

## 碳源对山核桃体细胞胚发生和植株再生的影响

胡恒康<sup>1,2,3</sup>, 江香梅<sup>4</sup>, 张启香<sup>1,3</sup>, 陈 贝<sup>1,3</sup>, 黄坚钦<sup>1,3</sup>

(1. 浙江农林大学 林业与生物技术学院, 浙江 临安 311300; 2. 江西农业大学 园林与艺术学院, 江西 南昌 330045; 3. 浙江农林大学 亚热带森林培育国家重点实验室培育基地, 浙江 临安 311300; 4. 江西省林业科学院, 江西 南昌 330032)

**摘要:** 以山核桃 *Carya cathayensis* 花后 10~12 周的幼胚为外植体, 建立体胚发生及再生体系, 同时分别对山核桃胚性愈合组织和体细胞胚诱导的碳源种类和质量浓度进行了比较分析。结果表明: 接种在含葡萄糖培养基中的山核桃胚性愈合组织诱导率显著高于蔗糖、海藻糖和麦芽糖, 诱导率达 33.3%; 在培养基中添加 20 g·L<sup>-1</sup> 葡萄糖, 胚性愈合组织诱导率最高, 达 50.0%, 显著高于其他处理。蔗糖为山核桃体细胞胚诱导的最佳碳源种类, 体细胞胚诱导率显著高于葡萄糖、海藻糖和麦芽糖, 诱导率达 23.3%; 在培养基中添加 45 g·L<sup>-1</sup> 蔗糖, 体细胞胚诱导率最高, 达 30.1%, 显著高于其他处理。体胚在 WPM 培养基(木本植物用培养基)附加 5 g·L<sup>-1</sup> 蔗糖的培养基上萌发率达 20%, 显著高于附加 0, 10, 15, 20, 25, 30 g·L<sup>-1</sup> 蔗糖的体胚萌发率。图 6 参 26

**关键词:** 经济林学; 山核桃; 碳源; 体细胞胚; 植株再生

中图分类号: S718.4

文献标志码: A

文章编号: 2095-0756(2011)06-0911-07

## Somatic embryogenesis and plant regeneration from *Carya cathayensis* embryos using different carbon sources

HU Heng-kang<sup>1,2,3</sup>, JIANG Xiang-mei<sup>4</sup>, ZHANG Qi-xiang<sup>1,3</sup>, CHEN Bei<sup>1,3</sup>, HUANG Jian-qin<sup>1,3</sup>

(1. School of Forestry and Biotechnology, Zhejiang A & F University, Lin'an 311300, Zhejiang, China; 2. College of Landscape Architecture and Art, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, Jiangxi, China; 3. The Nurturing Station for the State Key Laboratory of Subtropical Silviculture, Zhejiang A & F University, Lin'an 311300, Zhejiang, China; 4. Jiangxi Academy of Forestry, Nanchang 330032, Jiangxi, China)

**Abstract:** A process for studying somatic embryogenesis and plant regeneration in vitro from immature embryos of *Carya cathayensis*, which were 10–12 weeks post-pollination, was developed. To select a carbon source (glucose, sucrose, trehalose, and maltose) for embryonic callus, a single-factor experimental design was used. Then, the optimal concentration of glucose (10, 20, 40, 60 and 80 g·L<sup>-1</sup>) was determined. Also, for somatic embryogenesis, the best carbon source was decided. Then, the optimal sucrose concentrations (15, 30, 45, 60 and 75 g·L<sup>-1</sup>) for somatic embryogenesis and for somatic embryo germination were determined. Results showed that the embryogenic callus induction rate of immature embryos inoculated in the medium supplemented with glucose was significantly higher ( $P < 0.05$ ) than sucrose, trehalose, and maltose. Embryogenic callus percentage was significantly greater ( $P < 0.05$ ) with 20 g·L<sup>-1</sup> glucose with a 50.0%. For somatic embryogenesis of immature embryos, sucrose as a carbon source was significantly better ( $P < 0.05$ ) than glucose, trehalose, and maltose. Somatic embryogenesis induction was significantly higher ( $P < 0.05$ ) with 45 g·L<sup>-1</sup> sucrose. For somatic embryo germination, a basal woody plant medium (WPM) supplemented with 5 g·L<sup>-1</sup>

收稿日期: 2010-11-21; 修回日期: 2011-04-15

基金项目: 浙江省自然科学基金重大项目(Z307534); 浙江省自然科学基金资助项目(Y3090091); 浙江省科学技术攻关项目(2009C32027); 浙江农林大学 B 类团队创新项目(2007); 浙江省大学生科技创新项目(2008)

作者简介: 胡恒康, 从事植物遗传学等研究。E-mail: huhengkang@163.com。通信作者: 黄坚钦, 教授, 博士, 从事植物发育生物学研究。E-mail: huangjq@zafu.edu.cn

sucrose was significantly higher ( $P < 0.05$ ) than other concentrations. [Ch, 6 fig. 26 ref.]

**Key words:** cash forestry; *Carya cathayensis*; carbon source; somatic embryogenesis; plant regeneration

山核桃 *Carya cathayensis* 隶属于胡桃科 Juglandaceae 山核桃属 *Carya*, 别名小核桃、小胡桃、昌化山核桃。山核桃属植物分布于中国和北美, 共 18 种 2 亚种, 中国分布 6 种, 即山核桃 *Carya cathayensis*, 大别山山核桃 *C. dabieshanensis*, 湖南山核桃 *C. hunanensis*, 贵州山核桃 *C. kweichowensis*, 越南山核桃 *C. tonkinensis* 及 *C. poilanei*。6 个种中以山核桃人工利用时间最长, 经济价值最高, 已成为产区农民主要的经济来源。长期以来, 山核桃主要采用实生与嫁接繁殖。实生繁殖难以保持品种的优良特性<sup>[1-2]</sup>。山核桃体细胞胚(简称“体胚”)具有完整的两极结构, 能一次再生完整植株。为了满足生产对良种苗木的需要, 山核桃的离体繁殖技术得到了较深入的研究。胡桃科中, 虽然核桃 *Juglans regia* <sup>[3]</sup>, 美国山核桃 *Carya illinoensis* <sup>[4-5]</sup>等体胚诱导已有成功报道, 但山核桃的组织培养仍停留在愈合组织<sup>[6]</sup>及不定芽诱导<sup>[7]</sup>的阶段。本实验以山核桃幼胚为外植体, 通过不同碳源对体胚诱导的影响, 来探讨适合山核桃体胚发生的碳源种类与质量浓度, 为山核桃体胚发生体系的建立提供实验平台。

## 1 材料与方法

### 1.1 外植体材料的处理

于浙江省临安市板桥乡罗塘村采同 1 株山核桃树自然授粉后 10~12 周的幼果, 带回实验室中剪去花柱及柱头, 洗涤剂洗净表面后, 无菌条件下用体积分数为 75%乙醇涮洗 30 s, 自来水冲洗干净, 用  $5.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  次氯酸钠溶液加少许吐温-20, 抽真空 20 min, 无菌水冲洗 5~6 次, 无菌滤纸吸干表面水分, 超净工作台上去除果皮和种皮后取出完整的幼胚(图 1-1)作为外植体备用。

### 1.2 不同种类碳源对山核桃胚性愈合组织诱导的影响

以相同质量浓度为  $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  蔗糖、葡萄糖、海藻糖和麦芽糖作为 4 个处理, 培养条件如下: 1/2MS (Murashige and Skoog)附加  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  6-苄氨基嘌呤(BA),  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  4-氨基-3, 5, 6-三氯吡啶羧酸(picloram),  $500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  水解酪蛋白(CH), 诱导培养 1 周后转入不含植物生长调节物质的相同培养基中培养。培养温度( $25 \pm 2$ )  $^{\circ}\text{C}$ , 暗培养, pH 5.7, 琼脂(agar type A)质量分数为  $8.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。接种幼胚 20 个 $\cdot$ 处理 $^{-1}$ , 重复 3 次, 接种后前 3 d 外植体转接 1 次 $\cdot$ d $^{-1}$ , 以后隔 2 周转接 1 次, 6 周后统计胚性愈合组织诱导率。

### 1.3 不同质量浓度葡萄糖对山核桃胚性愈合组织诱导的影响

根据实验结果, 进一步对最佳碳源即葡萄糖的质量浓度进行测试。设计单因子实验, 质量浓度采用 10, 20, 40, 60, 80  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。培养条件如下: 1/2MS 附加  $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  BA,  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  picloram,  $500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  CH, 诱导培养 1 周后转入不含植物生长调节物质的相同培养基中培养。培养温度( $25 \pm 2$ )  $^{\circ}\text{C}$ , 暗培养, pH 5.7, 琼脂(agar type A)质量分数为  $8.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。接种幼胚 20 个 $\cdot$ 处理 $^{-1}$ , 重复 3 次, 接种后前 3 d 外植体转接 1 次 $\cdot$ d $^{-1}$ , 以后隔 2 周转接 1 次, 6 周后统计胚性愈合组织诱导率。

### 1.4 不同碳源种类对体胚的诱导影响

以  $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  蔗糖、葡萄糖、海藻糖和麦芽糖对山核桃体胚进行诱导。培养条件如下: DKW(DKW 培养基)附加  $3.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  BA,  $0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  picloram,  $500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  CH, 诱导培养 1 周后转入不含植物生长调节物质的相同培养基中培养。培养温度( $25 \pm 2$ )  $^{\circ}\text{C}$ , 暗培养, pH 5.7, 琼脂(agar type A)质量分数为 0.8%。各处理接种 20 个幼胚产生的胚性愈合组织, 重复 3 次, 培养物隔 2 周转接 1 次, 6 周后统计体胚诱导率。

### 1.5 不同质量浓度蔗糖对体胚诱导的影响

对蔗糖质量浓度进行单因子试验, 以获得最佳诱导体胚的浓度。蔗糖质量浓度分别为 15, 30, 45, 60, 75  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。培养条件如下: DKW 附加  $3.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  BA,  $0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  picloram,  $500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  CH, 诱导培养 1 周后转入不含植物生长调节物质的相同培养基中培养。培养温度( $25 \pm 2$ )  $^{\circ}\text{C}$ , 暗培养, pH 5.7, 琼脂(agar type A)质量分数为  $8.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。各处理接种由 20 个幼胚产生的胚性愈合组织, 重复 3 次, 培养物隔 2 周转接 1 次, 6 周后统计体胚诱导率。

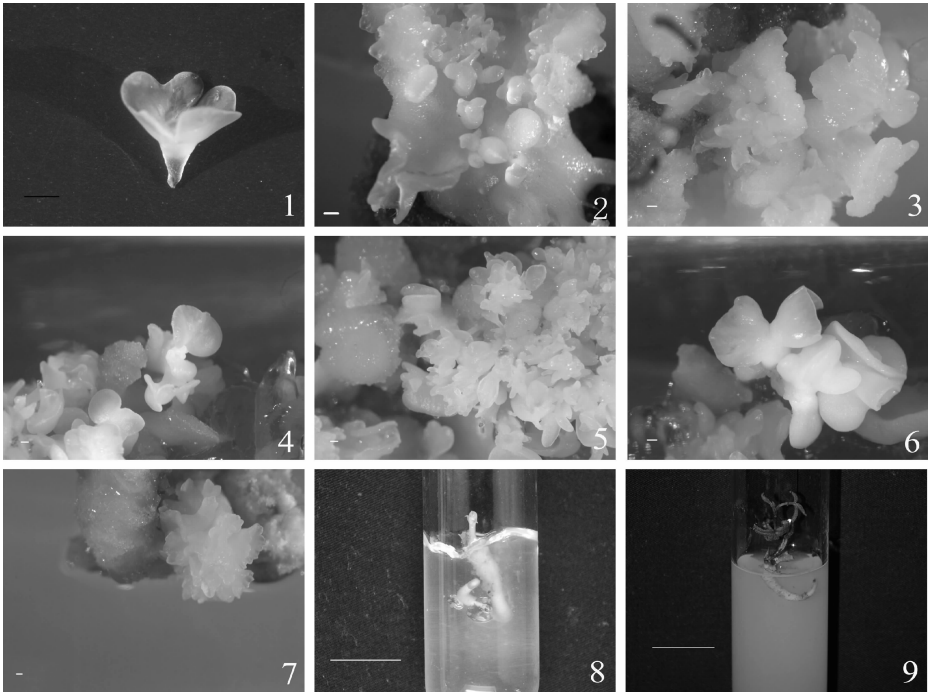


图 1 山核桃体细胞胚的诱导与植物再生

1. 山核桃幼胚；2. 胚性愈合组织从子叶表面发生(1/2MS,30 d)；3. 体胚从愈合组织中发生(1/2DKW+1/2WPM, 15 d)；4. 发育良好的子叶胚；5. 体胚大量发生(1/2DKW+1/2WPM, 15 d)；6. 没有生长点的子叶胚；7. 体胚呈簇生状；8. 体胚萌发(改良 WPM, 10 d)；9. 植株再生(改良 WPM, 15 d)。标尺 1 : 1 mm；2~7: 100 μm；8~9: 1 cm。

Figure 1 Somatic embryogenesis and plant regeneration of *Carya cathayensis*

1. Immature embryo; 2. Embryogenic callus originated from the surface of cotyledon (1/2MS, 30 d); 3. Somatic embryos derived from embryogenic callus(1/2DKW+1/2WPM, 15 d); 4. Well developed cotyledonary embryo; 5. Somatic embryos developed largely(1/2DKW+1/2WPM, 15 d); 6. Cotyledonary embryo with no apex; 7. Fascicular somatic embryos; 8. Germinated somatic embryos (modified WPM, 10 d); 9. Plant regeneration(modified WPM, 15 d)。Bars 1 : 1 mm; 2~7. 100 μm; 8~9. 1 cm.

1.6 碳源对山核桃植株再生的影响

将生长健壮的子叶胚进行脱水处理，将体胚放置于取直径为 9 cm，且分成 3 格的培养皿，其中 2 格每格 20 个体胚，另外一格中加 5 mL 饱和的 Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O 溶液，密封并暗培养 3 d。处理后将色泽乳白至淡黄的体胚接种至马铃薯葡萄糖琼脂(WPM)基本培养基中分别附加蔗糖(0, 5, 10, 15, 20, 25, 30 g·L<sup>-1</sup>)，置光照条件下培养，光暗周期为 16 h/8 h，光照强度：40~50 μmol·m<sup>-2</sup>·s<sup>-1</sup>，10 周后统计体胚萌发率。

1.7 数据处理

实验采用单因子设计，应用 SigmaPlot 8.0 和 SPSS 16 系统软件对实验数据进行统计分析并进行显著性分析。实验数据均为 3 次重复的平均值。胚性愈合组织诱导率=(诱导出胚性愈合组织外植体数/接种的外植体数)×100%，体胚诱导率=(诱导出体胚的外植体数/接种的外植体数)×100%。

2 结果与分析

2.1 碳源对山核桃胚性愈合组织发生的影响

不同种类碳源对山核桃胚性愈合组织的诱导具显著性影响。在对山核桃胚性愈合组织的诱导过程中，葡萄糖的诱导效果明显优于蔗糖、海藻糖和麦芽糖，诱导率达 33.3%。进一步进行方差分析和多重比较，葡萄糖与蔗糖、海藻糖及麦芽糖之间存在显著性差异(图 2)。相同培养条件下，在添加海藻糖和麦芽糖的培养基中，幼胚易出现玻璃化现象，且形成的胚性愈合组织较少。有添加蔗糖的培养基中，胚性愈合组织诱导率虽然比海藻糖和麦芽糖高，但愈合组织继代培养后不易增殖，且玻璃化现象比较严重(图 3)。幼胚在含葡萄糖的培养基中培养，2 周后开始出现乳白色愈合组织(图 1-2)，4 周后出现乳白色至淡黄色愈合组织，6 周后胚性愈合组织诱导率达到最高。

## 2.2 不同质量浓度葡萄糖对山核桃胚性愈合组织诱导的影响

对山核桃胚性愈合组织诱导过程中,发现不同质量浓度葡萄糖之间存在显著性差异。胚性愈合组织诱导率随着葡萄糖质量浓度的升高呈先上升后下降的趋势。当葡萄糖质量浓度为  $10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  时,诱导率为 25.0%,子叶多数褐化。当葡萄糖质量浓度为  $20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  时,诱导率与其余处理间存在显著性差异,达 50.0%(图 3),产生的胚性愈合组织色泽乳白至淡黄,并呈颗粒状结构。随着葡萄糖质量浓度的逐渐升高,胚性愈合组织诱导率逐渐下降,当质量浓度为  $80 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  时,大多形成淡灰色至褐色稀泥状非胚性愈合组织。

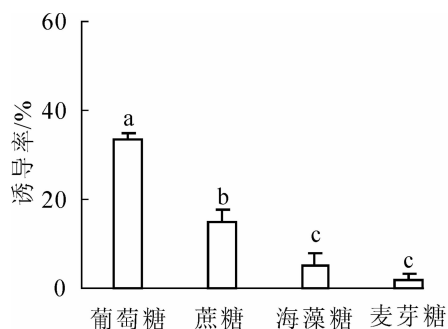


图 2 不同碳源对胚性愈合组织诱导的影响

Figure 2 Effect of different carbon sources on embryogenic callus induction

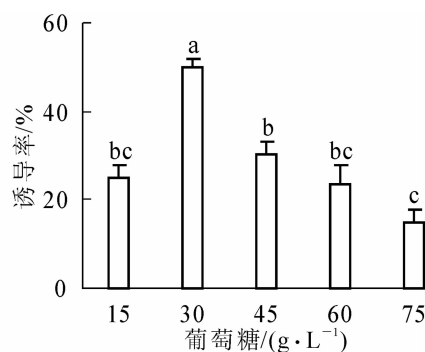


图 3 不同质量浓度葡萄糖对胚性愈合组织诱导的影响

Figure 3 Effect of different concentration of glucose on embryogenic callus induction

## 2.3 碳源对山核桃体胚发生的影响

实验结果显示:在山核桃体胚诱导过程中,不同碳源之间存在显著性差异。在添加蔗糖的培养基中,体胚诱导率与其余处理间存在显著差异,达 23.3%(图 4)。胚性愈合组织在含蔗糖的培养基中继代培养,2 周后出现乳白色至淡黄色颗粒状结构,2~4 周后体胚逐渐形成(图 1-3),体胚子叶可正常展开(图 1-4),6 周后体胚大量发生(图 1-5),诱导率达到最高,无玻璃化现象。相同条件下,在添加海藻糖和麦芽糖诱导过程体胚诱导率低,畸形胚较多,部分体胚子叶不能展开或没有生长点(图 1-6),或呈簇生状(图 1-7),同时部分胚性愈合组织细胞出现程序性死亡,形成黄褐色稀泥状非胚性愈合组织。葡萄糖虽然比海藻糖和麦芽糖高,但培养物易发育形成畸形体细胞胚,且褐化现象比较严重。

## 2.4 不同质量浓度蔗糖对山核桃体胚诱导的影响

研究表明,在体胚诱导过程中,不同质量浓度蔗糖之间存在显著性差异。随着蔗糖质量浓度的升高,体胚诱导率呈先上升后下降的趋(图 5)。在添加较低质量浓度( $15 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ )蔗糖的培养基中,胚性愈合组织不易形成体细胞胚,胚性愈合组织增殖时部分脱分化形成非胚性愈合组织,最终褐化死亡。在培养基中添加  $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  当蔗糖时,少数胚性愈合组织中产生体胚,但较易褐化或形成畸形体胚;当培养基中蔗糖浓度增加至  $45 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  时,体胚诱导率最高,接种后 2 周有少量体胚形成,4 周左右大量发生,6

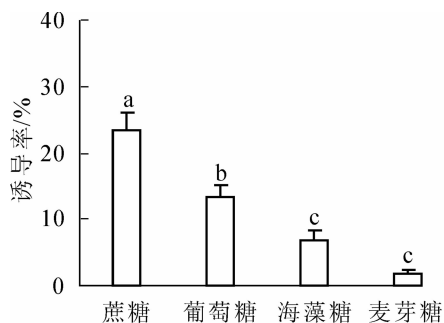


图 4 不同碳源对体细胞胚发生的影响

Figure 4 Effect of different carbon sources in somatic embryos induction

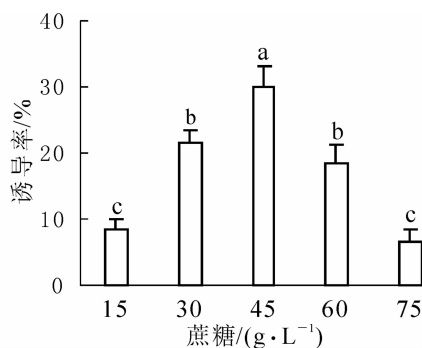


图 5 不同质量浓度蔗糖对体胚诱导的影响

Figure 5 Somatic embryos induction under different concentration sucrose

周达到最高峰,诱导率为 30.1%,与其余处理间存在显著性差异。该处理下产生的体胚表面较为干燥,色泽乳白,大多能正常发育至子叶胚时期,且子叶可正常展开。当蔗糖质量浓度增加为 60 或 75  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  时,体细胞胚诱导率逐渐降低,并且褐化加重,体细胞胚次生胚增殖率降低,褐色块状非胚性的愈合组织含量逐渐增加。

### 2.5 不同质量浓度蔗糖对山核桃植株再生的影响

山核桃体胚在一定蔗糖质量浓度下可正常萌发(图 1-8)。不同质量浓度蔗糖对山核桃体胚萌发具显著性影响,体胚萌发率随着蔗糖质量浓度的升高呈先上升后下降的趋势。当蔗糖质量浓度为 5  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  时,萌发率与其余处理间存在显著性差异,达 20.0%(图 6)。对照萌发率为仅 1.7%,但当蔗糖质量浓度分别升高至 10, 15, 20, 25, 30  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  时,萌发率下降至 10.0%, 8.3%, 5.0%, 6.6%和 5.0%。因此,低质量浓度蔗糖能促进山核桃体胚的萌发,接种 10 周后可发育成含数片真叶的再生植株(图 1-9)。

## 3 讨论

到目前为止,有关山核桃属植物组织培养的研究取得了一定进展,尤其是美国山核桃,已在体细胞胚诱导<sup>[8]</sup>、植物再生<sup>[9]</sup>以及转基因<sup>[10]</sup>等方面进行了较为深入的研究,但有关山核桃的体细胞胚诱导目前还未见报道。本课题组已经初步得到山核桃愈合组织基本培养基为 1/2MS,体细胞胚发生的基本培养基是 1/2DKW+1/2WPM,在体细胞胚发生过程中添加适量的脱落酸有助山核桃体细胞胚发育发生。本研究以碳源为研究对象,初步得到较好的碳源,进一步优化了山核桃体细胞胚发生体系,为下一步山核桃遗传体系构建提供了基础。

培养基中的碳源是植物组织培养过程中的最重要因素之一<sup>[11]</sup>。糖作为碳源,为细胞提供合成新化合物的碳骨架,为细胞的呼吸代谢提供底物与能量。植物组织培养一般采用蔗糖<sup>[12-13]</sup>、葡萄糖<sup>[14]</sup>、麦芽糖<sup>[15]</sup>、海藻糖<sup>[16]</sup>、果糖<sup>[17]</sup>等。Tokuhara 等<sup>[18]</sup>的研究发现,不同种类碳源使蝴蝶兰 *Phalaenopsis amabilis* 悬浮培养细胞系产生不同的培养结果,麦芽糖和山梨醇能诱导原球茎直接发生;蔗糖和葡萄糖能诱导愈合组织发生,但不能形成原球茎;在添加果糖的培养基中产生的愈合组织是添加葡萄糖的培养基中的一半;而在添加乳糖的培养基中既不能产生原球茎,也不能产生愈合组织。Cheong 等<sup>[19]</sup>报道蔗糖和葡萄糖有利于豆樱 *Prunus incisa* 胚性愈合组织的发生,而山梨醇和甘露醇则抑制胚性愈合组织的发生。Yancheva 等<sup>[20]</sup>研究发现,蔗糖 10  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  和 20  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  果糖组合最有利于无籽葡萄体胚的发生。而 Salajova<sup>[21]</sup>对黑松 *Pinus thunbergii* 进行胚性愈合组织诱导时发现,胚性愈合组织在添加蔗糖、麦芽糖、葡萄糖及果糖的培养基中均可发生。本研究发现,诱导山核桃胚性愈合组织形成的最佳碳源种类为葡萄糖,其诱导率与蔗糖、海藻糖以及麦芽糖之间存在显著性差异。这与 Yan 等<sup>[14]</sup>的研究一致。但与汤浩茹等<sup>[3]</sup>在核桃组织培养中采用蔗糖不同。进一步对其质量浓度进行测试,发现当葡萄糖质量浓度为 20  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  时,胚性愈合组织诱导率最高。

蔗糖是光合作用的主要产物,同时也是淀粉合成的前体物质。它能促进大多数植物组织培养材料的生长<sup>[12-13]</sup>。在植物组织培养中,蔗糖一直被作为标准碳源,蔗糖的用量也是组织培养成功与否的关键因子之一。本研究以蔗糖作为体细胞胚诱导的碳源,其培养效果明显优于葡萄糖、海藻糖以及麦芽糖。一般认为,蔗糖是较适宜作为培养基渗透压的调节物质,渗透压的原理主要是引起细胞失水,使细胞内含物升高,直接影响体细胞胚的成熟<sup>[22]</sup>。在针叶树中,体细胞胚的成熟需要较高的渗透压<sup>[23]</sup>;在杂交鹅掌楸 *Liriodendron hybrids*<sup>[24]</sup>,扁桃芒 *Mangifera persiciformis*<sup>[25]</sup>体胚成熟过程中,也需要提高蔗糖质量浓度来提高培养基的渗透压。当蔗糖质量浓度提高为 45  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$  时,培养基渗透压升高,培养物呈颗粒状,山核桃体细胞胚发生率也最高。研究表明:低质量浓度蔗糖有利于山核桃体胚的萌发,这与汤浩茹<sup>[26]</sup>的研究一致。

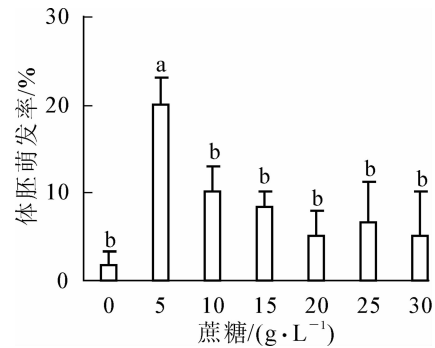


图 6 不同质量浓度蔗糖对体胚萌发的影响

Figure 6 Somatic embryos germination under different concentration sucrose

## 参考文献:

- [1] 郭传友, 黄坚钦, 方炎明. 山核桃研究综述及展望[J]. 经济林研究, 2004, **22** (1): 61 – 63.  
GUO Chuanyou, HUANG Jianqin, FANG Yanming. Review and perspective of research on *Carya cathayensis* [J]. *Non-wood For Res*, 2004, **22** (1): 61 – 63.
- [2] 张婷, 张虹. 山核桃青皮化学成分及生物活性研究进展[J]. 食品科技, 2007 (5): 116 – 119.  
ZHANG Ting, ZHANG Hong. Research progress on chemical compounds of the green peel of *Carya cathayensis* Sarg. and its biological activity [J]. *Food Sci Technol*, 2007 (5): 116 – 119.
- [3] 汤浩茹, 王永清. 核桃体细胞胚发生与转基因研究进展[J]. 林业科学, 2000, **36** (3): 102 – 110.  
TANG Haoru, WANG Yongqing. An overview of progress on somatic embryogenesis and transformation in walnut [J]. *Sci Silv Sin*, 2000, **36** (3): 102 – 110.
- [4] BURNS J A, WETZSTEIN H Y. Development and characterization of embryogenic suspension cultures of pecan [J]. *Plant Cell Tiss Org Cult*, 1997, **48**: 93 – 102.
- [5] RODRIGUEZ A P, WETZSTEIN H Y. The effect of auxin type and concentration on pecan (*Carya illinoensis*) somatic embryo morphology and subsequent conversion into plants [J]. *Plant Cell Rep*, 1994, **13**: 607 – 611.
- [6] 朱玉球, 廖望仪, 黄坚钦, 等. 山核桃愈合组织诱导的初步研究[J]. 浙江林学院学报, 2001, **18** (2): 115 – 118.  
ZHU Yuqiu, LIAO Wangyi, HUANG Jianqin, *et al.* A preliminary study on induction of callus in *Carya cathayensis* [J]. *J Zhejiang For Coll*, 2001, **18** (2): 115 – 118.
- [7] 万俊丽, 黄坚钦, 夏国华, 等. 山核桃幼胚不定芽诱导[J]. 浙江林学院学报, 2009, **26** (5): 762 – 766.  
WAN Junli, HUANG Jianqin, XIA Guohua, *et al.* Adventitious bud induction with immature embryo of *Carya cathayensis* [J]. *J Zhejiang For Coll*, 2009, **26** (5): 762 – 766.
- [8] RODRIGUEZ A P, WETZSTEIN H Y. A morphological and histological comparison of the initiation and development of pecan (*Carya illinoensis*) somatic embryogenic cultures induced with naphthaleneacetic acid or 2, 4-dichlorophenoxyacetic acid [J]. *Protoplasma*, 1998, **204**: 71 – 83.
- [9] BURNS J A, WETZSTEIN H Y. Development and germination of pecan somatic embryos derived from liquid culture [J]. *In Vitro Cell Dev Biol Plant*, 1995, **31**: 72 – 78.
- [10] MC GRANAHAHAN G H, LESLIE C A, DANDEKAR A M, *et al.* Transformation of pecan and regeneration of transgenic plants [J]. *Plant Cell Rep*, 1993, **12**: 634 – 638.
- [11] 程玉兰, 刁丰秋, 吴乃虎, 等. 蔗糖调控培养对胡萝卜体细胞胚内源 ABA 水平的效应[J]. 植物学报, 1999, **41** (7): 761 – 765.  
CHEN Yulan, DIAO Fengqiu, WU Naihu, *et al.* Effects of sucrose regulation culture on endogenous ABA levels of carrot somatic embryo [J]. *Acta Bot Sin*, 1999, **41** (7): 761 – 765.
- [12] TYAGI R K, GOSWAMI R, SANAYAIMA R, *et al.* Micropropagation and slow growth conservation of cardamom (*Elettaria cardamomum* Maton) [J]. *In Vitro Cell Dev Biol-Plant*, 2009, **45** (6): 721 – 729.
- [13] ISHII Y, TAKAMURA T, GOI M, *et al.* Callus induction and somatic embryogenesis of *Phalaenopsis* [J]. *Plant Cell Rep*, 1998, **17**: 446 – 450.
- [14] YAN Shufeng, ZHANG Qiao, WANG Jinger, *et al.* Somatic embryogenesis and plant regeneration in two wild cotton species belong to G genome [J]. *In Vitro Cell Dev Biol-Plant*, 2010, **46** (3): 298 – 305.
- [15] BLANC G, MICHAUX-FERRIÈRE N, TEISSON C, *et al.* Effects of carbohydrate addition on the induction of somatic embryogenesis in *Hevea brasiliensis* [J]. *Plant Cell Tiss Org Cult*, 1999, **59** (2): 103 – 112.
- [16] LIU T A, LIN J J, WU R Y. The effects of using trehalose as a carbon source on the proliferation of *Phalaenopsis* and *Doritaenopsis* protocorm-like-bodies [J]. *Plant Cell Tiss Org Cult*, 2006, **86** (1): 125 – 129.
- [17] KOMAI F, OKUSE I, SAGA K, *et al.* Improvement on the efficiency of somatic embryogenesis from spinach *Spinacia oleracea* root tissues by applying various sugars [J]. *J Jpn Soc Hort Sci*, 1996, **65** (1): 67 – 72.
- [18] TOKUHARA K, MII M. Highly-efficient somatic embryogenesis from cell suspension cultures of *Phalaenopsis* orchids by adjusting carbohydrate sources [J]. *In Vitro Cell Dev Biol-Plant*, 2003, **39** (6): 635 – 639.
- [19] CHEONG E J, POOLER M R. Factors affecting somatic embryogenesis in *Prunus incisa* ‘February Pink’ [J]. *Plant Cell Rep*, 2004, **22**: 810 – 815.
- [20] YANCHEVA S D, ROICHEV V. Carbohydrate source can influence the efficiency of somatic embryogenesis in seed-

- less grapes (*Vitis vinifera* L.)[J]. *Biotechnol & Biotechnol Eq*, 2005, **19** (2): 62 – 66.
- [21] SALAJOVÁ T, SALAJ J. Somatic embryogenesis in *Pinus nigra*: embryogenic tissue initiation, maturation and regeneration ability of established cell lines [J]. *Biol Plantarum*, 2005, **49** (3): 333 – 339.
- [22] JAVED F, IKRAM S. Effect of sucrose induced osmotic stress on callus growth and biochemical aspects of two wheat genotypes [J]. *Pak J Bot*, 2008, **40** (4): 1487 – 1495.
- [23] TAN Wei. Somatic embryogenesis and peroxidase activity of desiccation tolerant mature somatic embryos of loblolly pine [J]. *J For Res*, 2001, **12** (3): 147 – 152.
- [24] 陈金慧, 施季森, 诸葛强, 等. 杂交鹅掌楸体细胞胚胎发生研究[J]. 林业科学, 2003, **39** (4): 49 – 54.  
CHEN Jinhui, SHI Jisen, ZHUGE Qiang, *et al.* Studies on the somatic embryogenesis of *Liriodendron hybrids* (*L. chinense* × *L. tulipifera*)[J]. *Sci Silv Sin*, 2003, **39** (4): 49 – 54.
- [25] 黄镜浩, 谢江辉, 王松标, 等. 扁桃芒(*Mangifera persiciformis*)体胚发生及再生体系建立[J]. 果树学报, 2009, **26** (2): 176 – 179.  
HUANG Jinghao, XIE Jianghui, WANG Songbiao, *et al.* Studies on somatic embryogenesis and plant regeneration of *Mangifera persiciformis* [J]. *J Fruit Sci*, 2009, **26** (2): 176 – 179.
- [26] 汤浩茹. 核桃的体细胞胚胎发生与转基因研究[D]. 雅安: 四川农业大学, 2000: 23.  
TANG Haoru. *Somatic Embryogenesis and Transformation of English Walnut* (*Juglans regia* L.)[D]. Ya'an: Sichuan Agricultural University, 2000: 23.



## 浙江农林大学获国家自然科学基金资助项目 32 项

2011 年, 浙江农林大学获国家自然科学基金资助项目 32 项, 其中面上项目 15 项, 青年科学基金 17 项, 资助经费 1 264 万元, 立项总量比 2010 年有较大增长, 资助经费也创新高, 为学校“十二五”科研工作奠定了基础。

据统计: 2011 年浙江农林大学国家自然科学基金资助项目涵盖数理科学部、生命科学部、地球科学部、化学科学部和信息科学部等领域, 其中生命科学部 24 项、数理科学部 1 项、信息科学部 3 项、地球科学部 3 项、化学科学部 1 项。项目负责人呈现高学历、年轻化的特点, 并成为科研的一支生力军, 其中项目负责人具有博士学位占 93.7%, 40 周岁以下占 78.1%, 初次获得国家自然科学基金资助占 62.5%。受资助项目分布于多个二级学院, 其中农业与食品科学学院 10 项, 林业与生物技术学院 12 项, 环境与资源学院 5 项, 信息工程学院 2 项, 理学院 3 项。

罗锡平