均可用于枣的生根培养, 就三者单独使用而言, 以 IBA 为最佳<sup>[16]</sup>。它的最适浓度在不同品种上显示了不同的结果。罗晓芳等用金丝小枣作试材认为 IBA 在 0.8mg/L 时为最佳浓度<sup>[16]</sup>, 王玉珍用冬枣做试材发现, IBA 浓度在 0.5mg/L 时, 生根率较高<sup>[13]</sup>。也有一些研究显示当 IBA 与 IAA 配合使用时比单独用一种效果好, 但最佳配比不同品种却不一致; 刘翠云等认为黑山晋枣以 IBA0.2mg/L+IAA1.0mg/L 为最佳<sup>[23]</sup>, 杜学梅等认为骏枣以 IBA1.0mg/L+IAA 0.05mg/L 效果最好<sup>[38]</sup>, 李云等认为赞皇大枣以 IBA 0.6mg/L+NAA0.2~0.3mg/L 为最好<sup>[10]</sup>。

### 1.2 愈伤组织培养

植物各种器官及其组织经培养都可产生愈伤组织, 并能不断地继代, 用以研究植物的脱分化与再分化、遗传变异与育种。因此, 愈伤组织是离体培养与生物技术研究的良好实验材料, 其再生系统的建立是细胞培养、原生质体培养及遗传转化等研究工作的基础。胡影等(1993)对民勤小枣叶片进行了愈伤组织的培养, 使用了改良 B5 培养基<sup>[39]</sup>, 陈宗礼等(1996)对狗头枣的叶片进行了愈伤组织的培养, 使用的是 MS 基本培养基, 在 BA 0.3mg/L+2,4-D 2.0mg/L 时, 诱导产生愈伤组织<sup>[40]</sup>。周瑞金(2004)对黄骅冬枣和辣椒枣的叶片进行愈伤组织的培养, 研究表明: 使用 MS 基本培养基, 冬枣在 TDZ1.0 mg/L+IBA0.1-0.5mg/L 时可诱导产生愈伤组织, 辣椒枣在 TDZ0.5mg/L+IBA0.1mg/L 时可诱导产生愈伤组织<sup>[41]</sup>。陈宗礼等(2002)对沾化冬枣进行叶片培养时诱导愈伤组织的培养基为 MS+6-BA0.2mg/L+2,4-D2.0mg/L<sup>[42]</sup>。何振艳等(2002)对山西梨枣进行叶片培养时诱导愈伤组织的培养基为 MS+6-BA1.0mg/L+2,4-D1.5mg/L+AgNO<sub>3</sub> 10.0mg/L<sup>[43]</sup>。伍成厚等(2004)研究表明, 在枣树愈伤组织的继代培养中, 枣树不同品种之间差异明显, 愈伤组织培养过程中, 适宜的激素配比为 NAA 0.015mg/L+ZT 1.75mg/L<sup>[44]</sup>。因此, 培养基的基本成分和激素的种类及浓度对比对愈伤组织的诱导及再分化均会产生影响, 其中以激素的种类和浓度的影响更为明显。

枣树愈伤组织的诱导, 使用的植物材料的来源

可以是不同的。何业华等(1997)对灌阳长枣(中国)、普通枣(日本)、中南林优 1 号的幼叶、嫩枝、芽和花蕾进行了愈伤组织的诱导, 结果表明: 芽、蕾、未展开的幼叶、嫩枝顶部和胚愈伤率均达 100%, 但随着茎、叶发育程度的增加, 愈伤率则迅速降低, 离茎顶 8~12mm 段和展叶后的叶尖愈伤率分别下降 35% 和 80%。胚所产生的愈伤组织最多, 其次是嫩枝顶部和芽, 而花蕾和幼叶愈伤组织形成则较少。同一器官, 分化程度越高, 产生愈伤组织的能力越低。离茎顶端 8mm 以外产生的愈伤组织很少; 未展叶的幼叶比刚展叶的幼叶所形成的愈伤组织要多 130% 左右, 同一片叶, 叶尖所形成的愈伤组织多 15%~26%。因此, 在诱导愈伤组织时, 应根据不同种类的材料选择不同的部位及不同的发育时期<sup>[45]</sup>。

暗处理可以促进愈伤组织发生, 暗处理时愈伤率均达 100%, 光照条件下茎段愈伤率为 70%, 而叶片愈伤率仅为 10%<sup>[45]</sup>。SunQingrong 等(2002)以酸枣 (*Ziziphus spinosus*) 的叶片为外植体, 使用了 WPM 培养基, 研究表明, 将叶片置于黑暗中培养 3 周, 然后再移入光照下培养, 能显著提高芽的诱导率<sup>[46]</sup>。

### 1.3 花药培养

枣的花药培养报道得较少, 只有金丝小枣的花药培养有了成功的报道。无等(韩国的枣品种)花药培养也有报道, 但是只得到了花药愈伤组织<sup>[47]</sup>。天津农学院园艺系的王震星、杨恩芹等(1996)利用 3a 的时间对金丝小枣的花药进行了离体培养, 诱导产生了愈伤组织并再生试管小植株。在培养过程中发现, 以 5 月中旬至 5 月下旬采集的花药较易获得愈伤组织, 此时金丝小枣花蕾和花粉为绿色和黄绿色, 多为花粉的单核靠边期, 此时接种培养较易获得愈伤组织<sup>[48]</sup>。并且低温预处理也影响花药愈伤组织的诱导, 低温预处理可以提高金丝小枣的花药的愈伤组织的诱导率, 5℃低温预处理花药 5d 较为适宜<sup>[49]</sup>。研究所用的培养基为 MS 培养基, 培养基中附加不同浓度和配比的 2,4-D 和 NAA, 花药愈伤组织诱导率存在显著差异, 两者配合使用比单一附加 2,4-D 或 NAA 的诱导率要高, 最佳浓度配比为: 2,4-D1.0mg/L, NAA0.4mg/L。6-BA 是愈伤组织分化小植株的重要因素, 当 6-BA 为 1.5~2.0mg/L 时, 分

化率最高。

另据王震星、刘贵仁等<sup>[50]</sup>(1996);王震星、张磊等<sup>[51-52]</sup>(1998)报道:金丝小枣的花药愈伤组织培养存在倍性变异的问题,对愈伤组织形成的小苗进行镜检发现,存在有单倍体、二倍体、三倍体、四倍体 4 类,倍性变异较大,大多数为二倍体,单倍体比率较低。

#### 1.4 胚乳、胚培养

胚乳是双受精产物之一,它是由 1 个精核和 2 个极核融合而成的,通常是三倍体组织。由胚乳再生的植株通常是三倍体<sup>[53]</sup>。到目前为止,枣胚乳培养只有石荫坪等(1985)有过报道。枣胚乳属核型,发育过程分游离核、细胞形成和细胞急剧解体 3 个时期。分期接种试验表明,胚乳细胞形成时期为接种适宜期。以此期的胚乳为材料,以 MS 为基本培养基,无论单独使用 2,4-D 还是与其他生长素或细胞分裂素相配合,或单独使用蜕皮素,均可诱导出胚状体。将胚状体转入低糖、无激素的 1/2MS 培养基,增加光照,经多次继代,可得到无根苗。再用附加 IBA 的 1/2MS 培养基诱导生根得到了完整三倍体植株<sup>[54]</sup>。

枣树普遍存在胚发育不良或中途败育的现象,通过胚挽救可以获得杂交种或实生后代。Liu MJ 和 Qi YF(2004)以冬枣、金丝丰等枣品种为试材,对坐果后 10~70d 幼胚进行了培养,结果表明,胚龄是影响胚培养成功的关键因素,暗处理对生根有利,低温处理能缩短成苗时间并提高成苗率。枣离体胚接种后主要有 3 种生长方式,即形成愈伤组织、子叶间小叶增生和胚直接萌发成苗。研究还确定了不同胚龄成苗的最适培养基和激素配比,以及胚培养苗移栽的技术要点<sup>[55]</sup>。杜学梅等(2005)以六月鲜枣为试材,对花后 12~82d 的幼胚进行培养,研究表明,适于胚挽救的最小胚龄为花后 50d 左右,并确定了花后 70~72d 胚龄的胚适宜培养基<sup>[56]</sup>。刘贵仁等(1988)还报道了用成熟果实中的胚进行培养<sup>[5]</sup>。另外,马均(2001)对枣胚轴的组织培养进行了研究<sup>[57]</sup>。

#### 1.5 原生质体培养

植物原生质体的培养技术在品种改良上有巨大的潜力。由原生质体培养获得再生植株的木本植

物种类还很少,而获得再生植株的经济林树种就更少(何业华等,2000)。迄今为止,枣树原生质体培养的研究只有 2 篇报道。何业华等(1999a)以无核小枣为试材,用胚性悬浮培养细胞、细粒状胚性愈伤组织、未细切愈伤组织和已细切愈伤组织等 4 种材料进行原生质体分离,结果表明,胚性悬浮培养细胞是最佳起始材料,用浓度为 10g/L 的纤维素酶+1g/L 离析酶+CPW 盐(1320mg/LCaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O 和 100mg/LKH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O 组成的混合液)+0.7mol/L 甘露醇组成的混合酶液对起始材料酶解 16h,可获得较高的原生质体产量,且原生质体活力较高<sup>[58]</sup>。何业华等(1999b)以无核小枣和鸡蛋枣两个枣品种的胚性悬浮细胞经酶解获得的原生质体为材料,用 KM8p 作培养基,附加 NAA0.3mg/L+ZT0.2mg/L,以 5×10<sup>5</sup> 个原生质体/mL 的培养密度,经 10 周浅层培养,可获得直径 1mm 的微愈伤组织。然后在 KM8p+NAA<sub>3.0</sub>+ZT<sub>0.2</sub> 的琼脂培养基和 MS[1/2NO<sub>3</sub>]+NAA<sub>3.0</sub>+ZT<sub>2.0</sub> 的琼脂培养基上增殖,最后转入分化培养基,可获得完整原生质体再生植株,经过驯化阶段后,即可移栽于圃地<sup>[59]</sup>。

## 2 影响枣树组培的其他因素

### 2.1 化学因素

2.1.1 有机碳源 糖类是离体培养的重要碳源,也是离体生长和组织发育必需物质之一。枣培养中的糖一般为蔗糖,浓度为 2%~4%,但不同品种在不同生长阶段对蔗糖浓度的要求也是不同的。黑山晋枣继代培养时糖的适宜浓度为 3%,过高过低均会阻碍其生长;生根培养时,蔗糖浓度由 1%提高到 3%,生根率呈递增趋势,达到 4%时,生根率又开始下降<sup>[23]</sup>。狗头枣继代培养时蔗糖的浓度以 3%为宜,而生根最适宜的浓度为 2%<sup>[9]</sup>;而金丝小枣生根培养的最适糖浓度较低,约为 1%。酸枣生根的蔗糖最适浓度为 2%。多数研究显示当浓度在 1.5%~2%时最适合生根培养,过高或过低都会造成生根率降低,根系发育变弱<sup>[60]</sup>。

2.1.2 pH 值 培养基的 pH 会影响营养和激素的吸收,对枣树的增殖影响较大。不同的枣品种所需 pH 值不同,金丝小枣适宜的 pH 为 6.5<sup>[61]</sup>,红枣组培适宜的 pH 为 6.0<sup>[62]</sup>,而冬枣和酸枣则适合 5.8 的条件。一般来讲枣组培的适宜 pH 范围在 5.8~6.5 之

间,过高会造成培养基硬化,营养物质沉淀,不利于植物生长;过低则无法进行接种操作。

2.1.3 其他添加物 培养基中加入一些附加成分可以起到补充营养和促进试管苗分化的作用。如活性炭可促进 *Z. sativa* 枣的生长<sup>[6]</sup>,还可以促进无核枣试管苗的生根<sup>[12]</sup>,  $\text{AgNO}_3$  有利于毛叶枣和 *Z. nummlaria* 枣叶片和胚再生植株的诱导<sup>[28]</sup>,水解酪蛋白在枣胚状体诱导中有辅助营养作用<sup>[2]</sup>,多效唑可以促进无核金丝小枣组培苗的分化和生根<sup>[64]</sup>,聚乙烯醇可以提高酸枣和冬枣组培苗叶片愈伤组织发生率和发生量,并能提高组培苗在生根培养中的生根条数和根长度<sup>[65]</sup>。

## 2.2 物理因素

2.2.1 光照 光照是植物光合作用的能量来源,对植物的生长发育有重要影响。根据现有资料,枣树试管苗在 1 500~4 000Lx, 12~24h/d 的光照条件下能够正常生长,随着光照强度的升高再生植株的生长速度和移植成活率也随着提高,这一点反映出枣树组培苗需要较强的光照。但是进行枣胚培养时,在弱光条件下(500Lx)最有利于胚状体的形成,而愈伤组织一般也要先进行一段时间的暗培养,然后再恢复正常光照(12h/d, 2 500Lx)进行培养<sup>[52]</sup>。光照时间对植物器官的分化也有一定影响,时间过长过短都可导致分化异常,就根系分化状况而言,在 12~16h/d 的光照条件下,根分化正常率为 93.5%左右,超出此范围,畸形根比例显著增加。罗晓芳等(1996)对金丝小枣的研究表明:光照方向对枣树幼芽的生长状态及增殖系数都有较大影响,枣树组培应采用上光为主<sup>[16]</sup>。

2.2.2 温度 一般来说枣树组培的温度为 25~32℃,温度低于 26℃,生长缓慢,温度高于 35℃,生长过于旺盛,且容易引起试管苗玻璃化。但是不同品种所需的最适培养温度也不相同,金丝小枣的最适温度为 25~29℃<sup>[16,61]</sup>,冬枣为 28~32℃<sup>[13]</sup>,临泽小枣为 25~28℃<sup>[31]</sup>,黑山晋枣为 25~27℃<sup>[23]</sup>。对同一品种而言,不同组织所需的培养温度范围也不完全相同,民勤枣嫩茎诱导愈伤组织的最适温度为 24~31℃,而叶片诱导的最适温度为 23~27℃<sup>[39]</sup>。一般而言枣的组培需要较高的温度,但有些组织的离体培养需要特殊的温度处理,如金丝小枣花药的离体培

养需要低温预处理<sup>[49]</sup>。

2.2.3 密度 接种密度对枣试管苗的生长、分化和生根也有一定的影响,并且适当的接种密度对继代苗的增长会产生显著作用。如狗头枣的适宜接种密度是 8~12 个/150ml 三角瓶<sup>[66]</sup>。这主要是由于一定群落内植物个体间相互产生的信息物的协同刺激作用所致。

## 3 枣树组织培养存在问题与展望

枣树组织培养已经取得了很大发展,特别是快繁技术已臻成熟。但还需从以下几方面加大开发和研究的力度:(1)完善不同枣品种的快繁技术体系,加快名特优稀新品种的繁育;(2)开展枣种质资源的离体培养保存研究;(3)进一步开展枣树授粉受精生物学和胚胎学以及胚挽救技术的研究,为枣树杂交育种扫除障碍;(4)进一步开展原生质体培养和体细胞杂交、花粉和花药培养技术,为倍性育种奠定基础;(5)建立枣高效再生技术体系,为基因工程育种奠定基础。

### 参考文献

- 1 林伯年.中国果树,1978,(3~4):19~27.
- 2 陈维伦,郭东红.植物生理学报,1981,7(1):83~84.
- 3 张福泉,王嘉长,李峰,等.中国果树,1983,(3):46~47.
- 4 陈正华.木本植物组织培养及其应用.北京:高等教育出版社,1986.
- 5 刘贵仁,严仁玲,王震星,等.华北农学报,1988,3(4):116~119.
- 6 王嘉长,张福泉,金芳.甘肃农业大学学报,1990,25(1):106~109.
- 7 朱文勇,杜学梅,郭黄萍.植物生理学通讯,1995,31(4):276~278.
- 8 陈宗礼,延志莲,齐龙.延安大学学报(自然科学版),1994,13(1):66~69.
- 9 陈宗礼,延志莲,齐龙,等.延安大学学报(自然科学版),1996,15(4):40~45.
- 10 李云,王宇,田砚亭.核农学报,2002,16(6):360~365.
- 11 孙浩元,田砚亭.河北林果研究,2000,15(2):147~152.
- 12 王志,孟庆国,杜增良,等.上海农业学报,2002,18(2):15~18.
- 13 王玉珍.植物生理学通讯,1996,32(1):26~27.
- 14 延志莲,陈宗礼,薛皓,等.延安大学学报(自然科学版),2000,19(1):66~71.
- 15 王玉英.植物杂志,1986,(5):31~32.
- 16 罗晓芳,田砚亭,李云,等.北京林业大学学报,1996,18(2):

- 9 ~ 15.
- 17 刘翠云,张小红,马洪明.西北植物学报,1995,15(4):301 ~ 306.
- 18 赵锦,代丽,刘孟军.河北农业大学学报,2005,28(5):45 ~ 47.
- 19 朱忠荣.贵州农学院学报,1997,16(1):8 ~ 16.
- 20 朱广廉.植物生理学通讯,1996,32(6):444 ~ 449.
- 21 王玖瑞,刘孟军,代丽.河北农业大学学报,2003,26(4):59 ~ 61.
- 22 伍成厚,何业华,谢碧霞,等.果树学报,2004,21(6):609 ~ 611.
- 23 刘翠云,李艳,马洪明,等.西北植物学报,1997,17(3):362 ~ 367.
- 24 王玉珍,冯学赞,罗景兰.河北省科学院学报,1999,16(3):315 ~ 317.
- 25 王福喜.阴山学刊·自然科学版,1998,14(3):29 ~ 32.
- 26 高凤菊,朱金英,戴忠民.农业与技术,2004,24(1):75 ~ 79.
- 27 王震星,刘贵仁,唐桂玲.落叶果树,1996,(1):10 ~ 12.
- 28 Mathur N,Ramawat KG,Nandwani D.Plant Cell,Tissue and Organ Culture,1995,43(1):75 ~ 77.
- 29 李师翁,范小峰,佟子林.兰州大学学报(自然科学版),2001,37(1):126 ~ 128.
- 30 王嘉长,金芳.果树科学,1998,15(1):65 ~ 68.
- 31 金芳.甘肃农业科技,1996,(4):21 ~ 22.
- 32 陈宗礼,薛皓,延志莲,等.西北植物学报,2005,25(1):57 ~ 63.
- 33 陈贻金.枣树实用新技术.北京:中国科学技术出版社,1993,50 ~ 55.
- 34 徐华松,徐九龙,黄学林.广西植物,1996,16(1):77 ~ 80.
- 35 曹孜义,刘国民.实用组织培养技术教程.甘肃:甘肃科学技术出版社,1996,108 ~ 116.
- 36 延志莲,陈宗礼,薛皓.延安大学学报,2004,23(3):162 ~ 165.
- 37 陈宗礼,齐向英,张向前,等.西北农业学报,2006,15(3):162 ~ 165.
- 38 杜学梅,郭黄萍,赵玉军,等.中国果树,1997,(4):26 ~ 27.
- 39 胡影,崔建国,施满,等.甘肃林业科技,1993,18(4):18 ~ 19,28.
- 40 陈宗礼,延志莲,齐龙.植物生理学通讯,1996,(1):27 ~ 28.
- 41 周瑞金.枣离体叶片高效再生体系的建立[D].河北农业大学硕士学位论文,2004.
- 42 陈宗礼,延志莲,薛皓,等.植物生理学通讯,2002,38(6):584.
- 43 何振艳,王玉国,石武良,等.植物生理学通讯,2002,38(5):457.
- 44 伍成厚.何业华.谢碧霞.临沂师范学院学报,2004,26(3):59 ~ 61.
- 45 何业华,熊细满,谢碧霞,等.中南林学院学报,1997,17(1):13 ~ 18.
- 46 SunQingrong,LiuQingzhong,SunHongyan.Journal of Fruit Science,2002,19(1):24 ~ 26.
- 47 Oh SD,Ko JA.Effect of low temperature pretreatment and plant growth regulators on anther differentiation and callus formation in vitro anther culture of chinese jujube (*Zizyphus jujuba* Mill.)[C].[韩国],全北大学校论文集(自然科学版),1991,33:247 ~ 256.
- 48 王震星,杨恩芹.河北果树,1996,(3):9 ~ 10.
- 49 王震星,杨恩芹,刘贵仁,等.天津农业科学,1995,1(3):9 ~ 10.
- 50 王震星,刘贵仁,杨恩芹,等.落叶果树,1996,(2):26 ~ 28.
- 51 王震星,张磊.北方果树,1998,(2):5 ~ 6,24.
- 52 王震星,张磊,刘玉芹.植物生理学通讯,1998,34(3):180 ~ 182.
- 53 何业华,胡芳名,谢碧霞.中南林学院学报,2000,(1):31 ~ 39.
- 54 石荫坪,耿如霞,白瑞云,等.山东果树,1985,(1):241 ~ 245.
- 55 Liu MJ,Qi YF.Acta Horticulturae,2004,663(1):479 ~ 482.
- 56 杜学梅,李登科,王永康,等.园艺学报,2005,32(3):496 ~ 499.
- 57 马均.林业科技,2001,26(1):55 ~ 57.
- 58 何业华,胡芳名,谢碧霞,等.中南林学院学报,1999,19(1):20 ~ 23.
- 59 何业华,胡芳名,谢碧霞,等.中南林学院学报,1999,19(3):29 ~ 31,47.
- 60 丁世萍,严菊强,季道藩.植物学通报,1998,15(6):42 ~ 46.
- 61 刘贵仁,王震星,严仁玲.天津农学院学报,1995,2(3):1 ~ 5.
- 62 陈宗礼,李古鹏,延志莲,等.陕西农业科学,2001,(3):9 ~ 11.
- 63 Kim DS, Lee SP.Journal of Korean Forestry Society,1988,77(4):445 ~ 452.
- 64 高凤菊,戴忠民,崔光泉,等.山东农业科学,2004,(4):50 ~ 51.
- 65 王娜,刘孟军,秦子禹.果树学报,2006,23(2):301 ~ 303.
- 66 陈宗礼,延志莲,齐龙,等.延安大学学报,1996,15(1):56 ~ 60.