

核桃离体培养和植株再生

樊靖^{1,2}, 刘庆忠², 张俊林^{2,3}, 秦岭⁴, 陈新², 王锦^{1*}

(¹西南林学院园林学院, 昆明 650224; ²山东省果树研究所, 山东泰安 271000; ³浙江森禾种业股份有限公司, 杭州 310012; ⁴北京农学院植物科学技术系, 北京 102206)

摘要: 以 5 个核桃品种 (株系) 10 年生植株的茎段为外植体, 进行了离体培养和植株再生的研究。结果表明, 附加 $2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 聚乙烯吡咯烷酮的 DKW + 6-BA $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + BA $0.01 \sim 0.10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 是诱导茎段萌发最适宜的培养基, 5 个品种 (株系) 间的萌发率存在差异; DKW + 6-BA $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + BA $0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + 蔗糖 $40 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 是最适宜的增殖培养基; 采用二步生根法最高生根率为 41.67%, 生根试管苗移栽于草炭土 河沙 = 1 1 的基质中, 控制温度 $20 \sim 30$, 保湿 20 d, 期间遮荫, 40 d 后成活率 95%。

关键词: 核桃; 茎段; 组织培养; 聚乙烯吡咯烷酮

中图分类号: S 664.1; Q 813.1⁺2 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2009) 06-0867-06

In Vitro Culture and Plant Regeneration of *Juglans regia* L.

FAN Jing^{1,2}, LIU Qing-zhong², ZHANG Jun-lin^{2,3}, QIN Ling⁴, CHEN Xin², and WANG Jin^{1*}

(¹ Faculty of Landscape Architecture, Southwest Forestry College, Kunming 650224, China; ² Shandong Institute of Pomology, Tai'an, Shandong 271000, China; ³ Zhejiang Senhe Seed Co., LTD, Hangzhou 310012, China; ⁴ Department of Plant Science and Technology, Beijing University of Agriculture, Beijing 102206, China)

Abstract: A study was conducted on *in vitro* culture and plant regeneration of *Juglans regia* L. with the nodal segments or apical buds excised from the newly-grown shoots of the ten-year-old of five elites maternal plants. Results showed that the DKW supplemented with 6-BA $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + BA $0.01 - 0.10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ and polyvinylpyrrolidone $2 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ was optimal for segments breaking, five genotypes exhibited differences; While the DKW with 6-BA $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + BA $0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + $40 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ sucrose was optimal for the tube-shoot multiplication; The highest rooting frequency was 41.67% by using two steps method. The plantlets with roots were transplanted into the substrate containing peat and sand (1 1), At $20 - 30$ for 20 days, with the survival 95% after 40 days' transplanting.

Key words: walnut; *Juglans regia* L.; stem segment; tissue culture; polyvinylpyrrolidone

长期以来, 核桃 (*Juglans regia* L.) 主要采用实生繁殖与嫁接繁殖 (郗荣庭和张毅萍, 1996)。但实生繁殖后代发生变异, 难以保持品种的优良特性; 嫁接繁殖, 由于嫁接切口易氧化褐变, 常导致成活率很低且不稳定, 因此常规繁殖技术便成为核桃良种推广的巨大障碍 (高清华等, 2000)。自 Driver 和 Kuniyuki (1984) 将 Paradox 核桃组织培养成功后, 在核桃组织培养研究方面虽然取得了一定的进展 (McGranahan et al, 1988; Comu & Jay-Allemand, 1989; Pijut, 1994; 汤浩茹等, 2000; Saadat & Hennerty, 2002; Kaur et al, 2006), 但所采用的外植体多为合子胚、实生苗等幼嫩的组织, 对于核桃成龄品种的组织培养报道不多。本研究中以 10 年生的具有优良性状的核桃品种 (株系) 为试材, 成功建立了再生体系, 为核桃良种推广奠定了基础。

收稿日期: 2008 - 12 - 26; 修回日期: 2009 - 03 - 31

基金项目: 科技部科技基础工作项目 (2006DKA21002-20); 国家林业局 '948' 项目 (2008-4-11)

* 通讯作者 Author for correspondence (E-mail: 908505685@qq.com; Tel: 13700610996)

1 材料与方法

1.1 外植体材料及其培养条件

2007年5月从山东省泰安市国家果树资源圃核桃圃采集,由山东省果树研究所选育的核桃品种‘香玲’、‘绿圆’、‘丰辉’和‘优株1’、‘优株2’(优株1,优株2暂未鉴定),均为10年生树。选择直径为0.5~1.0 cm树膛内部枝干上当年抽生的无病虫害带10个节间的嫩梢。将保留1~2 cm长叶柄的枝条装入冰盒带回实验室,4℃冰箱保存备用。

供试枝条剪截成2~3 cm长单芽茎段(少数两个芽),洗衣粉浸泡30 min,自来水冲洗4~5 h,在超净工作台上用70%酒精涮洗60 s,无菌水冲洗两次后用含0.1% HgCl_2 溶液浸泡10 min,无菌水冲洗5次,然后再用0.1% HgCl_2 溶液浸泡5 min,无菌水冲洗8次。用无菌滤纸吸干表面水分,剪切枝条上下切口,将有新切口的枝条作为外植体。

以DKW(Driver & Kuniyuki, 1984)作基本培养基,附加蔗糖 $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ (生根培养为 $20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$),琼脂 $6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, pH 5.6~5.8,附加各种植物生长调节剂,温度 $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$,光照 $16 \text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$,光强 2000 lx 。

1.2 不同浓度植物生长调节剂对茎段的培养

将茎段接种于添加6-BA和BA的DKW培养基上进行培养,加入 $2.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 聚乙烯吡咯烷酮以阻止酚类物质氧化为醌类物质损伤组织细胞。培养30 d后,以萌发嫩茎的长度大于2 cm的为有效嫩茎(下同),统计分析不同植物调节剂组合对茎段萌发率的影响。每瓶接种1~2个茎段,每个处理20瓶,重复3次。萌发率(%)=萌发茎段数/未污染茎段数 $\times 100$ 。

1.3 不同品种(株系)茎段的培养

将5个供试核桃品种枝条接种于附加6-BA $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、BA $0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和添加聚乙烯吡咯烷酮 $2.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的DKW培养基上培养,30 d后统计分析萌发率的差异。每个品种(株系)接种20个茎段,重复3次。

1.4 初代嫩茎培养和继代增殖培养的筛选

将外植体萌发出的嫩茎切割下来,接种于附加6-BA $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、BA $0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的DKW培养基上,经2~3次继代,试管苗有一定数量时选取0.5~1.0 cm长的丛生芽或单芽进行增殖培养基的筛选。以‘香玲’试管苗为试材,以3种基本培养基(DKW、MS、WPM)、6-BA和BA不同浓度及蔗糖不同用量为参选因素,采用正交试验设计 $L_9(3^4)$,观察核桃试管苗增殖情况,选择最佳增殖培养基。接种20瓶,每瓶接种4个,重复3次。以长度大于0.5 cm单芽或至少带有一个叶片的茎段为有效增殖芽,培养20 d观察增殖情况。

1.5 试管生根诱导

选取生长健壮,高2.0~3.0 cm的试管苗进行生根。核桃试管嫩茎生根方法采用“二步法”生根(Jay-Allemand et al., 1992; 裴东等, 2002)。第1步诱导生根培养基为1/4 DKW附加不同浓度BA($0 \sim 15.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$);第2步生根培养基为不含生长调节剂的1/4 DKW。嫩茎在根诱导培养基上暗培养10 d后转接到生根培养基上培养。以根的长度大于0.5 cm为有效根,30 d后调查生根条数和生根率。每处理接种40个嫩茎,重复3次。

1.6 炼苗和移栽

试管苗根长2 cm以上时即可将生根的小植株开瓶炼苗7 d,移栽时先将小苗从培养基中取出,小心洗净,移栽到草炭土与河沙为1:1的基质中。移栽后小拱棚封闭保湿20 d以上,小植株恢复健壮生长后慢慢放风。7 d浇灌1次1/4 DKW大量溶液,大田移栽前将经锻炼的试管苗,移于室外炼苗7 d,然后移栽到土壤土中,移栽前在畦内撒少量草炭土。保持土壤湿润,加盖遮荫网。

1.7 数据统计分析

数据分析与处理采用 DPS v3.01 专业版统计软件。

2 结果与分析

2.1 不同浓度的植物生长调节剂组合对茎段萌发的影响

由表 1 可以看出, 不同浓度 6-BA 和 BA 的组合, 茎段的萌发率差异比较明显。不添加 6-BA 和 BA 的处理 (对照, 表中未列出) 茎段不萌发, 30 d 后腋芽脱落, 茎段干枯。植物生长调节剂处理的萌发率最高可达 88.33%, 萌发的茎段颜色鲜绿。随 6-BA 浓度的增高, 茎段的萌发率呈先上升后下降的趋势。

经方差分析, 6-BA 处理间差异显著 ($P < 0.05$), 当 6-BA $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 萌发率最高, 萌发早, 嫩茎壮实, 叶色鲜绿; 6-BA 浓度低于或高于 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 萌发晚, 嫩茎细弱, 叶色不正常。因此, 核桃茎段萌发适宜的培养基为添加 $2.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 聚乙烯吡咯烷酮的 DKW + 6-BA $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + BA $0.01 \sim 0.10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (图版, A)。

表 1 6-BA 和 IBA 对核桃茎段萌发率的影响

Table 1 Effects of 6-BA and IBA on the break rate from walnut stem segments

| 6-BA / ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) | BA / ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) | 萌发率 / % Break rate | 萌发情况 Geminata situation | 生长状况 Growth situation |
|---|---|-----------------------|----------------------------|----------------------------|
| 0.5 | 0.01 | 33.99 \pm 4.36 | 晚 Late | 细弱, 黄绿 Thin, chlorotic |
| 0.5 | 0.10 | 30.46 \pm 3.04 | 晚 Late | 细弱, 黄绿 Thin, chlorotic |
| 1.0 | 0.01 | 88.33 \pm 12.58 | 早 Early | 壮实, 浓绿 Strong, heavy green |
| 1.0 | 0.10 | 74.79 \pm 10.40 | 早 Early | 壮实, 绿 Strong, green |
| 2.0 | 0.01 | 50.49 \pm 8.30 | 晚 Late | 细弱, 淡绿 Thin, light green |
| 2.0 | 0.10 | 41.81 \pm 8.34 | 晚 Late | 极细弱, 淡绿 Thin, light green |

2.2 不同品种 (系) 茎段萌发结果

由表 2 可以看出, 供试的 5 个品种 (株系) 的茎段外植体萌发率存在较为明显的差别, 说明基因型的差异决定外植体再生能力的高低。‘优株 1’和‘优株 2’的萌发率 (88.33%, 72.5%) 显著高于另 3 个品种, 嫩茎粗壮, 颜色浓绿, 说明在当地选育出来的品质优良、产量高、生长健壮的优株, 在组织培养中同样表现出生长优势。‘香玲’、‘绿圆’、‘丰辉’表现出较低的萌发率, 可能与枝条上腋芽的饱满程度有关。3 个品种中‘丰辉’腋芽最瘪, ‘绿圆’居中, ‘香玲’稍好, 腋芽的饱满程度在一定程度上反映了萌发率的高低; ‘香玲’和‘丰辉’的萌发率之间差异不显著, 可能是因为两个品种是姊妹系, 都是从‘阿 9’ \times ‘上宋 6 号’杂交后代实生选育出来的。

表 2 不同品种 (株系) 的核桃茎段对萌发率效果的影响

Table 2 Effects of different varieties and clones of walnut on in vitro shoot break rate from stem segments

| 品种 Variety | 萌发率 / % Break rate | 生长状况 Growth situation |
|---------------|-----------------------|---|
| 香玲 Xiangling | 43.33 \pm 3.81 | 健壮, 叶片浓绿 Growth healthy and strong, leaves dark green |
| 丰辉 Fenghui | 31.67 \pm 6.29 | 健壮, 叶绿 Growth healthy and strong, leaves green |
| 绿圆 L üuan | 40.00 \pm 2.50 | 叶小, 叶柄长 Leaves small, petiole long |
| 优株 1 Elite 1 | 88.33 \pm 12.58 | 健壮, 有腋芽 Strong, axillary buds |
| 优株 2 Elite 2 | 72.50 \pm 5.00 | 粗壮, 节间短, 有愈伤 Strong and thick, node short, callus |

2.3 核桃试管苗的增殖培养基筛选

从表 3 可见, 不同组合方式影响核桃增殖倍数, 处理 5 的芽苗增殖效果最好, 增殖倍数达 5.57, 且芽苗生长较壮, 生长高度达 5 cm; 处理 9 虽然获得最高的增殖倍数, 但试管苗基部愈伤组织过大且嫩茎木质化严重, 不利于生根。

从极差分析结果可以看出, 6-BA 的浓度是决定核桃芽苗增殖系数的决定因子, 蔗糖的含量对增殖影响次之, 基本培养基的影响不大, BA 的影响最小。根据极差的大小, 可以确定核桃试管苗最佳增殖组合为: DKW + 6-BA $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + BA $0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + 蔗糖 $40 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。在此组合下, 核桃试管苗继代 20 d 的增殖倍数能达 6.5 (图版, B)。

表 3 核桃芽增殖的正交试验设计方案与试验结果直观分析表

Table 3 Test design and visual multiplication analysis of *Juglans regia* L. of reproduction by orthogonal experiment

| 处理 Treatment | 6-BA/ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) | BA/ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) | 蔗糖 / ($\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) Sucrose | 培养基 Medium | 增殖倍数 Reproduction times | 长势 Growing trend |
|-----------------|--|--|--|---------------|----------------------------|-------------------------|
| 1 | 0.5 (1) | 0.001 (1) | 20 (1) | DKW (1) | 2.92dD | 较弱 Rather weak |
| 2 | 0.5 (1) | 0.005 (2) | 30 (2) | MS(2) | 2.89dD | 较健壮 Rather vigorous |
| 3 | 0.5 (1) | 0.010 (3) | 40 (3) | WPM (3) | 3.92cdBCD | 较健壮 Rather vigorous |
| 4 | 1.0 (2) | 0.001 (1) | 30 (2) | WPM (3) | 4.67bcABCD | 矮小 Dwarf plants |
| 5 | 1.0 (2) | 0.005 (2) | 40 (3) | DKW (1) | 5.57abAB | 健壮 Rather vigorous |
| 6 | 1.0 (2) | 0.010 (3) | 20 (1) | MS(2) | 4.50bcABCD | 矮小 Dwarf plants |
| 7 | 1.5 (3) | 0.001 (1) | 40 (3) | MS(2) | 4.76bcABC | 矮小, 愈伤大 Dwarf plants |
| 8 | 1.5 (3) | 0.005 (2) | 20 (1) | WPM (3) | 3.64cdCD | 较弱, 愈伤大 Rather weak |
| 9 | 1.5 (3) | 0.010 (3) | 30 (2) | DKW (1) | 6.00aA | 健壮, 愈伤大 Rather vigorous |
| T ₁ | 3.24 | 4.11 | 3.69 | 4.82 | | |
| T ₂ | 4.91 | 4.04 | 4.52 | 4.05 | | |
| T ₃ | 4.80 | 4.81 | 4.74 | 4.07 | | |
| R | 1.67 | 0.77 | 1.06 | 0.78 | | |

注: A、B、C、D 分别表示 $\alpha=0.01$ 水平下的差异显著性; a、b、c、d 分别表示 $\alpha=0.05$ 水平下的差异显著性。T₁、T₂、T₃ 为各因素水平 1、水平 2、水平 3 的均值; R 为极差。

Note: A, B, C, D indicate the significance at the level of $\alpha=0.01$; a, b, c and d indicate the significance at the level of $\alpha=0.05$. T₁, T₂, T₃ indicate the average of level 1, level 2, level 3, respectively; R indicates range

2.4 核桃试管苗的生根培养基

将 2~3 cm 高的试管苗嫩茎切割下来, 接种到含有 BA 的 1/4 DKW 诱导培养基中暗培养 10 d, 然后转接到不含生长素的 1/4 DKW 生根培养基上培养, 30 d 后调查生根条数和生根率。在试管苗根诱导阶段, 暗培养 10 d 后, 在附加 BA $3.00 \sim 15.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的培养基上嫩茎基部呈现不同程度的肿大, 有些会出现红色的根原基 (图版, C), 将经过诱导的嫩茎转接到生根培养基中进行根的发生和伸长。

从图 1 可以看出, 试管苗在附加 BA $5.00 \sim 8.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 1/4 DKW 培养基上获得最佳生根效果 (图版, D), 生根率最高达 41.67%, 平均生根条数 2.33~3.50 条; BA 低于 $5.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 生根率下降, 平均生根条数也降低; BA 高于 $8.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 平均生根条数虽有提高, 但生根率下降且基部愈伤化严重。当 BA 为 $15.00 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时虽获得了最高生根条数 (5.50 条), 但是出现了最为严重的愈伤化和最低的生根率 (5.5%)。

生根试管苗大田移栽已成活 (图版, E), 移栽成活率 95%。

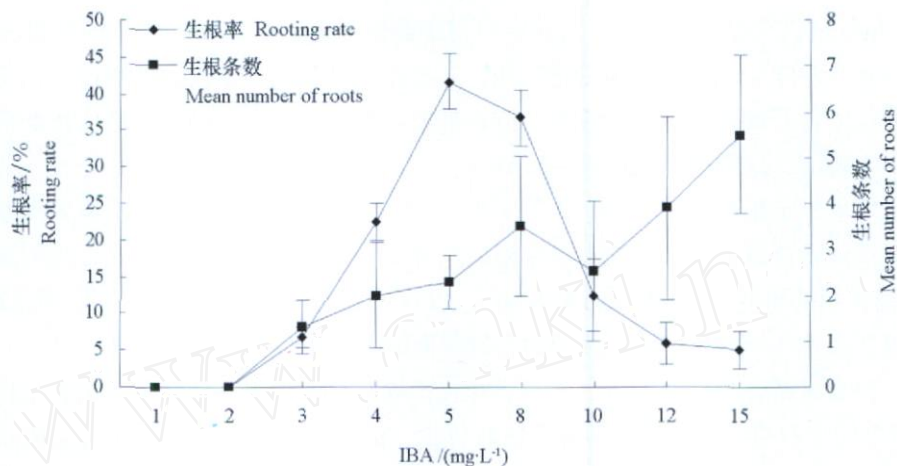


图1 IBA对核桃嫩茎生根率和生根条数的影响

Fig. 1 Effects of IBA with different concentrations on rooting rate and mean number of roots of *Juglans regia* L. seedlings



图版说明：A：茎段萌发；B：试管苗增殖；C：根原基；D：生根；E：移栽成活；F：开雌花。

Explanation of plates: A: Segment breaking; B: Cultivated for proliferation; C: Root primordium; D: Cultivated for rooting; E: Survival plantlets after transplanting; F: *In vitro* female flowering.

3 讨论

在核桃组织培养过程中，作者观察到一个有趣但难以定论的现象：在‘香玲’继代培养中出现

试管苗开雌花的现象 (图版, F)。核桃试管苗开花已有报道, 但未见开雌花的报道。裴东和奚声珂 (1998) 指出开花是试管苗退化的信号, 本研究中发现继代开花 (雄花和雌花) 的试管苗表现出增殖率下降、矮小、叶片深绿、叶柄变长等退化特征, 开雄花的试管苗在继代培养中仍可以开雄花, 但继代开雌花的试管苗不再开雌花; 对于试管苗开雌花现象, 推测可能是接种的外植体在继代培养中发生了变异, 具有早实特征, 这种推测有待进一步研究。

核桃是较难发生不定根的树种 (Gale & Charles, 1988), 生根诱导方法、外源 BA 水平、BA 处理天数、光周期及试管苗发育状态等均对不定根发生具有明显影响。有人通过对核桃不定根发生发育的 IAA/BA 调控机制的研究 (Jay-Allemand et al, 1992; 裴东等, 2002; 王清明等, 2006), 采用二步生根法在继代长达 4 年的 6 个核桃品种幼态嫩茎上取得了 60% 以上的生根率 (Pei et al, 2007)。核桃试管嫩茎生根要求条件严格, 若条件不适宜往往诱导失败或生根率低下。本试验采用二步生根法最高获得 41.67% 的生根率, 可能是因为继代次数较少, 试管嫩茎还未完全驯化为幼嫩状态, 随继代次数增加, 试管苗逐渐复幼, 有望获得较高生根率。

References

- Comu D, Jay-Allemand C. 1989. Micropropagation of hybrid walnut trees (*Juglans nigra* × *Juglans regia*) through culture and multiplication of embryos. *Ann Sci For* 46 (Suppl): 113 - 116.
- Driver J A, Kuniyuki A H. 1984. *In vitro* propagate on paradox walnut rootstock. *HortScience*, 19 (4): 507 - 509.
- Gale M, Charles A L. 1988. *In vitro* propagation of mature persian walnut cultivars. *HortScience*, 23 (1): 220.
- Gao Qing-hua, Duan Ke, Gan Lin, Zhang Da-fu. 2000. Advances in walnut propagation techniques in China. *Journal of Fruit Science*, 17 (3): 220 - 224. (in Chinese)
- 高清华, 段可, 甘霖, 张大福. 2000. 我国核桃繁殖技术的研究进展. *果树科学*, 17 (3): 220 - 224.
- Jay-Allemand C, Capelli P, Comu D. 1992. Root development of *in vitro* hybrid walnut microcuttings in a vermiculite-containing gelrite medium. *HortScience*, 51 (3 - 4): 335 - 342.
- Kaur R, Nimal Shama, Kumar K, Shama D R, Shama S D. 2006. *In vitro* germination of walnut (*Juglans regia* L.) embryos. *Scientia Horticulturae*, 109: 385 - 388.
- McGranahan G, Leslie C A, Driver J A. 1988. *In vitro* propagation of mature persian walnut cultivars. *HortScience*, 23 (1): 220.
- Pei Dong, Xi Sheng-ke. 1998. Mini-shoot scion proliferation *in vitro* of the precocious walnut cultivars. *Forest Research*, 11 (4): 350 - 354. (in Chinese)
- 裴东, 奚声珂. 1998. 核桃早食品种微枝接穗试管扩繁技术的研究. *林业科学研究*, 11 (4): 350 - 354.
- Pei Dong, Yuan Li-chai, Wang Qing-min, Gu Rui-sheng. 2007. Factors affecting rooting of *in vitro* shoots of walnut cultivars. *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*, 82 (2): 223 - 226.
- Pei Dong, Yuan Li-chai, Xi Sheng-ke. 2002. Shoot rooting *in vitro* for walnut cultivars. *Scientia Silvae Sinicae*, 38 (2): 32 - 38. (in Chinese)
- 裴东, 袁丽钗, 奚声珂. 2002. 核桃品种试管嫩茎生根的研究. *林业科学*, 38 (2): 32 - 38.
- Pijut P M. 1994. Micropropagation of butternut (*Juglans cinerea*). *HortScience*, 29 (5): 431.
- Saadat Y A, Hennerty M J. 2002. Factors affecting the shoot multiplication of Persian walnut (*Juglans regia* L.). *Scientia Horticulturae*, 95: 251 - 260.
- Tang Hao-ru, Wang Yong-qing, Ren Zheng-long, Krczal G. Somatic embryogenesis and plant regeneration from embryonic axes and cotyledons of walnut immature embryos of cv. No. 120. *Acta Horticulturae Sinica*, 27 (1): 59 - 61. (in Chinese)
- 汤浩茹, 王永清, 任正隆, G Krczal. 2000. 德国核桃 'No. 120' 幼胚胚轴与子叶体细胞胚胎发生及其植株再生. *园艺学报*, 27 (1): 59 - 61.
- Wang Qing-min, Peng Wei-xiu, Zhang Jun-pei, Pei Dong. 2006. Histological and hormonal characters during the rhizogenesis of *in vitro* walnut shoot. *Acta Horticulturae Sinica*, 33 (2): 255 - 259. (in Chinese)
- 王清民, 彭伟秀, 张俊佩, 裴东. 2006. 核桃试管嫩茎生根的形态结构及激素调控研究. *园艺学报*, 33 (2): 255 - 259.
- Xi Rong-ting, Zhang Yi-ping. 1996. Chinese fruit monograph—walnut. Beijing: China Forestry Press. (in Chinese)
- 郗荣庭, 张毅萍. 1996. 中国果树志——核桃卷. 北京: 中国林业出版社.