



研究报告

Research Report

甘露醇预处理对不同基因型加工番茄花药愈伤诱导率的影响

闫丽娟[✉], 马海新[✉], 汪斌[✉], 樊新民[✉], 庞胜群[✉]

石河子大学农学院, 新疆石河子, 832003

[✉] 通讯作者, pangshqok@shzu.edu.cn; [✉] 作者

分子植物育种, 2016年, 第14卷, 第15篇 doi: 10.5376/mpb.cn.2016.14.0015

这是一篇采用 Creative Commons Attribution License 进行授权的开放取阅论文。只要对本原作有恰当的引用, 版权所有人允许并同意第三方无条件的使用与传播。

引用格式(中文):

闫丽娟等, 2016, 甘露醇预处理对不同基因型加工番茄花药愈伤诱导率的影响, 分子植物育种(online), 14(15): 1102-1107 (doi: 10.5376/mpb.cn.2016.14.0015)

引用格式(英文):

Yan et al., 2016, The Effect of Mannitol Pretreatment on Callus Induction Rate of Different Genotypes Processing Tomato's Anther Fenzi Zhiwu Yuzhong (online) (Molecular Plant Breeding), 14(15): 1102-1107 (doi: 10.5376/mpb.cn.2016.14.0015)

摘要 采用 6 个加工番茄 F₁ 为试验材料, 研究不同浓度和不同时间甘露醇预处理对形成加工番茄花药愈伤组织的影响。结果表明: 利用甘露醇预处理加工番茄花药时, 有 3 个杂交组合在 0.2 mol/L 甘露醇培养基上诱导 4 d 时, 花药愈伤组织诱导率显著高于未进行甘露醇预处理的; 有 2 个杂交组合在 0.4 mol/L 甘露醇培养基上诱导 4 d 时, 花药愈伤组织诱导率显著高于对照; 而杂交组合 20040805×P1 在 0.2 mol/L 或 0.4 mol/L 甘露醇培养基上经过 4 d 的预处理, 花药愈伤组织诱导率均极显著高于对照。说明不同基因型加工番茄花药培养利用甘露醇预处理时, 需要采用不同的浓度和处理时间。

关键词 加工番茄, 花药培养, 甘露醇, 愈伤组织诱导率, 基因型

The Effect of Mannitol Pretreatment on Callus Induction Rate of Different Genotypes Processing Tomato's Anther

Yan Lijuan[✉], Ma Haixin[✉], Wang Bin[✉], Fan Xinmin[✉], Pang Shengqun[✉]

College of Agriculture, Shihezi University, Shihezi Xinjiang, 832003

[✉] Corresponding author, pangshqok@shzu.edu.cn; [✉] Authors

Abstract In this study, six F₁ hybrids of processing tomato were chose as experimental materials to study the effects of different concentration and different time of mannitol pretreatment on the anther of processing tomato. The results showed that, when using mannitol to pretreat anther, the callus induction rate of three hybrids cultured in the 0.2 mol/L mannitol medium for four days were significantly higher than that in no pre-mannitol treatment, while the another two hybrids cultured in the 0.4 mol/L mannitol medium for four days were significantly higher than that in the control treatment. The callus induction rate of hybrid combination 20040805×P1 cultured in the 0.2 or 0.4 mol/L mannitol medium for four days were significantly higher than which in control. These results indicated that the anther culture of processing tomato with different genotypes. It need different concentrations and processing time in the mannitol pretreatment.

Keywords Processing tomato, Anther culture, Mannitol, Callus Induction Rate, Genotype

研究背景

水番茄作为一种模式植物, 在植物生物学研究领域占有重要地位(曹慧颖等, 2012)。单倍体诱导技术作为现代高效育种体系的主要组成部分一直是番茄遗传育种领域的研究热点, 通过组织培养技术

来扩大物种的遗传基础也已成为新种质资源形成的重要手段(张志仙等, 2015)。

在离体培养条件下, 花粉改变其正常发育进程转向产生愈伤组织和植株, 为研究高等植物的突变和细胞遗传开辟了新的途径(Carlson, 1970; Nillson and Wettstein, 1970)。育种上用花药培养产生单倍体, 单倍体再进行染色体加倍获得双单倍体可克服杂种性状的分离。花粉和花药培养与常规多代自交系杂交相比具有快速获得纯系, 效率高、周期短且纯系稳定等特点(申娟等, 2008)。研究发现对接种的

收稿日期: 2016年04月22日

接受日期: 2016年05月24日

发表日期: 2016年05月27日

基金项目: 本研究由科技支疆计划项目(2014AB004)和石河子大学课题(gxjs2012-yz08)共同资助。



花药进行预处理, 可有效提高花粉愈伤组织的诱导率。对花药进行预处理的研究目前主要集中在高温、低温及离心等因素上, 而对甘露醇预处理加工番茄花药的研究较少。在国内的研究报道中, 发现用甘露醇预处理马铃薯、大麦等花药, 进行离体培养在一定范围内可以增加愈伤组织诱导率。

目前通过花药组织培养技术进行单倍体育种仍未能广泛应用于各种农作物育种中, 在番茄上虽然有花药培养获得单倍体以及双单倍体植株的报道, 但研究表明在栽培番茄的重要基因型中花药培养技术并不能普遍应用。为了提高番茄花药培养愈伤组织诱导率, 前人主要从培养基类型、激素种类、基因型等方面进行了研究, 而采用甘露醇对花药进行预处理的报道较少。本研究通过对加工番茄花药进行不同浓度、不同时间甘露醇的预处理, 探讨甘露醇预处理对加工番茄花药愈伤组织诱导率的影响, 旨在优化加工番茄花药培养体系, 提高培养效率, 以期为加工番茄花药培养提供理论依据。

1 结果与分析

甘露醇预处理对加工番茄花药愈伤组织诱导具有显著影响, 不同基因型之间经甘露醇预处理后, 其花药愈伤组织诱导率也有差异。当甘露醇浓度超过 0.6 mol/L, 无论处理多少天, 加工番茄花药的愈伤组织诱导率均为 0(表 1~表 6)。

1.1 甘露醇预处理对杂交组合 1 愈伤组织诱导的影响

所有处理中只有甘露醇浓度在 0.4 mol/L、预处理时间在 4 d 时, 杂交组合 1 的花药愈伤组织诱导率达到最大值 92.33% (表 1), 极显著高于对照, 其他处理的愈伤组织诱导率均极显著低于对照, 且随着甘露醇处理浓度及处理时间的增加, 甚至无法形成愈伤组织, 如 0.6 mol/L 甘露醇预处理时间达到 6 d 以上时愈伤组织诱导率为 0, 浓度为 0.8 mol/L 时, 无论处理几天, 均没有愈伤组织形成。

1.2 甘露醇预处理对杂交组合 2 愈伤组织诱导的影响

甘露醇预处理对杂交组合 2 愈伤组织诱导率的影响与杂交组合 1 有相同趋势(表 2), 即甘露醇浓度在 0.4 mol/L 时, 预处理时间为 4 d 时, 杂交组合 2 的花药愈伤组织诱导率极显著高于对照, 达到最大值 94.67%, 其他处理的愈伤组织诱导率均极显著低于对照, 且随着甘露醇处理浓度及处理时间的增加, 甚至无法形成愈伤组织。

1.3 甘露醇预处理对杂交组合 3 愈伤组织诱导的影响

杂交组合 3 对甘露醇预处理比较敏感(表 3), 当甘露醇浓度为 0.2 mol/L、0.4 mol/L 时, 预处理时间 4 d 时, 花药愈伤组织诱导率均达到 100.00%, 甘露醇浓度为 0.2 mol/L 预处理 6 d 时花药愈伤组织诱导率也极显著高于对照。当甘露醇浓度为 0.4 mol/L 时, 预处理时间 2 d 时, 杂交组合 3 的花药愈伤组织诱导率与对照相同, 其他处理的均极显著低于对照。当浓度超过 0.8 mol/L 时, 无论处理几天, 均没有愈伤组织形成。因此杂交组合 3 采用 0.2 mol/L 甘露醇预处理 4 d 是提高花药愈伤组织诱导率较为合适条件。

1.4 甘露醇预处理对杂交组合 4 愈伤组织诱导的影响

对于杂交组合 4, 用 0.4 mol/L 甘露醇预处理加工番茄花药进行愈伤组织诱导具有较好的效果(表 4)。预处理时间为 2 d、4 d 时, 杂交组合 4 的愈伤组织诱导率高于对照且差异极显著, 预处理 1 d 时虽愈伤组织诱导率大于对照, 但没有显著差异。其他处理的愈伤组织诱导率均极显著低于对照, 且随着甘露醇处理浓度及处理时间的增加, 甚至无法形成愈伤组织, 0.6 mol/L 甘露醇预处理时间达到 6 d 以上时愈伤组织诱导率为 0, 浓度为 0.8 mol/L 时, 没有愈伤组织形成。

1.5 甘露醇预处理对杂交组合 5 愈伤组织诱导的影响

甘露醇浓度 0.2 mol/L 预处理 4 d, 杂交组合 5 的花药愈伤组织诱导率达到 81.00% (表 5), 极显著高于对照; 甘露醇浓度为 0.4 mol/L、预处理 1 d 时, 花药愈伤组织诱导率达到最大值 83.33%, 与对照差异极显著, 预处理时间在 2 d 时愈伤组织诱导率与对照相比没有显著差异。其他处理的愈伤组织诱导率均极显著低于对照, 同样高浓度的甘露醇预处理后杂交组合 5 的花药愈伤组织诱导率为 0。

1.6 甘露醇预处理对杂交组合 6 愈伤组织诱导的影响

杂交组合 6 的花药不经过甘露醇预处理(表 6), 愈伤组织诱导率较低, 只有 16.56%, 有 10 个处理的愈伤诱导率都极显著高于对照, 其中浓度为 0.2 mol/L 预处理 4 d, 愈伤组织诱导率达到了 100.00%, 浓度为 0.4 mol/L 预处理 2 d 愈伤诱导率达到 95.33%, 两处理间差异不显著。因此 0.2 mol/L 甘露醇预处理 4 d 可以作为杂交组合 6 预处理的最佳浓度和时间。



表 1 甘露醇预处理对杂交组合 1 愈伤组织诱导(%)

Table 1 The callus induction rate of mannitol on of hybrids 1 (%)

组合 1 Group 1	1 d	2 d	4 d	6 d	8 d
0.2 mol/L	11.69±6.26 hI	18.33±1.33 gGH	52.00±2.00 dD	53.33±1.67 dD	50.00±0.00 dD
0.4 mol/L	50.67±0.68 dD	67.00±0.00 cC	92.33±3.93 aA	31.67±1.33 eE	28.67±2.60 eEF
0.6 mol/L	33.00±0.67 eE	24.11±0.11 fFG	17.00±0.00 gHI	0.00±0.00 iJ	0.00±0.00 iJ
0.8 mol/L	0.00±0.00 iJ	0.00±0.00 iJ	0.00±0.00 iJ	0.00±0.00 iJ	0.00±0.00 iJ
CK	85.44±2.28 bB				

注: 数字后小写和大写字母分别表示在 5% 和 1% 水平上的差异显著性

Note: The capital and lowercase letters after digital denote respectively 5% and 1% level of difference significance

表 2 甘露醇预处理对杂交组合 2 愈伤组织诱导(%)

Table 2 The callus induction rate of mannitol on "Genotype 2" (%)

组合 2 Group2	1 d	2 d	4 d	6 d	8 d
0.2 mol/L	34.33±0.88 fF	50.00±0.00 dD	55.33±2.73 cC	21.67±0.33 gG	17.00±0.00 hH
0.4 mol/L	44.33±2.85 eE	50.67±0.33 dD	94.67±2.73 aA	16.67±0.33 hH	17.00±0.00 hH
0.6 mol/L	32.67±0.33 fF	17.33±0.33 hH	17.00±0.00 hH	0.00±0.00 iI	0.00±0.00 iI
0.8 mol/L	0.00±0.00 iI	0.00±0.00 iI	0.00±0.00 iI	0.00±0.00 iI	0.00±0.00 iI
CK	67.00±0.00 bB				

注: 数字后小写和大写字母分别表示在 5% 和 1% 水平上的差异显著性

Note: The capital and lowercase letters after digital denote respectively 5% and 1% level of difference significance

表 3 甘露醇预处理对杂交组合 3 愈伤组织诱导(%)

Table 3 The callus induction rate of mannitol on "Genotype 3" (%)

组合 3 Group 3	1 d	2 d	4 d	6 d	8 d
0.2 mol/L	33.67±0.67 hG	51.67±1.67 eE	100.00±0.00 aA	83.67±0.67 bB	50.00±0.00 eFE
0.4 mol/L	58.67±1.33 dD	66.67±0.33 cC	100.00±0.00 aA	48.67±1.33 fE	33.00±0.00 hG
0.6 mol/L	0.00±0.00 jI	17.00±0.00 iH	38.67±0.67 gF	0.00±0.00 jI	0.00±0.00 jI
0.8 mol/L	0.00±0.00 jI	0.00±0.00 jI	0.00±0.00 jI	0.00±0.00 jI	0.00±0.00 jI
CK	66.67±2.00 cC				

注: 数字后小写和大写字母分别表示在 5% 和 1% 水平上的差异显著性

Note: The capital and lowercase letters after digital denote respectively 5% and 1% level of difference significance

表 4 甘露醇预处理对杂交组合 4 愈伤组织诱导(%)

Table 4 The callus induction rate of mannitol on "Genotype 4" (%)

组合 4 Group 4	1 d	2 d	4 d	6 d	8 d
0.2 mol/L	16.67±0.33 hG	32.67±0.33 eFEF	51.00±0.58 cC	38.33±2.91 eDE	32.33±0.67 fEF
0.4 mol/L	83.33±0.33 bB	98.33±1.67 aA	94.33±5.67 aA	44.33±1.76 dCD	34.67±0.88 eFE
0.6 mol/L	16.67±0.33 hG	25.67±1.20 gF	33.00±0.00 eFEF	18.00±0.58 hG	0.00±0.00 iH
0.8 mol/L	0.00±0.00 iH	0.00±0.00 iH	0.00±0.00 iH	0.00±0.00 iH	0.00±0.00 iH
CK	78.24±2.99 bB				

注: 数字后小写和大写字母分别表示在 5% 和 1% 水平上的差异显著性

Note: The capital and lowercase letters after digital denote respectively 5% and 1% level of difference significance



表 5 甘露醇预处理对杂交组合 5 愈伤组织诱导(%)

Table 5 The callus induction rate mannitol on "Genotype 5" (%)

组合 5 Group 5	1 d	2 d	4 d	6 d	8 d
0.2 mol/L	33.33±0.33 eE	44.33±2.40 dD	81.00±1.15 aA	51.67±1.67 cC	34.00±1.53 eE
0.4 mol/L	83.33±2.03 aA	64.67±2.33 bB	44.33±3.48 dD	17.33±0.33 gFG	15.00±2.00gG
0.6 mol/L	22.33±1.20 fF	48.67±1.33 cCD	16.33±0.67 gG	0.00±0.00 hH	0.00±0.00 hH
0.8 mol/L	0.00±0.00 hH	0.00±0.00 hH	0.00±0.00 hH	0.00±0.00 hH	0.00±0.00 hH
CK	63.89±1.42 bB				

注: 数字后小写和大写字母分别表示在 5% 和 1% 水平上的差异显著性

Note: The capital and lowercase letters after digital denote respectively 5% and 1% level of difference significance

表 6 甘露醇预处理对杂交组合 6 愈伤组织诱导(%)

Table 6 The callus induction rate of mannitol on "Genotype 6" (%)

组合 6 Group 6	1 d	2 d	4 d	6 d	8 d
0.2 mol/L	27.67±0.88 hG	72.33±0.33 cB	100.00±0.00 aA	34.33±1.33 gF	33.00±0.00 gFG
0.4 mol/L	58.67±4.91 eD	95.33±2.60 bA	65.00±1.15 dC	27.33±2.85 hG	14.67±2.33 ijHI
0.6 mol/L	0.00±0.00 kJ	19.67±1.76 iH	45.00±2.65 fE	12.67±1.45 jI	0.00±0.00 kJ
0.8 mol/L	0.00±0.00 kJ	0.00±0.00 kJ	0.00±0.00 kJ	0.00±0.00 kJ	0.00±0.00 kj
CK	16.56±0.87 ijHI				

注: 数字后小写和大写字母分别表示在 5% 和 1% 水平上的差异显著性

Note: The capital and lowercase letters after digital denote respectively 5% and 1% level of difference significance

2 讨论

对接种花药进行预处理, 是在生理生化方面改变细胞生理状态, 形态方面改变小孢子极性分布以及分裂方式和发育途径, 以提高花药的诱导率, 通常采用的方式是高温预处理、低温预处理、预培养和离心预处理等(蒋青青, 2012)。有人在低温环境下对培养前的小孢子进行了甘露醇预处理, 将含有单核期小孢子的花药在含甘露醇的培养基上进行培养, 发现小孢子可进行正常生长, 并在培养 30 d 后得到多核细胞(Bal 等, 2005)。有研究也发现随着甘露醇浓度的增加, 诱导产生的愈伤组织呈现先增后减的趋势(蒋青青, 2012)。本试验也通过甘露醇预处理加工番茄花药, 得到较高的愈伤组织诱导率, 发现当浓度为 0.2~0.4 mol/L 时, 不同基因型加工番茄的花药愈伤组织诱导率增有上升趋势, 而 0.6~0.8 mol/L 时愈伤组织诱导率呈下降趋势, 这与前人研究结果基本一致。

有人利用甘露醇预处理对花楸体细胞胚进行诱导, 发现未成熟的合子胚经 1 mol/L 甘露醇预处理 24 h 后, 接种在添加 0.5 mg/L 6-BA (6-苄氨基腺嘌呤, 6-Benzylaminopurine)、0.2 mg/L 2,4-D (2,4-二氯苯氧乙酸, 2,4-dichlorophenoxyacetic acid) 和 4% 蔗糖

的 MS(Murashige and Skoog medium) 培养基上培养可产生大量体胚, 体胚诱导率可达 84%, 显著高于未经甘露醇预处理的(诱导率为 38%) (沈海龙等, 2008)。本研究通过研究甘露醇预处理加工番茄花药, 发现用浓度为 0.2 mol/L 或 0.4 mol/L 的甘露醇培养基预处理 4 d 时, 大部分参试组合的花药愈伤组织诱导率极显著高于对照, 与其结果一致。当甘露醇浓度达到 0.6 mol/L 时, 加工番茄花药愈伤组织诱导率明显降低, 甘露醇浓度达到 0.8 mol/L 时, 加工番茄花药愈伤组织诱导率为 0, 在马铃薯花药离体培养研究中, 甘露醇预处理对愈伤诱导率的影响也表现为随着处理浓度及天数增加, 愈伤组织诱导率先上升后下降(姜丽静等, 2014)。

试验表明, 甘露醇预处理加工番茄花药浓度较为适宜时, 花药愈伤组织诱导率最高可达 100.00%, 如 0.2 mol/L、0.4 mol/L 甘露醇预处理 4 d 时杂交组合 20040805×P1 花药愈伤组织诱导率均能达到 100.00%; 综合来看, 0.2~0.4 mol/L 甘露醇预处理加工番茄花药 4d 时对大多数基因型愈伤组织诱导率都有极显著的提高作用。这与禾谷类作物饥饿胁迫一般采用适当浓度甘露醇处理, 25℃ 温度条件下大麦花药在 0.3~1.5 mol/L 甘露醇溶液下处理



3~4 d, 大麦小孢子培养胚胎发生和植株再生显著增加, 甘露醇浓度在 0.3~0.7 mol/L 之间时高温加饥饿预处理能诱导小麦胚胎发生的结果一致(赵爱菊等, 2008)。

不同材料的花药经过甘露醇预处理, 对花药愈伤组织的诱导效果因基因型不同而有所差异(武晓红等, 2015)。这可能是因为不同作物的基因型不同, 对甘露醇预处理的效果也有所不同, 本研究也发现, 经甘露醇预处理后杂交组合 20040805×P1、P1×P2 的花药愈伤组织诱导率可以达到 100.00%; 组合 P2×20040805、P3×P2、20040805×P3 也在 90% 以上, P1×P3 的花药愈伤组织诱导率(83.33%)虽没有其他组合高但也极显著的高于对照, 这与武晓红等人研究结果一致: 即甘露醇预处理因不同基因型而效果不同。

3 材料与方法

3.1 试验材料

试验所用材料为 P2×20040805 (组合 1)、P3×P2 (组合 2)、20040805×P1 (组合 3)、20040805×P3 (组合 4)、P1×P3 (组合 5)、P1×P2 (组合 6) 6 个杂交组合, 由石河子大学加工番茄育种课题组提供。试验材料于 2014 年 9 月种植在石河子大学农学院试验站温室, 12 月采集加工番茄花药进行试验。室内试验于 2014-2015 年在石河子大学农学院组织培养室、温室和“新疆特色果蔬生产”重点实验室完成。

3.2 试验方法

选择小孢子发育时期为单核靠边期的花蕾, 采集后的花蕾用自来水冲洗 5~6 遍, 70% 的酒精灭菌 30 s, 15% NaOCl 加两滴吐温消毒 10 min(白玉娥等, 2015), 将加工番茄花药接种在不同浓度甘露醇培养基上, 处理时间分别为 1 d、2 d、4 d、6 d、8 d。预处理培养基为 MS+0.5mg/LNAA(naphthalene acetic acid, 萘乙酸)+1 mg/L6-BA (6-苄基嘌呤, 6-Benzylaminopurine)+40 g/L 蔗糖+甘露醇, 甘露醇浓度设为 0.2 mol/L、0.4 mol/L、0.6 mol/L、0.8 mol/L。预处理结束后接种在基本培养基 MS+0.5 mg/L NAA+1.0 mg/L 6-BA+40 g/L 蔗糖上继续培养, 以没有经过甘露醇预处理作为对照。pH 值 5.8 (张丽杰等, 2015), 接种密度为每 50 mL 的三角瓶 6 个花药, 每处理接 6 瓶。培养温度(25±1)°C, 黑暗培养 7 d 后转至光照培养箱中继续培养, 培养温度为(28±1)°C, 光强 2 000 Lx, 光照时间为 16 h/d。25 d

后记录愈伤组织数, 统计分析不同处理加工番茄花药愈伤组织诱导率。

3.3 结果观测与数据处理

愈伤率(%)=产生愈伤组织数花药数/接种花药数×100%

加工番茄愈伤诱导率用 F 检验进行差异显著性分析, 多重比较使用新复极差法, 显著水平取 0.05 和 0.01。

作者贡献

闫丽娟是本研究的实验设计和实验研究的执行人; 闫丽娟完成数据分析, 试验结果分析, 论文初稿的写作; 马海新、汪斌和樊新民参与实验的执行; 庞胜群是项目的构思者及负责人, 指导实验设计, 数据分析, 论文写作与修改。全体作者都阅读并同意最终的文本。

致谢

本研究由科技支疆计划项目(2014AB004)和石河子大学课题(gxjs2012-yz08)共同资助。

参考文献

- Bai Y.E., Cao C., Peng P., Dai J.L., He Y.H., and Cao H., 2015, Factors influencing the initiation of embryogenic callus in *Picea mongolica*, *Fenzi Zhiwu Yuzhong (Molecular Plant Breeding)*, 13(6): 1363-1368 (白玉娥, 曾超, 彭鹏, 代金玲, 何炎红, 曹欢, 2015, 沙地云杉胚性愈伤组织诱导, *分子植物育种*, 13(6): 1363-1368)
- Cao H.Y., Zhang L.J., Xia R.X., Gao S., Wang S., and Zhang S.B., 2012, Research progress on tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) tissue culture, *Zhongguo Shucai (China Vegetables)*, (16): 10-14 (曹慧颖, 张立军, 夏润玺, 高嵩, 王思, 张少斌, 2012, 番茄组织培养研究进展, *中国蔬菜*, (16): 10-14)
- Carlson P.S., 1970, Induction and isolation of auxotrophic mutants in somatic cell cultures of *nicotiana tabacum*, *Science*, 168(3930), 487-489
<http://dx.doi.org/10.1126/science.168.3930.487>
- Jiang Q.Q., 2012, Construction of tomato anther culture system, Thesis for M.S., Shanghai Jiao Tong University, Supervisor: Chen H.Y., Liu.Y., pp. 8-10 (蒋青青, 2012, 番茄花药培养体系的优化, 硕士学位论文, 上海交通大学, 导师:陈火英, 刘杨, pp.8-10)
- Nillson T.T., and Wettstein K.D., 1970, Plent Cells Killed by Soft Rot, *Nature*, 227(19), 1265-1266
- Shen H.L., Gao X.X., and Yang L., 2008, Effects of mannitol,



- sucrose and cold pretreatment on somatic embryogen-esis of sorbus pohuashanensis (*Hance*) hedl, Zhiwu Shenglixue Tongxun (Plant Physiology Communications), 44(4): 667-681 (沈海龙, 高翔翔, 杨玲, 2008, 甘露醇、蔗糖和低温预处理对花楸体细胞胚诱导的影响, 植物生理学通讯, 44(4): 667-681)
- Shen J., Cao G.Q., Liang Q.X., Ying F.Q., and Ding X.B., 2008, Identification of cytological development period and activity of tomato's microspore, Changjiang Shucai (Journal of Changjiang Vegetables), 10(08): 21-24 (申娟, 曹刚强, 梁秋霞, 应芳卿, 丁晓兵, 2008, 番茄小孢子发育时期的检测和活性鉴定, 长江蔬菜, 10(08): 21-24)
- Bal U., and Abak K., 2005, Induction of symmetrical nucleus division and multicellular structures from the isolated microspores of *Lycopersicon esculentum* Mill, Biotechnol. Eq, 19(1): 35-42.
<http://dx.doi.org/10.1080/13102818.2005.10817151>
- Wu X.H., Liu M.J., and Zhao X.P., 2015, Influence of mannitol pretreatment on the induction of anther callus in ziziphus jujube, He'nan Nongye Kexue (Journal of Henan Agricultural Sciences), 19(4): 56-58, 66 (武晓红, 刘孟军, 赵习平, 2015, 甘露醇预处理对枣花药愈伤组织诱导的影响, 河南农业科学, 19(4): 56-58, 66)
- Zhang Li-jie, Zhao Li-meng, Lu Xiu-jun, and Shen Hai-long, 2015, Callus induction and somatic embryogenesis from zygotic cotyledons and hypocotyls of *fraxinus mandshurica* rupr, Fenzi Zhiwu Yuzhong (Molecular Plant Breeding), 13(7): 1645-1652 (张丽杰, 赵丽蒙, 陆秀君, 沈海龙, 2015, 水曲柳子叶和下胚轴愈伤组织和体胚的诱导, 分子植物育种, 13(7): 1645-1652)
- Zhang Z.X., Zhu C.Z., Tan G.Y., Wang F., and He D.G., 2015, Application of tissue culture, molecular marker and QTL analysis in Broccoli breeding, Fenzi Zhiwu Yuzhong (Molecular Plant Breeding), 13(4): 919-928 (张志仙, 朱长志, 檀国印, 王峰, 何道根, 2015, 组织培养、分子标记和 QTL 技术在青花菜育种中的应用, 分子植物育种, 13(4): 919-928)
- Zhao A.J., Gao Z.Y., Li Y.J., Liu Y.P., and Chen X.Y., 2008, Study on the methods of cereal crops microspore culture, Hebei Nongye Kexue (Journal of Hebei Agricultural Sciences), 12(4): 73-74, 80 (赵爱菊, 高增玉, 李亚军, 刘玉平, 陈希勇, 2008, 禾谷类作物的小孢子培养, 河北农业科学, 12(4): 73-74, 80)