

早熟油桃子叶和胚轴离体培养再生植株的研究

韩明玉 张满让 田增胜 孙跃峰 田玉命 王安柱 赵彩平

(西北农林科技大学园艺学院, 陕西杨凌 712100)

摘要: 以早熟油桃‘华光’和‘曙光’为试材, 对影响其子叶和胚轴再生的植物生长调节剂浓度及组合、培养基、胚发育时期等因素进行了研究。结果表明: 子叶培养中, 华光花后 60 d 为最佳取材时期, 其子叶在 MS + TDZ 2 mg/L + NAA 0.04 mg/L 的培养基上再生率为 75%; 曙光则要取花后 68 d 成熟期子叶, 其在 MS + BA 8 mg/L + NAA 0.04 mg/L 培养基上再生率为 66.7%。胚轴培养中, 上、下胚轴无显著差异, 华光胚轴再生以 G + TDZ 3.0 mg/L + KT 1.0 mg/L + NAA 3.0 mg/L 效果较好; 曙光胚轴再生以 QL + TDZ 2.0 mg/L + NAA 0.5 mg/L 效果较好。

关键词: 油桃; 胚轴; 子叶; 再生植株

中图分类号: S 662.1 文献标识码: A 文章编号: 0513-353X (2006) 05-0957-06

Plant Regeneration with in Vitro Culture from Cotyledons and Hypocotyls of Early-ripen Nectarines (*Prunus persica* var. *nectarina*)

Han Mingyu, Zhang Manrang, Tian Zengsheng, Sun Yuefeng, Tian Yuming, Wang Anzhu, and Zhao Caiping
(College of Horticulture, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: The cotyledons and hypocotyls of early-ripen nectarine varieties, ‘Huaguang’ and ‘Shuguang’, were cultured in order to study the factors affecting their regeneration, such as density and combination of plant growth moderators, culture medium and embryo developing phases. Cotyledons of different development stages, namely 30, 40, 50, 60 days after blossom and mature cotyledons respectively, was cultured with MS medium mixed with BA, TDZ, ZT, KT and NAA. The results showed that the best time to culture cotyledons of ‘Huaguang’ was 60 days after blossom and the regeneration rate of the cotyledons was 75% when they were cultured with MS + TDZ 2 mg/L + NAA 0.04 mg/L. Mature cotyledons, 68 days after blossom, were the best for ‘Shuguang’ and the regeneration rate was 66.7% when the cotyledons were cultured with MS + BA 8 mg/L + NAA 0.04 mg/L. There was no remarkable difference between upper and lower hypocotyls in their culture. The G medium combined with TDZ 3.0 mg/L, KT 1.0 mg/L, and NAA 3.0 mg/L was the best for Huaguang’s hypocotyls regeneration. The QL medium combined with TDZ 2.0 mg/L and NAA 0.5 mg/L was the best for Shuguang’s hypocotyls regeneration. The hypocotyls could directly regenerate plants.

Key words: Nectarine; Hypocotyl; Cotyledon; Plant regeneration

建立高效稳定的再生体系一直是桃基因工程发展的瓶颈^[1]。国外对合子胚再生已有较多的研究^[2~5], 以合子胚的各部分(包括胚轴和子叶)为外植体可诱导器官发生^[3]和体细胞发生^[2,4,5], 但再生率低; 国内栽培品种研究较少, 且主要集中在中晚熟品种上^[6], 并且也存在再生率不稳定、再生效果不理想等问题。

油桃(*Prunus persica* var. *nectarina*)是目前我国桃育种的主要方向, 特别是早熟油桃再生体系的研究还没有相关报道。

作者进行了早熟油桃‘华光’和‘曙光’不同时期子叶再生植株的研究, 以这两个品种幼胚的胚轴为外植体进行离体培养, 以期建立一个稳定的油桃再生体系, 为以后通过基因工程改良油桃的性

收稿日期: 2005-11-08; 修回日期: 2006-06-01

基金项目: 国家‘863’项目(2001AA241143); 国家科技攻关项目(2002BA515B10-4)

状奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

果实取自陕西杨凌夏家沟村,以‘华光’(丽格兰特×瑞光2号)和‘曙光’(瑞光3号×NJN76)为试材,其生育期分别是65 d和68 d,分别取花后30、40、50、60 d和成熟期果实。果实成熟后胚的大小为0.5 mm左右。

1.2 子叶培养再生植株试验

1.2.1 采样时期及细胞分裂素的筛选 各发育阶段(盛花后30、40、50、60 d)和成熟期果实均取100个,灭菌后进行接种^[7],接种前先把子叶划伤。每瓶接种4片子叶,每个处理3瓶,重复5次。基本培养基均为MS;细胞分裂素为6-BA、TDZ、ZT、KT;生长素NAA;蔗糖30 g/L;琼脂5.7 g/L; pH 5.8。接种后先暗培养28 d,然后转入光下进行光、暗交替培养,光周期为14 h,温度均为(25±2)。

1.2.2 培养基筛选 选用MS、G、WPM为基本培养基^[8],细胞分裂素为6-BA 5.0 mg/L,生长素为NAA 0.04 mg/L,培养条件同上,确定子叶再生的最佳培养基。

1.2.3 暗培养天数的筛选 暗培养天数设4个处理:14、21、28、35 d,基本培养基为MS,附加6-BA 5.0 mg/L, NAA 0.04 mg/L。每瓶4个子叶,每个处理重复15次。均放在光下培养40 d后统计不定芽再生数量。

1.2.4 不定芽的增殖及再生苗的生根 子叶再生的不定芽分别转至WPM、MS和G培养基上,均添加6-BA 2.0 mg/L, BA 0.5 mg/L,1个月以后统计增殖效果。子叶再生的不定芽经增殖后接种在1/2MS培养基,分别附加不同浓度BA上生根,调查生根率和每个茎尖平均有效根数量。

1.3 胚轴培养再生不定芽试验

1.3.1 胚轴的部位对其再生不定芽的影响 将早熟油桃华光发育65 d、曙光发育68 d的成熟胚灭菌、剥皮接种到WPM+6-BA 1.0 mg/L+BA 0.2 mg/L的培养基上,培养14~20 d后,下胚轴发育为0.8~1.0 cm,上胚轴发育为1.0~1.5 cm。

将萌发的上胚轴由中间分开切成上下两部分,然后将上下部分及下胚轴分别切成5 mm左右的小段,中间用手术刀刻伤,华光接种于G+TDZ 3.0 mg/L+KT 1.0 mg/L+NAA 3.0 mg/L,曙光接种于QL+TDZ 2.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L培养基中,常温光下培养,28 d后统计再生率。每个三角瓶接种5段,每个处理2瓶,重复6次。

1.3.2 暗培养和培养基对胚轴再生不定芽的影响 将萌发的小苗的上下胚轴分别切成5 mm左右的小段,中间用手术刀刻伤,接种于G+TDZ 3.0 mg/L+KT 1.0 mg/L+NAA 3.0 mg/L和QL+TDZ 2.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L培养基中,常温下暗培养0、7和14 d后,转入正常光下培养,28 d后统计再生率。每瓶接种5段,每个处理2瓶,重复6次。

1.3.3 生长调节剂组合对上胚轴再生不定芽的影响 将萌发的小苗的胚轴分别切成5 mm左右的小段,中间用手术刀刻伤,接种于不同浓度的TDZ、KT和NAA组合胚轴再生培养基G-1~G-6和QL-1~QL-6(详见表6)中,常温光下培养,28 d后统计再生率。每个三角瓶接种5段,每个处理2瓶,重复6次。

1.4 试验数据的记录与处理

在每次进行数据记录的同时记录外植体的生长状态及愈伤组织的形态等。再生率(%)=(再生不定芽外植体数/接种外植体数)×100;平均再生不定芽数=再生不定芽总数/能再生的外植体数。数据处理采用SAS 8.1统计分析软件进行。

2 结果与分析

2.1 子叶培养再生植株

2.1.1 不同培养基的影响 将华光和曙光花后 60 d 的子叶分别接种至 G、WPM、MS 培养基上, 1 个月后统计再生不定芽的子叶外植体数, 计算再生率。

由表 1 可知, 在 3 种培养基中, MS 培养基上再生率最高, WPM 培养基上最低, 说明 MS 为油桃子叶再生植株的较适培养基。

2.1.2 不同取样时期及细胞分裂素的影响

不同取样时期的子叶, 再生能力差异很大。花后 30、40 和 50 d 可能由于果实种胚太小, 华光和曙光两个品种的子叶再生率均为 0。花后 60、65 及 68 d 的子叶在不同细胞分裂素的作用下, 再生率为 0 ~ 75.00%。

由表 2 可以看出: (1) 细胞分裂素 TDZ 对华光的子叶再生作用效果明显高于 6-BA、ZT 和 KT。TDZ 浓度为 2 mg/L 时, 华光花后 60 d 的子叶再生率可高达 75.00%, 且子叶再生不定芽最高可达 15 个。而 ZT 效果最差。华光花后 65 d 的子叶比花后 60 d 的子叶在不同细胞分裂素及其浓度处理中再生率差异较小。(2) 曙光花后 68 d 的子叶在 6-BA 浓度为 8 mg/L 时再生率为 66.67%, 子叶再生不定芽最高可达 17 个, 且不定芽生长快, 叶色鲜绿。曙光花后 68 d 的子叶比花后 60 d 的子叶在不同细胞分裂素及其浓度处理中再生率差异较小。由此可见, 华光的最佳取样时期为花后 60 d, 细胞分裂素为 TDZ 2 mg/L; 曙光为花后 68 d, 6-BA 8 mg/L。

表 2 子叶培养中细胞分裂素对再生率的影响

Table 2 Effects of different cytokinins in cotyledons culture on the regeneration rate

(%)

细胞分裂素 Cytokinin (mg/L)	华光 Huaguang		曙光 Shuguang	
	花后 60 d	花后 65 d	花后 60 d	花后 68 d
	60 days after blossom	65 days after blossom	60 days after blossom	68 days after blossom
6-BA	2	8.33 ±2.23f	42.86 ±5.66b	33.33 ±3.09b
	4	25.00 ±3.51d	41.67 ±5.17b	25.00 ±3.67c
	6	50.00 ±4.46b	30.00 ±3.37d	25.00 ±4.46c
	8	8.33 ±3.03f	20.00 ±4.03d	50.00 ±5.37a
TDZ	2	75.00 ±5.57a	55.56 ±4.96a	33.33 ±4.51b
	4	58.33 ±4.95b	50.00 ±5.02a	16.67 ±2.94d
	6	50.00 ±4.67b	50.00 ±5.19a	25.00 ±4.48c
	8	41.67 ±3.49c	40.00 ±4.48b	33.33 ±4.61b
ZT	2	0	16.67 ±3.66e	0
	5	0	25.00 ±3.49c	0
	8	16.67 ±3.08e	33.33 ±2.29d	16.67 ±3.83d
KT	2	0	16.67 ±4.03e	0
	5	16.67 ±2.93e	25.00 ±5.81d	0
	8	33.33 ±3.61d	50.00 ±5.59a	16.67 ±4.52d

注: NAA 均为 0.04 mg/L。同一列中不同字母表示邓肯氏新复极差测验在 $P < 0.05$ 水平下差异显著。

Note: NAA concentration is 0.04 mg/L. Different letters in the same column mean significance at $P < 0.05$ level by Duncan's SSR test

2.1.3 不同暗培养时间的影响 由表 3 可知, 对于华光, 暗培养 28 d 为最佳。对于曙光, 暗培养 28 d 与 35 d 为佳, 二者差异不显著。暗培养 14 d 的子叶仅仅变黄、膨大, 子叶基部与划伤处没有出现芽状突起, 转入光暗交替培养 10 d 后, 子叶转绿, 但最终无不定芽产生。暗培养时间过长也不利于不定芽的产生。

表 1 子叶培养中不同培养基对再生率的影响

Table 1 Effects of different medium in cotyledons culture

on the regeneration rate (%)

培养基 Medium	6-BA (mg/L)	NAA (mg/L)	华光 Huaguang	曙光 Shuguang
WPM	5.0	0.04	8.33 ±3.43c	16.67 ±7.43b
MS	5.0	0.04	40.00 ±5.61a	31.67 ±6.08a
G	5.0	0.04	28.33 ±4.88b	20.00 ±5.54b

注: 同一列中不同字母表示邓肯氏新复极差测验在 $P < 0.05$ 水平下差异显著。

Note: Different letters in the same column mean significance at $P < 0.05$ level by Duncan's SSR test

2.1.4 子叶再生不定芽的观察结果 接种后先进行暗培养,暗培养 10 d左右,子叶开始膨大变黄,至 18 d时,部分子叶基部和划伤处开始出现乳白色芽状突起,随着暗培养时间的延长,芽状突起不断的增多,至 28 d时,基本上每个处理上都有芽状突起。转入光下培养一周后,子叶转绿,芽状突起开始萌发,产生不定芽,此后 20 d之内是不定芽再生的高峰时期,最高每片子叶上再生不定芽高达 17个,40 d后每个处理都不再产生不定芽。

2.1.5 不定芽的增殖与生根 把子叶再生的不定芽转至增殖培养基 WPM、MS和 G (均添加 6-BA

2.0 mg/L、BA 0.5 mg/L),一个月以后统计其增殖效果。结果表明,不定芽在 G+6-BA 2.0 mg/L + BA 0.5 mg/L培养基上增殖效果最好,平均每个不定芽可增殖 4~5个幼苗,且叶色鲜绿,部分苗高可达 3 cm左右。

将增殖后得到的再生苗接种至生根培养基上(表 4),华光的生根率均在 94.4%以上,以 BA 浓度为 2.4 mg/L时,每个再生苗平均有效根数最高,为 6.94个,与 BA 0.4和 1.2 mg/L处理差异极显著。曙光的光生根率最高为 94.4%,此处理的每个再生苗的有效根数量也最高,为 5.72个,与其它处理的差异极显著。

表 4 不同浓度 BA对再生苗生根的影响

Table 4 Effect of different IBA concernment on rooting of shoots

培养基 Medium	BA (mg/L)	华光 Huaguang		曙光 Shuguang	
		生根率 Rate of rooting (%)	平均生根数 Means of root number of shoot(条/再生苗)	生根率 Rate of rooting (%)	平均生根数 Means of root number of shoot(条/再生苗)
1/2MS	0.4	94.4	3.56 ±0.40 C	88.9	2.83 ±0.41 B
1/2MS	0.8	94.4	5.72 ±0.43 CBA	66.7	2.00 ±0.44 B
1/2MS	1.2	100	4.17 ±0.27 C	77.8	3.28 ±0.52 B
1/2MS	1.6	94.4	5.17 ±0.40 CBA	66.7	2.11 ±0.42 B
1/2MS	2.0	100	6.22 ±0.33 BA	94.4	5.72 ±0.40 A
1/2MS	2.4	100	6.94 ±0.29 A	61.1	3.28 ±0.65 B

注:表中平均值后不同字母表示邓肯氏新复极差测验差异极显著 ($P < 0.01$)。

Note: Different letters in the same column mean significance at $P < 0.01$ level by Duncan's SSR test

2.2 胚轴培养再生不定芽

2.2.1 胚轴的不同部位及极性再生不定芽能力的差异 试验发现,上、下胚轴在再生能力上没有差异。但由于上胚轴伸长较下胚轴长,因而更适合用做胚轴再生。由表 5可以看出,上胚轴的形态学上部再生率与下部差异显著。形态学上部无论在再生率和每外植体再生不定芽数上均比下部高,这可能是胚轴生长的极性所造成的。

表 5 上胚轴的不同部位再生不定芽能力的差异

Table 5 Effect of morphology position on plant direct regeneration from hypocotyl

形态学位置 Morphology position	华光 Huaguang		曙光 Shuguang	
	再生率 Regeneration rate (%)	再生不定芽数 Means of shoots number of regenerating explants	再生率 Regeneration rate (%)	平均再生不定芽数 Mean of shoots number of regenerating explants
上部 Up	23.04 ±3.46a	2.10 ±0.36	19.98 ±5.12a	1.79 ±0.66
下部 Down	16.73 ±5.03b	1.83 ±0.44	14.09 ±4.79b	1.06 ±0.74

注:同一列中不同字母表示邓肯氏新复极差测验 $P < 0.05$ 水平差异显著。

Note: Different letters in the same column mean significance at $P < 0.05$ level by Duncan's SSR test

表 3 子叶暗培养时间对再生率的影响

Table 3 Effect of cotyledons culture time in the dark on

the regeneration rate (%)

暗培养时间 Days in the dark (d)	华光 Huaguang	曙光 Shuguang
14	0	0
21	7.14 ±2.43c	5.00 ±2.38b
28	37.93 ±4.01a	21.67 ±4.17a
35	30.00 ±3.45b	16.67 ±4.62a

注:同一列中不同字母表示邓肯氏新复极差测验 $P < 0.05$ 水平差异显著。

Note: Different letters in the same column mean significance at $P < 0.05$ level by Duncan's SSR test

2.2.2 暗培养时间及培养基对上胚轴再生不定芽的影响 试验结果表明,暗培养 0、7和 14 d对胚轴再生不定芽的影响没有显著差异,华光再生率在 17.93%~19.29%之间,曙光再生率在 16.23%~17.18%之间。

G和 QL培养基上华光上胚轴再生不定芽的情况没有显著差异(再生率为 19.49%和 18.52%);但曙光品种有显著差异,在 G培养基上再生率为 16.50%,在 QL培养基上为 18.87%。

2.2.3 生长调节剂组合对上胚轴再生不定芽的影响 由表 6可以看出,华光油桃在 G培养基上以 G-5的再生率最高达到 23.43%,与其它处理差异显著;在 QL培养基上以 QL-3的效果最好,再生率达到 18.62%,与其它处理差异显著;在 QL-2培养基上每个外植体再生不定芽数量最多,为 2.01个。曙光油桃在 G培养基上以 G-4再生率最高达到 16.69%,与其它处理差异显著;在 QL培养基上以 QL-4的效果最好,再生率达到 17.47%,与其它处理差异显著;在 QL-5培养基上每个外植体再生不定芽数量最多,为 1.33个。

表 6 不同生长调节剂(PGR)组合对上胚轴再生不定芽的影响

Table 6 Effect of different combinations of plant growth regulators (PGR) on plant direct regeneration from hypocotyl

编号 Code	PGR (mg/L)			华光 Huaguang		曙光 Shuguang	
	TDZ	KT	NAA	再生率 Regeneration rate (%)	再生不定芽数 Means of shoots number of regenerating explant	再生率 Regeneration rate (%)	再生不定芽数 Mean of shoots number of regenerating explant
G-1	0	0.5	1.0	0	-	0	-
G-2	0.5	2.0	0	0	-	7.33 ±2.07c	1.01 ±0.37
G-3	1.0	4.0	4.0	8.38 ±1.44c	1.39 ±0.28	10.39 ±1.38b	1.29 ±0.33
G-4	2.0	0	0.5	16.81 ±4.43b	1.17 ±0.30	16.69 ±3.37a	1.03 ±0.34
G-5	3.0	1.0	3.0	23.43 ±3.39a	1.08 ±0.21	11.78 ±4.34b	1.27 ±0.36
G-6	4.0	3.0	2.0	8.32 ±3.51c	1.22 ±0.29	6.63 ±2.46c	1.21 ±0.31
QL-1	0	0.5	1.0	0	-	0	-
QL-2	0.5	2.0	0	11.31 ±2.39c	2.01 ±0.55	0	-
QL-3	1.0	4.0	4.0	18.62 ±3.44a	1.13 ±0.41	6.35 ±3.36d	1.18 ±0.44
QL-4	2.0	0	0.5	14.53 ±2.41b	1.09 ±0.29	17.47 ±2.43a	1.06 ±0.39
QL-5	3.0	1.0	3.0	6.67 ±1.38d	1.51 ±0.38	11.19 ±4.33b	1.33 ±0.34
QL-6	4.0	3.0	2.0	0	-	9.96 ±1.39c	1.07 ±0.39

注:同一列中不同字母表示邓肯氏新复极差测验 $P < 0.05$ 水平差异显著。

Note: Different letters in the same column mean significance at $P < 0.05$ level by Duncan's SSR test

3 讨论

3.1 在早熟油桃的子叶再生培养中,华光品种以花后 60 d为最佳取材时期,其子叶在 MS + TDZ 2 mg/L + NAA 0.04 mg/L的培养基上再生率为 75.00%;曙光则要取其花后 68 d成熟期子叶,其在 MS + 6-BA 8 mg/L + NAA 0.04 mg/L培养基上再生率为 66.67%。胚轴再生培养中,胚在果实成熟后适于作为胚轴再生的外植体,上、下胚轴无显著差异,暗培养对再生的影响差异不显著。华光油桃胚轴再生以 G + TDZ 3.0 mg/L + KT 1.0 mg/L + NAA 3.0 mg/L效果较好;曙光油桃胚轴再生以 QL + TDZ 2.0 mg/L + NAA 0.5 mg/L效果较好。再生的不定芽经增殖后在 1/2MS培养基中,华光油桃在 BA浓度为 2.4 mg/L时,曙光油桃在 BA浓度为 2.0 mg/L时其生根率和每个茎尖的有效根数量最高。

3.2 细胞分裂素为 TDZ的处理中,每个处理中都有子叶再生植株,且再生率差别不大,但是,随着 TDZ浓度的增加,玻璃化苗增多,且有深绿色类似叶片的组织大量出现在子叶划伤处,这些组织最终不能发育成苗。在细胞分裂素为 6-BA的处理中,不定芽生长快,暗培养 28 d后,放入光下培养 20 d即有大量不定芽高度达 2 cm,而细胞分裂素为 TDZ的处理中不定芽生长慢,暗培养 28 d后,放入光下培养 40 d,高度才达 1 cm。细胞分裂素 ZT、KT的效果明显不如 6-BA和 TDZ,再生率较低,不定芽发生少,每片子叶仅有不定芽 1~2个,而在 6-BA和 TDZ的处理中,许多子叶上再生的不定芽数可高达 10个以上。

在细胞分裂素为 TDZ 的处理中, 在子叶表面产生的扭曲肥大类似叶片的组织, 与阎国华等^[1]在子叶再生中报道的“肥厚、发育畸形的类叶片形态”应该是同一种结构的物质, 这些组织可能是在高浓度细胞分裂素的强烈刺激下产生的, 如果及时将其转入另外一种合适的培养基, 能否产生不定芽, 值得做进一步探讨。

3.3 阎国华等^[7]报道了以京艳和晚蜜合子胚下胚轴为外植体直接再生不定芽, 其中京艳最高再生率为 95.2%, 晚蜜为 43.3%。本试验表明, 早熟油桃华光和曙光也能由其上、下胚轴直接再生不定芽, 但是再生率较低, 产生的不定芽从胚轴的形态学上端未产生愈伤组织的地方生出。华光最高再生率为 23.43%, 曙光为 17.47%。这其中的差异可能是由于品种不同而造成的。对于早熟油桃胚轴再生不定芽应继续研究, 提高再生率, 以利于稳定高效再生体系的建立。

张永庆等^[9]报道了以玉露桃叶片、胚轴、未成熟胚等为外植体进行再生研究, 结果发现, 大部分外植体均能产生愈伤组织, 但是只有花后 45~50 d 或 75 d 的未成熟胚产生的愈伤组织能够分化出不定芽。本试验发现, 在胚轴再生不定芽的诱导中, 几乎所有的处理均能产生愈伤组织, 其中部分为乳白色或淡黄色球粒状、质地疏松的胚性愈伤组织。但既使产生的胚性愈伤组织转接到附加 BA 1.0 mg/L + KT 1.0 mg/L 的 G 培养基中, 在继代 2~3 次后也会变褐死亡, 而不能够分化出不定芽。

3.4 影响桃子叶再生不定植株的因素很多, 本试验仅仅从基本培养基、细胞分裂素、取样时期和暗培养天数等几个方面做了一些探讨。子叶再生不定芽的过程是子叶基因型、培养基、激素配比、暗培养时间等等一系列因子复杂的相互作用过程, 其中还有许多问题值得进行深入的探讨。

参考文献:

- 1 阎国华, 周 宇. 桃幼胚离体培养再生植株的研究. 园艺学报, 2002, 29 (5): 480~482
Yan G H, Zhou Y. Plant regeneration derived from hypocotyls of peach. Acta Horticulturae Sinica, 2002, 29 (5): 480~482 (in Chinese)
- 2 Bhansali R R, Driver J A, Durzan D J. Rapid multiplication of adventitious somatic embryo in peach and nectarine by secondary embryogenesis. Plant Cell Reports, 1990, 9: 280~284
- 3 Hammerschlag F A, Bauchan G, Scorza R. Regeneration of peach from callus derived from immature embryos. Theor Appl Genet, 1985, 70: 248~251
- 4 Scorza R, Cordts J M, Mante S. Long-term somatic embryo production and regeneration from embryo-derived peach callus. Acta Horticulturae Plant Cell Reports, 1990, 280: 183~190
- 5 Bhansali R R, Driver J A, Durzan D J. Somatic embryogenesis in cell suspension cultures of *Prunus persica* (L.). Journal of Horticultural Science, 1991, 66 (5): 601~605
- 6 孙清荣, 石荫坪, 孙洪雁, 杨建明, 赵红军. 肥城桃幼子叶不定植株再生. 山东农业大学学报, 1999, 30 (4): 395~397
Sun Q R, Shi Y P, Sun H Y, Yang J M, Zhao H J. Plant regeneration derived from cotyledons of Feichen peach. Journal of Shandong Agricultural University, 1999, 30 (4): 395~397 (in Chinese)
- 7 阎国华, 周 宇. 桃幼胚下胚轴高频植株离体再生. 果树学报, 2002, 19 (4): 231~234
Yan G H, Zhou Y. Plant regeneration derived from down hypocotyls of peach. Journal of Fruit Science, 2002, 19 (4): 231~234 (in Chinese)
- 8 程家胜. 植物组织培养与工厂化育苗技术. 北京: 金盾出版社, 2003. 105~113
Cheng J S. Plant tissue culture and fast propagation technology. Beijing: Jindun Publishing House, 2003. 105~113 (in Chinese)
- 9 张永庆, 陈大明, 金勇丰, 张上隆. 桃离体组织分化再生植株的研究. 园艺学报, 2001, 28 (4): 342~344
Zhang Y Q, Chen D M, Jin Y F, Zhang S L. Plant regeneration derived from peach tissues. Acta Horticulturae Sinica, 2001, 28 (4): 342~344 (in Chinese)