

# 中国石竹离体快繁与试管苗玻璃化研究

程云清<sup>1</sup>, 刘剑锋<sup>1</sup>, 刘春明<sup>1</sup>, 邹振峰<sup>2</sup>, 王淑范<sup>3</sup>

(1. 吉林师范大学 生命科学学院, 吉林 四平 136000; 2. 四平市林业科学研究院,  
吉林 四平 136000; 3. 四平市园林管理局, 吉林 四平 136000)

**摘要:** 研究了培养基组成成分对中国石竹品种 Diana F<sub>1</sub> White 组培程序中种子萌发、诱芽增殖、试管苗玻璃化及生根等重要环节的影响。结果表明:(1)种子适宜的萌发培养基为 1/2 MS,在此培养基中种子萌发率为 83.33%,播种后 30 d 时无菌苗高度达 6.99 cm,叶片数达 26.7。(2)在芽诱导阶段玻璃化苗发生率最高可达 53.85%。将光照强度提高至 2 000 lx 后,采用培养基 MS+6-BA 3.0 mg/L+NAA 0.3 mg/L+琼脂 8.0 g/L+蔗糖 8.0 g/L 进行诱芽培养,玻璃化苗发生率降至 3.33%,外植体出芽率达到 90%,单个外植体出芽数达到 7.2 个。(3)适宜的生根培养基为 1/2 MS+1.0 mg/L IBA+琼脂 8 g/L+蔗糖 40 g/L,培养 30 d 时生根率为 100%,平均根条数达到 24.7 条,平均根长度达到 4.7 cm。试管苗在消毒后的腐殖土中移栽,成活率达 95%。该研究结果为 Diana F<sub>1</sub> 试管苗的快速繁殖提供科学依据。

**关键词:** 中国石竹; 组培快繁; 玻璃化

中图分类号: S792.11 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2012)04-0531-05

## Study on *in vitro* propagation and tube plant vitrification of *Dianthus chinensis*

CHENG Yun-Qing<sup>1</sup>, LIU Jian-Feng<sup>1</sup>, LIU Chun-Ming<sup>1</sup>,  
ZOU Zhen-Feng<sup>2</sup>, WANG Shu-Fan<sup>3</sup>

(1. College of Life Sciences, Jilin Normal University, Siping 136000, China; 2. Siping Academy of Forestry  
Science, Siping 136000, China; 3. Garden Bureau of Siping City, Siping 136000, China)

**Abstract:** Effects of medium ingredients on seeds germination, buds inducement proliferation, tube plant vitrification and rooting were studied in order to establish efficient rapid propagation technology system of *Dianthus chinensis* cultivar Diana F<sub>1</sub> White. The results showed that proper seeds germination medium was 1/2 MS, and seed germination ratio was 83.33%. Height of aseptic tube plant reached to 6.99 cm, and leaf number per plant was 26.7 on 30<sup>th</sup> day after sowing in medium. Max. vitrification plant ratio was 53.85% during bud inducement period for tube plant of Diana F<sub>1</sub> White. The optimal medium for buds inducement was MS+6-BA 3.0 mg/L+NAA 0.3 mg/L+agar 8.0 g/L+sugar 8.0 g/L after light intensity was promoted to 2 000 lx. Bud inducement ratio and buds number per explant were 90% and 7.2 respectively, and the ratio of vitrification tube plants decreased to 3.33% after 30 days' culture. The optimal rooting medium was 1/2 MS+1.0 mg/L IBA+agar 8 g/L+sugar 40 g/L, and rooting percent, roots number and average root length was 100%, 24.7 and 4.7 cm respectively after 30 days' culture. Survival rate of tube plant was more than 95% after they were transplanted in disinfected humus. The above results would provide scientific base for micro propagation of *D. chinensis* cultivar Diana F<sub>1</sub> White.

**Key words:** *Dianthus chinensis*; tissue culture and rapid propagation; vitrification

\* 收稿日期: 2011-08-20 修回日期: 2011-12-29

基金项目: 国家自然科学基金(31000691)[Supported by the National Natural Science Foundation of China(31000691)]

作者简介: 程云清(1977-),女,湖北枝江人,博士,讲师,主要从事植物生物技术等研究,(E-mail)Chengyunqing1977@163.com。

中国石竹 (*Dianthus chinensis*) 是石竹科 (Caryophyllaceae) 石竹属 (*Dianthus*) 的多年生草本花卉植物, 是我国传统名花之一。中国石竹原产于东北、华北、长江流域及东南亚地区, 除华南以外, 几乎全国各地均有分布。中国石竹在世界各地广为栽培, 品种繁多, 然而由我国自行培育的优良品种很少 (黄莺等, 2003)。中国石竹常用播种、扦插和分株等方式进行繁殖。四平市林业科学研究院于 2009 年自荷兰引入一批石竹新品种, 其中品种 Diana F<sub>1</sub> White 颇具观赏价值, 但因是杂交种, 并不适宜留种繁殖, 建立组培快繁技术体系对其栽培应用具有重要的现实意义。香石竹 (*D. caryophyllus*) 的组培快繁技术已有较多报道, 香石竹可通过叶片、茎段再生途径进行扩繁, 也可通过体细胞胚胎发生途径进行增殖 (Aparna 等, 2003; Federico 等, 2010; Karami 等, 2006; Karami 等, 2007; Pareek 等, 2003)。与之相比较, 中国石竹的组培技术快繁研究较少, 已有的研究主要集中于试管花的诱导、体细胞胚胎诱导等方面 (陈以俊等, 1999; 黄莺等, 2003; 唐定台等, 1996), 利用茎段再生进行快繁的研究尚不多见, 未见试管苗玻璃化的报道。为建立完善的中国石竹 (*Dianthus Chinensis*) 品种 Diana F<sub>1</sub> White 组培快繁技术体系, 作者进行了两年的研究, 现对中国石竹品种 Diana F<sub>1</sub> White 完善的组培快繁技术体系进行报道。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

中国石竹品种 Diana F<sub>1</sub> White (*Dianthus chinensis*) 的种子引自荷兰, 由四平市林业科学研究院提供。室内试验于 2009~2011 年在吉林师范大学生命科学学院组培室进行。

### 1.2 方法

1.2.1 材料表面消毒处理 取 Diana F<sub>1</sub> White 种子, 置流水冲洗数次, 用洁净滤纸吸干表面水分, 70% (V/V) 乙醇浸泡 30 s, 用无菌水冲洗 4~5 次后转入质量百分比为 0.1% 的升汞 (含 Tween-20 数滴) 中浸泡 10 min, 用无菌水冲洗 4~5 次去除升汞与乙醇残留。

1.2.2 初代培养 经过表面消毒的种子接入 MS 与 1/2MS 两种基本培养基中进行初代培养, 及时去除污染的外植体材料。如培养基中添加 GA<sub>3</sub>, GA<sub>3</sub> 经过滤除菌后在无菌条件下加入到温热培养基中。培

养时间约为 30 d, 比较培养基种类与 GA<sub>3</sub> 对种子萌发与无菌苗生长的影响 (表 1)。

1.2.3 增殖培养 取初代培养中获得的无菌苗, 切分成 2cm 左右的茎段, 接入附加不同浓度 6-BA 与 NAA 的 MS 培养基中 (表 2), 比较植物生长物质浓度配比对中国石竹芽增殖的影响。

1.2.4 琼脂、蔗糖浓度对玻璃化苗发生率的影响 比较培养基中不同琼脂、蔗糖浓度对玻璃化苗发生率的影响 (表 3)。

1.2.5 生根培养 基本培养基选用 1/2 MS, 添加不同质量浓度 NAA、IBA 进行生根诱导培养, 比较不同浓度 NAA、IBA 对试管苗生根的影响 (表 4)。

1.2.6 培养条件 以上培养基 pH 为 5.8~6.0, 在 1.2 kg/cm<sup>2</sup> 压力下高温灭菌 20 min。接种后置于培养温度 (25±2)°C, 光照强度为 1 500~2 000 lx, 每天光照 12 h 的组培室条件下进行培养。

1.2.7 统计分析 以上试验重复 3 次, 每次重复 10 瓶以上, 实验结果为 3 次重复的平均值。采用统计软件 SAS8.2 中的 GLM 过程进行差异显著性分析。结果如为百分数, 经反正弦转换后进行统计分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 培养基种类与 GA<sub>3</sub> 对中国石竹种子萌发与无菌苗生长的影响

由表 1 可见, Diana F<sub>1</sub> White 种子在这四种培养基中萌发率均较高, 最低也可达 70%, 其中, 采用 1/2MS 培养基的两个处理其种子萌发率显著高于采用 MS 培养基的两个处理 ( $P < 0.05$ )。采用相同培养的处理相比较, GA<sub>3</sub> 的加入没有显著提高种子萌发率 ( $P > 0.05$ )。接种于 4 种培养基中的无菌苗高度存在一定的差异, 采用 MS 培养基的两个处理其无菌苗高度显著高于采用 1/2MS 培养基的两个处理 ( $P < 0.05$ )。采用相同培养的处理相比较, GA<sub>3</sub> 的加入对无菌苗高度也无显著影响 ( $P > 0.05$ )。Diana F<sub>1</sub> White 接种后 30 d 时, 无菌苗叶片数均可达 20 片以上, 不同处理相比较, 无菌苗叶片数以 1/2MS+GA<sub>3</sub> 和 1/2 MS 为最高。种子萌发后无菌苗的生长情况如图 1:A 所示。

### 2.2 植物生长物质浓度配比对中国石竹芽增殖的影响

取上述无菌苗, 切分为 2 cm 左右的茎段, 置于培养基 MS+30 g 蔗糖+6 g 琼脂中进行培养, 光照强度为 1 000~1 500 lx, 培养周期为 30 d。然后取

试管苗再切分为 2 cm 左右的茎段进行培养, 3 轮循环培养后, 获得大量可用于增殖培养的试管苗(图 1:B)。为进一步提高繁殖效率, 以 2 cm 左右的试管苗茎段为外植体, 采用 MS 为基本培养基, 通过添加不同浓度的 6-BA 与 NAA, 组成 5 种诱芽培养基配方, 芽诱导的结果如表 2 所示。随着 6-BA 浓度的升高和 NAA 浓度的下降, 出芽率、单个外植体出芽数、玻璃化苗发生率均呈逐渐上升趋势。从出芽率和单个外植体出芽数来看, 6-BA 浓度大于或等于

3.0 mg/L 的 3 个处理出芽率明显高于 6-BA 浓度小于 3.0 mg/L 的 2 个处理; 从玻璃化苗发生率来看, 6-BA 浓度超过 3.0 mg/L 后, 玻璃化苗发生率迅速上升。综上所述, 在本研究的 5 个处理中, MS + 6-BA 3.0 mg/L + NAA 0.3 mg/L 对于芽诱导比较适宜, 但玻璃化苗发生率仍然偏高, 达到 26.67%。玻璃化苗的大量存在大幅降低了 Diana F<sub>1</sub> White 组培快繁的效率(图 1:C), 因此, 有必要采取措施降低玻璃化苗发生率。

表 1 培养基种类与 GA<sub>3</sub> 对 Diana F<sub>1</sub> White 种子萌发与无菌苗生长的影响

Table 1 Effects of hormone type and GA<sub>3</sub> on seed germination and sterile plantlets growth of *Dianthus chinensis*

培养基 Medium	GA <sub>3</sub> 浓度 GA <sub>3</sub> concentration (mg/L)	外植体数目 No. of explants	种子萌发率 Germination ratio of seed (%)	无菌苗高度 Length of sterile tube plant (cm)	无菌苗叶片数 Leaf No. of sterile tube plant
MS	0.2	30	73.33 b	7.72 a	23.4 b
MS	0	30	70.00 b	7.37 ab	22.6 b
1/2MS	0.2	30	86.67 a	6.83 b	24.6 ab
1/2 MS	0	30	83.33 a	6.99 b	26.7 a

注: 以上培养基含琼脂 6 g/L, 蔗糖 25 g/L。同列数据后不同字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ )。下同。

Note: 6 g/L agar and 25 g/L sucrose were contained in medium above. The same letter within a column indicated significant at 0.05 levels. The same below.

表 2 植物生长物质浓度配比对中国石竹芽增殖的影响

Table 2 Effects of plant growth substances concentration and ratio on buds proliferation of *D. chinensis*

6-BA 浓度 6-BA concentration (mg/L)	NAA 浓度 NAA concentration (mg/L)	外植体数目 No. of explant	出芽率 Germination ratio (%)	单个外植体出芽数 Buds No. per explant	玻璃化苗发生率 Ratio of vitrification tube plant (%)
5.0	0.1	39	92.31a	7.9a	53.85a
4.0	0.2	32	90.63a	7.4ab	37.50b
3.0	0.3	30	86.67a	6.9bc	26.67c
2.0	0.4	27	70.37b	6.4c	22.22d
1.0	0.5	36	63.89b	5.2d	19.44d

表 3 琼脂、蔗糖含量对中国石竹玻璃化苗发生率、出芽率和单个外植体出芽数的影响

Table 3 Effects of agar and sucrose content on vitrification ratio, germination ratio and buds No. of *D. chinensis* tube plant

光照强度 Light intensity (lx)	琼脂浓度 Agar concentration (g/L)	蔗糖浓度 (g/L) Sucrose concentration	外植体数目 No. of explants	玻璃化苗发生率 Ratio of vitrification tube plant (%)	出芽率 Germination ratio (%)	单个外植体出芽数 Buds No. per explant
1 500	7	30	30	26.67a	86.67bc	6.9cd
2 000	7	30	30	16.67b	90.00ab	8.3a
2 000	8	30	30	10.00c	86.67bc	7.5b
2 000	9	30	30	10.00c	80.00cd	6.4de
2 000	7	40	30	6.67d	93.33a	8.5a
2 000	8	40	30	3.33e	90.00ab	7.2bc
2 000	9	40	30	3.33e	83.33bc	6.2e
2 000	7	50	30	6.67d	73.33de	6.4de
2 000	8	50	30	3.33e	66.67ef	5.3f
2 000	9	50	28	3.57e	57.14f	4.7g

注: 以上培养基含 6-BA mg/L 3.0 mg/L, NAA 0.3 mg/L。

Note: 3.0 mg/L 6-BA mg and 0.3 mg/L NAA were contained in medium above.

表 4 不同浓度的 NAA 与 IBA 对中国石竹组培苗生根的影响

Table 4 Effects of different NAA and IBA concentration on tube plant rooting of *D. chinensis*

植物生长物质类型 Type of plant growth substances	浓度 Concentration (mg/L)	外植体数目 No. of explant	生根率 Rooting ratio (%)	平均根条数 Average root No. per plantlet	平均根长度 Average root length (cm)
NAA	2.0	30	90.00b	22.4b	2.5d
	1.0	30	93.33b	17.2c	2.3d
	0.5	30	73.33c	9.8e	1.7e
IBA	2.0	30	100.00a	23.6ab	3.4c
	1.0	30	100.00a	24.7a	4.7a
	0.5	30	93.33b	12.9d	4.2b

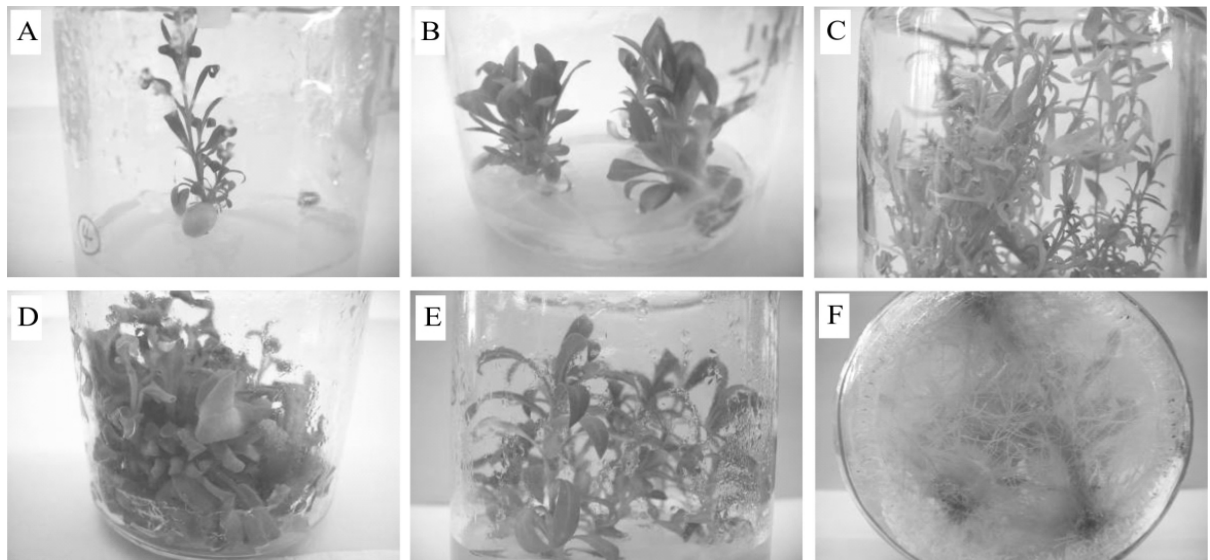


图 1 中国石竹组培快繁体系建立过程 A. 种子萌发形成的无菌苗; B. 继代后的无菌苗; C. 玻璃化苗; D. 增殖培养中的试管苗; E. 用于生根的健壮试管苗; F. 试管苗生根。

Fig. 1 Establishment of tissue and organ culture process of *D. chinensis* A. Sterile tube plant germinated from a seed; B. Sterile tube plant after subculture; C. Vitrification tube plant; D. Tube plant during proliferation process; E. Tube plant before rooting; F. Tube plant after rooting.

### 2.3 琼脂、蔗糖含量对中国石竹玻璃化苗发生率、出芽率和单个外植体出芽数的影响

为降低玻璃化苗发生率,本研究将光照强度增加至 2 000 lx,在此光照条件下,检测培养基中琼脂、蔗糖浓度增加后对玻璃化苗发生率、出芽率和单个外植体出芽数等指标的影响,结果如表 3 所示。与采用 1 500 lx 光照条件的处理相比较,2 000 lx 条件下玻璃化苗发生率下降了 10%。总的看来,2 000 lx 光照强度、相同蔗糖浓度条件下,随着琼脂浓度的增加,玻璃化苗发生率下降,同时,出芽率与单个外植体出芽数也随之下降;2 000 lx 光照、相同琼脂浓度条件下,随着蔗糖浓度的增加,玻璃化苗发生率下降,出芽率与单个外植体出芽数也随之下降。因此,适当增加琼脂浓度与蔗糖浓度对于降低玻璃化苗发生率均是有效的。在本研究中,琼脂浓度如超

过 8 g/L,或蔗糖浓度超过 40 g/L,继续增加琼脂或蔗糖浓度不能降低玻璃化苗发生率,而出芽率和单个外植体出芽数则呈继续下降趋势。在本研究的 10 个处理中,琼脂浓度与蔗糖浓度分别以 8 g/L 和 40 g/L 的处理玻璃化苗发生率较低,仅 3.33%,出芽率和单个外植体出芽数分别可以达到 90%和 7.2 个,培养 30 d 后,增殖效率高,试管苗的生长健壮,如图 1:D 所示。

### 2.4 不同浓度的 NAA 与 IBA 对中国石竹组培苗生根的影响

诱导获得的芽体如长度小于 3 cm,在 MS+6-BA 3.0 mg/L+NAA 0.3 mg/L+琼脂 8 g/L+蔗糖 40 g/L 的培养基上继代 1 次,继代后的试管苗生长健壮。继代培养周期为 20 d,试管苗长度一般可达 5 cm(图 1:E)。取长度 5 cm 以上,叶片数大于

20 的试管苗用于生根培养。基本培养基采用 1/2 MS, 培养基中的琼脂与蔗糖浓度分别为 8 g/L 和 40 g/L, 附加不同种类与浓度的植物生长物质用于生根诱导, 培养 4~7 d 后开始在基部形成白色的根须。由表 4 可见, NAA 与 IBA 诱导 Diana F<sub>1</sub> White 生根的能力明显不同, 采用 IBA 进行生根诱导的 3 个处理其生根率显著高于相同浓度的 NAA 处理 ( $P < 0.05$ )。使用 1/2 MS+1.0 mg/L IBA 培养基的处理试管苗生根率可达 100%, 其生根数目与平均根长度也高于其它处理, 根系的生长十分旺盛(图 1:F)。因此, Diana F<sub>1</sub> White 的生根诱导以 1/2 MS+1.0 mg/L IBA+琼脂 8 g/L+蔗糖 40 g/L 为宜。

### 2.5 中国石竹组培苗的移栽

健壮的生根苗可移栽至育苗温室进行栽培。移栽时将组培瓶移入温室放置 3~5 d, 然后开盖继续炼苗 2~3 d。栽培土壤需要消毒, 每 100 kg 土施 50% 的多菌灵粉剂 5 克, 拌土后, 覆盖塑料薄膜 3~5 d。移栽时, 用镊子取出小苗并洗净根部琼脂, 置于 500 mg/L IBA 溶液中浸泡 10 min, 移栽于消毒后的腐殖土中, 浇透水, 并加盖透光塑料膜保湿。每天检查幼苗存活情况, 每 2 天揭膜通风 1 次, 每次通风时间为 30 min, 2 周后完全揭开塑料膜。此时, 组培苗有较多新根发生, 成活率在 95% 以上。

## 3 结论与讨论

石竹科植物种子有休眠的特征(Vandelook 等, 2008), 因此, 以种子为初始培养材料进行石竹科植物的组培快繁研究需要考虑种子的休眠问题。GA<sub>3</sub> 被证实对许多种子打破休眠十分有效(William 等, 2006), 在本研究中, Diana F<sub>1</sub> White 种子在 4 种种子萌发培养基中萌发率最低也可达 70%, 种子播种于 1/2 MS 培养基中萌发率可达 83.33%, 播种后 30 d, 无菌苗高度可达 6.99 cm, 叶片数达 26.7, 长势良好。GA<sub>3</sub> 是一种热敏性物质, 不耐高温灭菌, 需要经过过滤除菌后加入到温热培养基中, 这明显增加了实际操作的复杂性。然而, 培养基中加入 GA<sub>3</sub> 没有显著提高种子的萌发率 ( $P > 0.05$ ) (表 1), 在本研究中, Diana F<sub>1</sub> White 种子在培养基中的萌发似乎无需 GA<sub>3</sub> 处理来打破其休眠。强休眠水稻品种 4628 种子内源激素赤霉素(GA)等含量低于休眠性差品种 996, 这被认为与两者休眠期差异相关(张桂莲等, 2011)。本研究中 GA<sub>3</sub> 处理没有显著

提高种子的萌发率可能与 Diana F<sub>1</sub> White 种子具浅休眠的特征或种子在萌发前已经越过休眠期有关。综上, 在本研究中 Diana F<sub>1</sub> White 种子萌发培养基采用 1/2MS 较为适宜。

在本研究中, Diana F<sub>1</sub> White 试管苗生长速度快, 在培养基中播种后 30 d, 试管苗高度在 6.5 cm 以上(表 1; 图 1:A)。Diana F<sub>1</sub> White 试管苗存在玻璃化苗比例偏高的问题, 最高达 53.85%(表 2); 从形态上看, 玻璃化的 Diana F<sub>1</sub> White 试管苗高大细弱, 许多叶片白化呈水浸状(图 1:C)。6-BA 的浓度与玻璃化苗发生率呈正相关关系(余彭娜等, 2009), 本研究玻璃化苗发生率随着 6-BA 浓度的增加而加大, 考虑到外植体出芽率与单个外植体出芽的数量, 6-BA 3.0mg/L 和 NAA 0.3mg/L 的组合为最优, 其出芽率、单个外植体出芽数保持在 86.67% 和 6.9 个, 但玻璃化苗发生率仍达到 26.67%(表 2)。光照强度、琼脂和蔗糖浓度与试管苗的玻璃化发生率呈负相关关系(Tsay 等, 1998), 考虑到光照强度的增加将大幅增加试管苗生产过程中的成本, 因此, 本研究只将光照强度提高至 2 000 lx, 主要通过增加琼脂与蔗糖用量的方法进一步降低玻璃化苗比例, 结果表明, 培养基中的琼脂浓度与蔗糖浓度分别增加至 8 g/L 和 40 g/L 时, 可有效降低玻璃化苗发生率, 在此条件下玻璃化苗发生率仅 3.33%, 出芽率和单个外植体出芽数分别达到 90% 和 7.2 个(表 3), 培养 30 d 后, 试管苗增殖效率高, 试管苗的生长健壮(图 1:D)。Diana F<sub>1</sub> White 试管苗的生根以 1/2 MS+1.0 mg/L IBA+琼脂 8g/L+蔗糖 40g/L 为宜, 在此培养基中, 试管苗生根可达 100%(表 4), 根须数量多而长(图 1:F), 有利于试管苗向土壤中移栽。本研究成功建立了中国石竹品种 Diana F<sub>1</sub> White 的组培快繁技术体系, 并较好解决了快繁过程中试管苗高速生长导致的玻璃化问题, 其结果为 Diana F<sub>1</sub> White 试管苗的生产提供科学依据。

### 参考文献:

- Aparna P, Kothari SL. 2003. Direct somatic embryogenesis and plant regeneration from leaf cultures of ornamental species of *Dianthus*[J]. *Sci Hort*, **98**(4):449-459
- Chen YJ(陈以俊), Shen HJ(沈惠娟). 1999. Correlation between endogenous polyamine contents and flower bud formation in *Dianthus chinensis*(石竹花芽发生与内源多胺含量的关系)[J]. *Acta Hort Sin*(园艺学报), **26**(5):341-342
- Federico A, Gutiérrez M, Lourdes A, et al. 2010. Optimization of (下转第 547 页 Continue on page 547)

- Caicedo AL, Williamson S, Hernandez RD, *et al.* 2007. Genome-wide patterns of nucleotide polymorphism in domesticated rice [J]. *Plos Genet*, **3**(9):1 745—1 756
- Chen Dong(陈冬), Wu Dengjun(吴登俊). 2008. Approaches for SNP genotyping(单核苷酸多态性检测方法的研究进展)[J]. *Biotech Bull*, **2**:94—96
- Chu YG(褚延广), Su XH(苏晓华). 2008. Research progress of single nucleotide polymorphisms in forest trees(单核苷酸多态性在林木中的研究进展)[J]. *Hereditas(遗传)*, **30**(10):1 272—1 278
- Ge XJ, Yu Y, Zhao NX. 2003. Genetic variation in the endangered Inner Mongolia endemic shrub *Tetraena mongolica* Maxim. (Zygophyllaceae)[J]. *Biol Cons*, **111**:427—434
- Heuertz M, De Paoli E, Källman T, *et al.* 2006. Multilocus patterns of nucleotide diversity, linkage disequilibrium and demographic history of Norway spruce [*Picea abies* (L.) Karst][J]. *Genetics*, **174**(4):2 095—2 105
- Karron JD. 1991. Patterns of Genetic Variation and Breeding Systems in Rare Plants [M]//Falk DA, Holsinger KE(eds). Genetics and conservation of rare plants. New York: Oxford University Press:87—98
- Lewis PO, Crawford DJ. 1995. Pleistocene refugium endemics exhibit greater allozymic diversity than widespread congeners in the genus *Polygonella* (Polygonaceae)[J]. *Am J Bot*, **82**:141—149
- Liu JB(刘金波), Yang GJ(杨古几). 2006. The animal and plant resources and protection in Mamize Nature Reserve(麻咪泽自然保护区的动植物资源及保护)[J]. *J Sichuan Fore Sci Technol(四川林业科技)*, **27**(2):89—92
- Maguire TL, Sedgley M. 1997. Genetic diversity in *Banksia* and *Dryandra* (Proteaceae) with emphasis on *Banksia cuneata*, a rare and endangered species[J]. *Heredity*, **79**:394—401
- Nordborg M, Hu TT, Ishino Y, *et al.* 2005. The pattern of polymorphism in *Arabidopsis thaliana* [J]. *PLoS Biol*, **3**(7):1 289—1 299
- Rafalski JA. 2002. Novel genetic mapping tools in plants: SNP and LD based approaches[J]. *Plant Sci*, **162**(3):329—333
- Song SB(宋昭彬), Zou FD(邹方东), Guo C(郭聪), *et al.* 2004. Floristic analysis on seed plants of Meigu Dafengding national nature reserve(美姑大风顶自然保护区种子植物区系分析)[J]. *Guihaia(广西植物)*, **24**(3):207—213
- Spieß EB. 1989. Genetic in Population[M]. Second edition. New York: John Wiley & Sons, 773—774
- Tenaillon MI, Sawkins MC, Long AD, *et al.* 2001. Patterns of DNA sequence polymorphism along chromosome 1 of maize (*Zea mays* ssp. *mays*)[J]. *PNAS*, **9**(16):9 161—9 166
- Tuskan GA, DiFazio S, Jansson S, *et al.* 2006. The genome of black cotton wood, *Populus trichocarpa* (Torr & Gray)[J]. *Science*, **313**(5 793):1 596—1 604
- Wang J, Tang Y, Xie ZH, *et al.* 2009. Autecology and conservation status of *Magnolia sargentiana* Rehder & Wilson (Magnoliaceae) in the Dafengding region, southern Sichuan Province, China [J]. *J Syst Evol*, **47**(6):525—534
- Xu XH(徐志豪), Zhou DG(周定国), Zhang JG(张建国). 2003. Review on the applications of the Magnoliaceous species(木兰科植物应用综述)[J]. *Ningbo Agric Sci Technol(宁波农业科技)*, (2):9—12

( 上接第 535 页 Continue from page 535 )

- growth regulators and silver nitrate for micropropagation of *Dianthus caryophyllus* with the aid of a response surface experimental design[J]. *In Vitro Cell Dev-Pl*, **46**:57—63
- Huang Y(黄莺), Fan YP(范燕萍), Wang WS(王文生), *et al.* 2003. The induction of callus and plantlet regeneration in *Dianthus chinensis* (石竹愈伤组织诱导及植株再生)[J]. *J S Chin Agric Univ; Nat Sci Edit(华南农业大学学报·自然科学版)*, **24**(1):50—52
- Karami O, Deljou A, Esna-Ashari M, *et al.* 2006. Effect of sucrose concentrations on somatic embryogenesis in carnation (*Dianthus caryophyllus*)[J]. *Sci Hortic*, **110**:340—344
- Karami O, Deljou A, Pour AM. 2007. Repetitive somatic embryogenesis in carnation on picloram supplemented media [J]. *J Plant Growth Regul*, **51**:33—39
- Pareek A, Kothari SL. 2003. Direct somatic embryogenesis and plant regeneration from leaf cultures of ornamental species of *Dianthus*[J]. *Sci Hortic*, **98**:449—459
- Tang DT(唐定台), Xu MX(徐民新), Feng YH(冯永红). 1996. *In vitro* flowering from explants in *Dianthus chinensis* and factors influenced flower formation (石竹试管花的诱导及其影响因子的研究)[J]. *Acta Horti Sin(园艺学报)*, **23**(3):277—278
- Tsay H, Tsay HS, Drew RA. 1998. Effects of medium composition at different recultures on vitrification of carnation (*Dianthus caryophyllus*) *in vitro* shoot proliferation[J]. *Acta Horti*, **461**:243—249
- Vandelook F, Van de Moer D, Van Assche JA. 2008. Environmental signals for seed germination reflect habitat adaptations in four temperate Caryophyllaceae[J]. *Funct Ecol*, **22**(3):470—478
- William E, Finch S, Gerhard LM. 2006. Seed dormancy and the control of germination[J]. *New Phytol*, **171**(3):501—523
- Yu PN(余彭娜), Zhou QG(周启贵), Long Y(龙云), *et al.* 2009. Optimization of factors for decreasing vitrification of watermelon plantlets *in vitro* (降低西瓜试管苗玻璃化因素的优化)[J]. *J Southwest Univ; Nat Sci Edit(西南大学学报·自然科学版)*, **31**(10):35—38
- Zhang GL(张桂莲), Zhang ST(张顺堂), Tong JL(童佳丽), *et al.* 2011. Study on physiological characteristics of seed dormancy in rice (水稻种子休眠生理特性研究)[J]. *Chin Agric Sci Bull(中国农学通报)*, **27**(27):65—69