

草莓‘甜查理’和‘章姬’花药培养及单倍体植株的获得

赵永钦¹ 吴新新¹ 郑禾² 路河³ 郭仰东^{1*}

(1. 中国农业大学 农学与生物技术学院, 北京 100193; 2. 北京市海淀区农业科学研究所, 北京 100080;

3. 北京市昌平区农业技术推广中心, 北京 102208)

摘要 为筛选草莓花药培养及单倍体植株最适宜的培养条件,以草莓栽培品种‘甜查理’和‘章姬’为材料,研究不同预处理方式、花序以及激素种类和配比对草莓花药愈伤组织诱导和分化效率的影响。结果表明:在4℃低温预处理过程中,始终保持花蕾表面湿润状态较自然状态下更能提高草莓花药愈伤的诱导率,最佳处理时间为72 h;北京地区越冬栽培的草莓第1、2花序的花药较第3、4花序花药具有更好的培养效果;筛选出最佳愈伤诱导培养基,其中‘甜查理’愈伤诱导效率最高达到91.67%,‘章姬’为87.28%;筛选出最佳分化培养基,其中‘甜查理’最高分化率达到19.10%,‘章姬’为10.59%。共获得花药培养植株688株,其中‘甜查理’445株,‘章姬’243株。‘甜查理’再生植株中八倍体($2n=8x=56$)、四倍体($2n=4x=28$)植株所占百分比分别为90.43%和7.62%,其他为非整倍体植株。‘章姬’再生植株中八倍体和四倍体植株所占百分比分别为93.42%和4.32%,其他为非整倍体植株。建立了草莓花药培养高频诱导体系并获得了单倍体植株。

关键词 草莓; 花药培养; 单倍体育种

中图分类号 S 668.4

文章编号 1007-4333(2012)05-0039-07

文献标志码 A

Regenerating haploid callus and plantlets from anther culture of strawberry ‘Sweet Charlie’ and ‘Akihime’

ZHAO Yong-qin¹, WU Xin-xin¹, ZHENG He², LU He³, GUO Yang-dong^{1*}

(1. College of Agronomy and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100193, China;

2. Institute of Haidian Agricultural Science, Beijing 100080, China;

3. Beijing Changping Agro-Technical Extension Centre, Beijing 102200, China)

Abstract This research was to study the suitable conditions for anther culture of strawberry (*Fragaria ananassa* Duch.). The investigated impacts included the effects of different cold pretreatments, inflorescences and hormone concentrations on callus induction and differentiation in anther culture of strawberry. The results indicated that maintenance of moist surface of bud could improve the callus induction rate of anther culture during the cold pretreatment at 4℃. The most appropriate duration was 72 hours. For the cultivation of over-wintering strawberry in Beijing, the first and the second inflorescences were more suitable for anther culture than the third and the fourth on callus induction and differentiation. The suitable medium for callus induction was obtained. The callus induction rates of ‘Sweet Charlie’ and ‘Akihime’ were 91.67% and 87.68%, respectively. The best medium for differentiation was found. The differentiation rates of ‘Sweet Charlie’ and ‘Akihime’ were 19.10% and 10.59%. Totally, 688 (including 445 ‘Sweet Charlie’ and 243 ‘Akihime’ plants) anther derived plants were obtained through this experiment. In the analysis of ‘Sweet Charlie’, diploids covered ($2n=8x=56$) 90.43%, haploids ($2n=4x=28$) 7.62% and the others

收稿日期: 2012-02-12

基金项目: 国家重大基础研究 973 课题(2009CB119000); 中央高校基本科研业务费专项(2009-2-06)

第一作者: 赵永钦, 博士研究生, E-mail: zhaoyongqin2010cau@163.com

通讯作者: 郭仰东, 教授, 主要从事植物遗传育种与生物技术研究, E-mail: yaguo@cau.edu.cn

were aneuploids among the 445 regenerated plants. For 'Akihime', diploids covered 93.42%, haploids 4.32% and the others were aneuploids among the 243 regenerated plants. A high frequency induction system of strawberry was established by anther culture and haploid plants were obtained.

Key words strawberry; anther culture; haploid breeding

草莓(*Fragaria ananassa* Duch.)是蔷薇科草莓属多年生草本植物,为世界七大水果之一。果实颜色鲜艳、柔软多汁,富含糖、蛋白质、维生素和花青素等营养物质,不仅可以鲜食,也是一种很好的工业加工原料。草莓传统的繁殖方法是分株繁殖,该方式繁殖速度慢且容易感染病毒病,造成品质下降^[1]。草莓是高度杂合的多倍体植物,利用花药或未传粉子房培养获得单倍体植株,再经染色体加倍形成纯合二倍体,为草莓的遗传研究提供纯系材料,因此花药培养技术在草莓遗传育种过程中具有十分重要的意义。草莓花药培养始于20世纪70年代,国内外除少数几例报道获得单倍体植株外,大多数研究中,再生植株为二倍体和非整倍体^[2-8]。研究者推测,这些二倍体植株可能起源于 $2n$ 花粉,也可能起源于体细胞组织,或者是花粉植株的自然加倍,但均没有试验证据。也有研究证实,草莓花药培养获得的再生植株大多不带病毒,因此认为,草莓除采用茎尖分生组织培养脱毒外,花药培养也有可能作为草莓另一种脱毒途径加以利用,从而拓宽了草莓花药培养的应用范围^[9]。此外,前人的研究表明,通过改变花药培养条件如低温预处理^[10-11]、高压静电处理^[12]、 γ 射线处理^[13]及新型生长调节剂^[14-15]的应用均可以提高草莓花药培养效率。然而,草莓花药培养整体分化效率仍然不高,其主要限制因素是花药愈伤的分化能力低,因此该技术仍有待进一步发展。在诱导过程中,诸如预处理方式、花药的生理状态、激素的种类和配比等因素对诱导花药脱分化和再分化的影响等都需要做进一步研究和探讨。本研究在前人研究的基础上,就上述问题展开探索,以期得到有效的调控方法。

1 材料与方法

1.1 材料及预处理

以目前北京主栽草莓品种‘甜查理’和‘章姬’适龄花蕾为材料。晴天上午9:00—10:00在健壮无病虫害植株上取直径为3~5 mm花蕾(镜检为单核靠

边期),储存于冰盒中带回实验室。采用以下5种方式对花蕾进行预处理,第1种方式为:不经任何处理,直接接种材料,标记为 T_0 ,第2、3种处理方式:自然状态下放入干燥的培养皿中于4℃冰箱中分别处理3和5 d,标记为 T_1 、 T_2 ;第4、5种处理方式:先用自来水冲洗干净,然后用蒸馏水冲洗2次再放入铺有湿润滤纸的培养皿中,期间喷水始终保持外植体表面及滤纸湿润(避免皿的底部积水)4℃冰箱中分别处理3和5 d,标记为 T_3 、 T_4 。

1.2 花药消毒与接种培养

在超净工作台上,先用无菌滤纸吸干预处理花蕾表面的水分,用75%酒精灭菌40 s,用无菌水冲洗1~2次,然后转入0.1% $HgCl_2$ 溶液中,摇床振荡(28℃,180 r/min)处理8~10 min,再用无菌水冲洗3~5次,无菌滤纸吸干表面水分。接种时用小弯钩镊剥取花药(尽量去除花丝)迅速接种于愈伤诱导培养基中。培养温度为(25±1)℃,暗培养1周后转为每日日光灯光照16 h,光强2 000 lx左右,湿度为85%左右环境下培养。

1.3 培养基

参照文献和预试验结果,研究不同预处理方式对花药愈伤组织诱导效率的影响选用的基本培养基为:MS+6-BA 1.5 mg/L+KT 0.5 mg/L+2,4-D 1.5 mg/L+3%蔗糖+0.8%琼脂,pH 5.8。不同花序花药均经过预处理方式 T_3 的处理后,在培养基:MS+6-BA 1.5 mg/L+KT 0.5 mg/L+2,4-D 1.5 mg/L+3%蔗糖+0.8%琼脂,pH 5.8上,诱导花药愈伤组织。不同激素种类和对比对愈伤诱导效率的影响采用的基本培养基为:MS+6-BA 2.0 mg/L+KT 0.5 mg/L+3%蔗糖+0.8%琼脂,pH 5.8,附加不同浓度的2,4-D,处理质量浓度分别为0.5、1.0、2.0和3.0 mg/L,各培养基依次记为 M_1 、 M_2 、 M_3 和 M_4 。愈伤分化基本培养基为:1)MS+6-BA 2.0 mg/L+KT 2.0 mg/L+3%蔗糖+0.8%琼脂,pH 5.8,附加不同质量浓度的IAA,处理质量浓度分别为0.5、1.0、1.5和2.0 mg/L;2)MS+IAA

1.0 mg/L+3%蔗糖+0.8%琼脂,pH 5.8,附加不同浓度的 TDZ(Thidiazuron, 噻苯隆),处理质量浓度分别为 1.0、2.0、3.0 和 4.0 mg/L,各培养基依次记为 M₅、M₆、M₇、M₈、M₉、M₁₀、M₁₁ 和 M₁₂。

1.4 数据的调查与统计

本研究所有数据均用 Excel 2003 软件进行分析,应用 SAS 8.0 软件(Duncan 法)进行差异显著性($P<0.05$)分析。每个处理设 3 个重复,每个重复接种 5 皿(15 mm×90 mm),每皿接种 40 枚花药。先暗培养 1 周,转入光下 30 d 后统计直径大于 1 mm 的愈伤组织数量。将从诱导培养基上产生的生长状态良好的愈伤组织(绿色,致密)转移到分化培养基上培养,40 d 后调查分化出幼苗的愈伤组织数量。每种分化培养基设 3 个重复,每个重复接种 4 个培养皿,每皿接种 6 个愈伤组织。愈伤组织诱导率/%=(产生愈伤组织的花药数量/个)/(接种的花药数量/个)×100;分化率/%=(分化出幼苗的愈伤组织数量/个)/(接种愈伤组织数量/个)×100。

1.5 再生植株的倍性检测

采用美国 BD 公司的 FACSCalibur 流式细胞仪(flow cytometry)进行倍性检测,并用 Cell Quest(BD 公司)软件获取数据,使用 Mod Fit 软件(Yerity Software House 公司)分析结果。取植株新鲜叶片 0.5 g 左右,分别在 2 mL 细胞裂解液中用锋利的刀片切碎、过滤和收集滤液,经 800 r/min 离心 5 min 后,用 PI(propidium iodide 碘化丙啶,50 g/mL)染液对细胞核 DNA 进行荧光标记,置于暗处 30 min 后,用流体细胞仪进行植株倍性鉴定。

以染色体数目为 $2n=8x=56$ 的‘甜查理’组培苗作对照调整流式细胞仪,使对照的 G1 期位于 100 道附近。G1 期的 DNA 峰值处在 50、100 和 200 道附近的分别为四倍体、八倍体和十六倍体,其余为非整倍体^[16]。

1.6 再生植株的生根、炼苗和移栽

将高约 3 cm 且生长健壮的无根幼苗接种于 1/2 MS 培养基上。生根培养 30 d 后,生根达到 3~5 条,开口置于室温下培养 3 d,将完整小苗从培养瓶中取出,洗净根部的培养基,种植于草炭和蛭石(1:1)的无菌基质中。保持相对湿度在 80%~90%,温度 20~25 °C,避免强光照射,用透过率为 70%的遮荫网覆盖,成活率可达 95%以上。

2 结果与分析

2.1 不同预处理方式对花药愈伤诱导效率的影响

花药在进行愈伤诱导前,经过一段时间的低温预处理,从而提高花药愈伤组织的诱导率,是植物花药培养过程中广泛采用的一种措施,但不同物种之间适宜处理条件存在差异^[17-19]。试验表明(表 1),不同处理方式对愈伤诱导的影响差异显著,‘甜查理’和‘章姬’花药经过 T₃ 方式处理后,2 个供试基因型愈伤组织诱导率分别达 90.05%和 83.56%,显著高于其他预处理方式。离体花蕾经过 60~84 h 低温处理后镜检小孢子仍处于单核靠边期。当低温处理超过 108 h,花冠开始蓬松(灭菌过程对花药的伤害程度更加严重)萼片边缘开始萎蔫,花托伤口处褐化,部分小孢子发育至双核期。而在预处理期间

表 1 不同预处理方式对不同品种花药愈伤诱导率的影响

Table 1 Effects of different pretreatments on callus induction rate of strawberry

预处理方式	甜查理			章姬		
	接种花药数量/个	愈伤组织数量/个	愈伤诱导率/%	接种花药数量/个	愈伤组织数量/个	愈伤诱导率/%
T ₀	600	285.66	47.61±1.06 d	600	240.00	40.00±0.85 e
T ₁	600	444.66	74.11±1.79 b	600	405.00	67.50±0.60 b
T ₂	600	289.32	48.22±1.02 d	600	280.32	46.72±1.12 d
T ₃	600	540.30	90.05±2.26 a	600	501.36	83.56±1.29 a
T ₄	600	380.04	63.34±1.45 c	600	358.32	59.72±1.53 c

注:不同字母表示不同处理间差异显著, $P<0.05$ 。下表同。

及时补充花蕾表面水分能改善花药细胞的活力,利于后期的培养。经过湿润、低温处理的花药,培养15 d左右即有可见的愈伤组织形成,较不经过低温处理的花药明显提前。

2.2 不同花序花药对愈伤诱导的影响

北京地区温室越冬栽培的草莓在一个生长周期内一般可以抽生4个花序,第1花序在11月上旬开放,第2花序在次年1月中旬开放,第3花序3月上

旬开放,第4花序在4月中下旬开放。在一个生长周期内连续采集不同花序的花药分别进行培养,研究了不同花序花药培养效果。结果表明(表2),2个供试基因型不同花序花药愈伤诱导率差异显著,均表现为第1、2花序花药愈伤诱导效率较第3、4花序不但诱导率高,而且出愈整齐。‘甜查理’第一花序的花药愈伤诱导率为83.94%,第2、3花序花药愈伤的诱导率逐步下降,第4花序花药愈伤的诱导率

表2 不同花序花药对不同品种愈伤组织诱导率的影响

Table 2 Effects of different inflorescence on callus induction rate of strawberry

花序	甜查理			章姬		
	接种花药数量/个	愈伤组织数量/个	愈伤诱导率/%	接种花药数量/个	愈伤组织数量/个	愈伤诱导率/%
第1花序	600	503.67	83.94±1.57 a	600	537.37	89.56±1.53 a
第2花序	600	451.00	75.17±1.70 b	600	333.33	55.56±1.26 b
第3花序	600	209.00	34.83±1.46 c	600	151.00	25.17±1.13 c
第4花序	600	95.00	15.83±2.55 d	600	75.00	12.50±1.20 d

仅为15.83%。‘章姬’第1花序花药愈伤的诱导率为89.56%,第2、3花序的诱导率也逐步下降,第4花序的花药愈伤诱导率仅为12.50%。

2.3 不同激素种类和对比对愈伤诱导的影响

不同基因型的草莓其内源激素水平不同,对外源激素的种类和浓度要求也不同。当适当浓度的6-BA与生长素IAA、NAA、2,4-D配合使用时,可以诱导草莓花药高质量的愈伤组织,这与前人研究结论基本一致。试验结果表明(表3、4),不同激素浓度配比不仅对不同基因型的草莓愈伤组织诱导和分化的影响不同,而且对同一品种愈伤组织诱导和

愈伤组织分化的影响也不同(表5、6)。培养基M₃对2个供试品种愈伤诱导率均较高,其中‘甜查理’为91.67%、‘章姬’为87.28%,且所形成的愈伤绿色致密、表面突起、分化潜力大;随着附加2,4-D浓度的提高,花药愈伤诱导率均变为先升高后降低,最佳浓度为2.0 mg/L。最佳分化培养基均为M₁₁,其中‘甜查理’分化率最高达到19.10%,‘章姬’为10.59%;其次,培养基MS+6-BA 2.0 mg/L+KT 2.0+1 mg/L AA 1.5 mg/L+3%蔗糖+0.8%琼脂,pH 5.8,也获得了较高的分化率‘甜查理’为14.06%,‘章姬’为8.11%。

表3 不同激素种类和对比对‘甜查理’愈伤组织诱导率的影响

Table 3 Effects of different combinations of hormone on the callus induction of ‘Sweet Charlie’

基因型	培养基	接种花药数量/个	愈伤诱导数量/个	愈伤诱导率/%	愈伤组织状态
甜查理	M ₁	600	302.50	33.89±1.09 d	白色或黄色松软
	M ₂	600	480.50	73.44±2.02 b	白色或淡绿色松软
	M ₃	600	562.50	91.67±1.19 a	绿色致密表面颗粒状
	M ₄	600	414.50	58.78±1.92 c	黄色致密块状

表 4 不同激素种类和配比‘甜查理’对愈伤组织诱导率的影响

Table 4 Effects of different combinations of hormone on the callus induction of ‘Sweet Charlie’

基因型	培养基	接种花药数量/个	愈伤诱导数量/个	愈伤诱导率/%	愈伤组织状态
章姬	M ₁	600	198.67	33.11±1.18 c	白色或黄色松软
	M ₂	600	414.67	69.11±1.56 b	黄色或淡绿色松软
	M ₃	600	523.67	87.28±2.06 a	绿色致密表面粒状
	M ₄	600	233.33	38.89±1.69 c	淡绿或黄色致密块状

表 5 不同激素种类和配比对‘甜查理’愈伤组织分化率的影响

Table 5 Effects of different combinations of hormone on the callus differentiation of ‘Sweet Charlie’

基因型	培养基	接种愈伤数量/个	愈伤分化数量/个	愈伤分化率/%
甜查理	M ₅	192	0.00	0.00±0.00 d
	M ₆	192	3.00	1.56±0.60 cd
	M ₇	192	27.00	14.06±0.80 b
	M ₈	192	7.67	3.99±0.63 c
	M ₉	192	2.67	1.39±0.46 d
	M ₁₀	192	25.67	13.37±2.46 b
	M ₁₁	192	36.67	19.10±0.71 a
	M ₁₂	192	2.00	1.04±0.30 d

表 6 不同激素种类和配比对‘章姬’愈伤组织分化率的影响

Table 6 Effects of different combinations of hormone on the callus differentiation of ‘Akihime’

基因型	培养基	接种愈伤数量/个	愈伤分化数量/个	愈伤分化率/%
章姬	M ₅	192	0.00	0.00±0.00 c
	M ₆	192	3.00	1.56±0.03 bc
	M ₇	192	15.57	8.11±0.25 a
	M ₈	192	6.33	3.30±0.46 b
	M ₉	192	2.33	1.22±0.17 bc
	M ₁₀	192	6.67	3.47±0.76 b
	M ₁₁	192	20.33	10.59±0.13 a
	M ₁₂	192	6.33	3.30±1.02 b

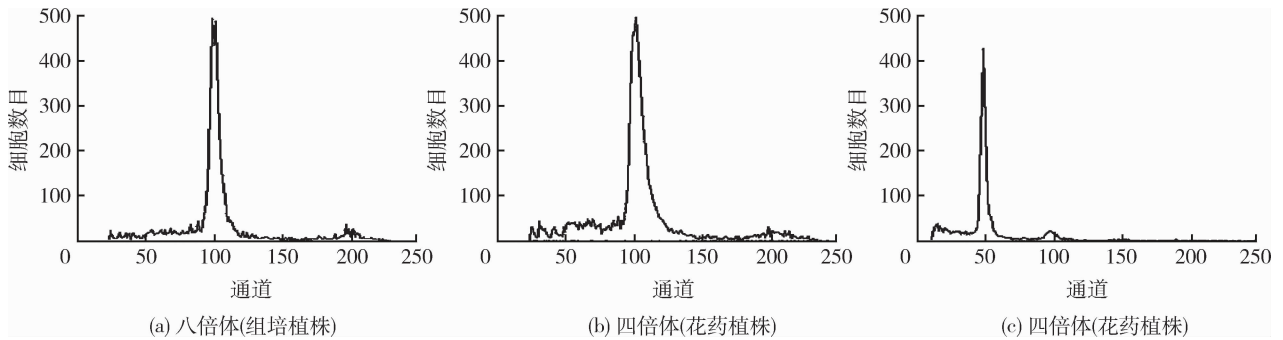


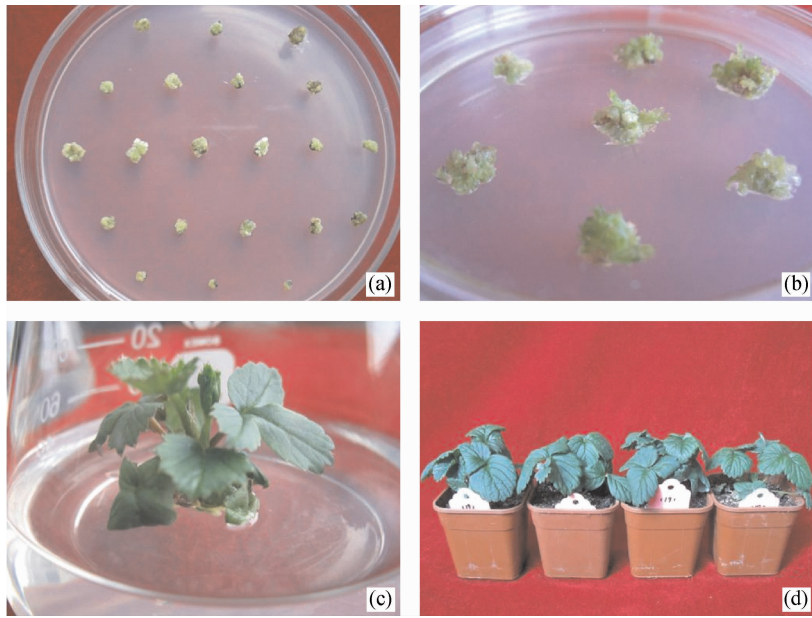
图 1 流式细胞仪测定的‘甜查理’花药培养再生株 DNA 含量分布图

Fig. 1 Nuclei DNA content of ‘Sweet Charlie’ plants regenerated from anther culture

2.4 再生植株倍性检测

经细胞流式技术检测 2 个草莓品种的花药培养再生植株(图 1), ‘甜查理’再生植株八倍体、四倍体所占比例分别为 90.43%、7.62%, 其他为非整倍

体;而‘章姬’再生植株八倍体、四倍体所占比例分别为 93.42%、4.32%, 其他为非整倍体。在所获得的再生植株中单倍体所占比例偏低, 这一比例与 Henry 等^[7]的研究结果类似但仍可满足草莓单倍体



(a) 花药愈伤组织; (b) 愈伤组织分化; (c) 再生植株; (d) 再生植株。

图2 ‘甜查理’花药培养和植株再生

Fig. 2 Anther culture and plant regeneration of ‘Sweet Charlie’

育种的需要。

4 讨论

为了提高草莓花药植株的诱导率,往往在接种花药前进行预处理,这在诱发小孢子脱分化方面具有重要作用。低温预处理花蕾能够提高花药植株的诱导率已在多种植物中得以证明,低温预处理通过延缓花药正常发育途径,从而有利于花药培养过程中细胞的脱分化。若处理时间过长,诱导率反而显著下降,这可能是由于长时间的低温处理造成花药内部营养的过度消耗而引起生活力下降而影响培养效果。1973年,Nitsch^[17]首次报道通过低温预处理能提高烟草花药培养诱导率。向发云等^[20]研究证实,草莓花药经8℃低温处理2d,可提高愈伤组织诱导率,同时愈伤组织形成的时间也明显提前。本试验结果显示,在对草莓花药进行预处理时,始终保持花蕾表面湿润,经4℃低温处理72h左右可显著提高花药整体活力,进而提高愈伤诱导率。

花药培养的愈伤组织诱导和植株再生是2个相对独立而又相互关联的过程,一个培养体系的效率除了愈伤组织诱导效率外,愈伤组织状态通常影响后期分化能力。组织培养中外植体的生理状态影响培养效果,试验表明,北京地区温室越冬栽培的草莓

花药培养的取材以第1、2花序花药为宜,第3、4花序的诱导与分化能力均较差。这可能是因为温室栽培的草莓第1、2花序开花期间,整个植株生理状态处于旺盛发育期,花药的整体生理代谢水平较高,因而有利于花药培养的进行;而第3、4花序的生长期间植株经过前期开花、结果等生理活动的消耗,植株已逐渐进入衰老期,且此时容易发生病虫害等,因而导致花药的发育质量下降,从而影响了培养效率。这一研究结果与查中萍等^[21]的研究结果不一致,可能是由于所选基因型及草莓栽培环境不同引起的差异造成的。

激素种类和配比是影响外植体器官发生的重要因素。在离体培养中生长素有利于根的形成,而细胞分裂素有利于芽的形成,通过改变二者的比例可以调节芽的形成。研究结果表明,要获得草莓较高的愈伤诱导率和分化率无论是生长素还是细胞分裂素都应维持在较高的水平,愈伤诱导阶段需要较高浓度的生长素,而分化阶段则需要在较高细胞分裂素的条件下进行。侯喜林^[22]研究指出,草莓栽培种的花药培养较难获得 $n=4x=28$ 的多元单倍体植株,所获得的再生植株有的起源于体细胞,有的起源于配子体组织,但因其染色体 $n=28$ 是由多个染色体组组成的,在愈伤组织培养过程中易发生自然加

倍,因此所形成植株染色体与体细胞相同。花药培养得到的再生植株可能起源于 $2n$ 花粉,也可能起源于体细胞组织,或者是花粉植株的自然加倍,结果与本研究基本一致,即通过花药培养获得的单倍体的效率较低,仅为7.62%和4.32%。若进一步揭示单倍体发生效率低的机理,仍需进一步提高花药愈伤的分化效率,研究为进一步的研究工作奠定了基础。

参 考 文 献

- [1] 周厚成,何水涛. 草莓病毒病研究进展[J]. 果树学报,2003(5): 421-426
- [2] Fowler C W, Hughes H G, Janick J. Callus formation from strawberry anthers[J]. Hort Res,1971,11:116-117
- [3] Rosati P, Deweux M, Laneri U. Anther culture of strawberry [J]. Hort Sci,1975,10:119-120
- [4] Niemirowicz-Szczytt K. Strawberry (*Fragaria* \times *ananassa* Duch.) haploids and their generative progeny induction and characteristics (M). Warszawa: Warsaw Agricultural University Press,1987:1-64
- [5] Niemirowicz-Szczytt K, Zakrzewska Z, Malepszy S, Kubicki B. Characteristics of plants obtained from *Fragaria* \times *ananassa* in anther culture[J]. Acta Hort,1983,131:231-235
- [6] Svensson M, Johansson L B. Anther culture of *Fragaria* \times *ananassa*: Environmental factors and medium components affecting microspore divisions and callus production[J]. J Hort Sci,1994,69:417-426
- [7] Henry R, Owen A, Raymond M. Haploid plant regeneration from anther cultures of three north american cultivars of strawberry (*Fragaria* \times *ananassa* Duch)[J]. Plant Cell Rep, 1996,15:905-909
- [8] Quarta R, Nati D, Paoloni F M. Strawberry anther culture[J]. Acta Hort,1991,300:335-339
- [9] 大泽胜次,西贞夫. 用花药培养法大量培育草莓无病毒植株的研究[J]. 农业园艺(日),1974(4):537-540
- [10] 晁慧娟,刘敏,姬谦龙,等. ‘甜查理’草莓花药培养脱毒技术[J]. 北京农学院学报,2010,25(2):18-21
- [11] 任建宏,王占明,刘晶,等. 草莓‘拉松7号’花药培养研究[J]. 安徽农业科学,2010,38(5):2250-2253
- [12] 李玉花,邓继光,雷家军,等. 高压静电场对草莓花药愈伤组织诱导和分化的影响[J]. 沈阳农业大学学报,1995,26(2):136-141
- [13] 张慧琴,谢鸣.⁶⁰Coy 辐照对草莓花药愈伤组织诱导和分化的影响[J]. 核农学报,2007,21(3):229-231
- [14] 王敬东,张丽,马洪爱,等. 植物生长调节 TDZ 在草莓花药培养中的应用[J]. 安徽农业科学,2011,39(5):2588-2590
- [15] 吴伟民,陈晓强,陈秀兰,等. CPPU 对草莓花药愈伤组织诱导和分化的影响[J]. 中国南方果树,1999,28(2):36
- [16] 陈斌,耿三省,张晓芬,等. 辣椒花药培养再生植株染色体倍数检测研究[J]. 遗传育种,2005(4):28-30
- [17] Nitsch C, Norreel B. Factors favoring the formation of androgenetic embryos in anther culture [J]. Basic Life Sciences,1973(2):129-144
- [18] Na H, Kim D, Chun C. Effects of cold pretreatment and medium composition on anther culture initiation in strawberry [J]. Korean Jour of Hort Sci and Tech,2011,29(5):488-493
- [19] 乔奇,张振臣,靳秀兰,等. 低温处理对草莓花药培养的影响[J]. 华北农学报,2001,16(植物保护专辑):109-111
- [20] 向发云,曾祥国,冯小明,等. 草莓花药不同类型愈伤再生能力比较[J]. 安徽农学通报,2008,14(23):35-36
- [21] 查中萍,柳俊,刘定富. 影响草莓花药培养因素的分析[J]. 安徽农业科学,2006,34(1):24-28
- [22] 侯喜林. 不同品种和激素对草莓花药培养的影响[J]. 南京农业大学学报,1992,15(2):21-28

责任编辑:王燕华