

植物微嫁接技术的研究及应用

张金林^{1,2,*} 王锁民¹ 许瑞³ 曹孜义⁴

¹兰州大学草地农业科技学院, 兰州 730020; ²甘肃农业大学农学院, 兰州 730070; ³甘肃中医学院, 兰州 730020;

⁴甘肃农业大学生命科学与技术学院, 兰州 730070

Researches and Applications of Plant *In vitro* Micrografting

ZHANG Jin-Lin^{1,2,*}, WANG Suo-Min¹, XU Rui³, CAO Zi-Yi⁴

¹College of Pastoral Agricultural Science and Technology, Lanzhou University, Lanzhou 730020; ²College of Agronomy, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070; ³Gansu College of Traditional Chinese Medicine, Lanzhou 730020; ⁴College of Life Science and Technology, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070

提要 介绍了影响微嫁接成活的主要因素、微嫁接细胞学研究和微嫁接的生理生化研究进展; 另外, 对微嫁接技术在农业生产中的应用(主要包括脱除果树病毒, 快速繁育无病毒苗木, 繁殖保存珍贵的育种材料, 试管内快速检测植物病毒、果树检疫、嫁接亲和力的鉴定及亲和力的早期预测等)也作了阐述。

关键词 植物微嫁接; 应用

微嫁接(*in vitro* micrografting)是一种在试管内将砧木与接穗进行嫁接的技术, 它是植物组织培养与嫁接技术的结合^[1,2]。自1972年Murashige等^[3]创立了微芽嫁接技术以来, 微嫁接技术已广泛应用于柑桔、苹果、桃、葡萄和龙眼等多种果树的研究与生产中。根据微嫁接所选用的接穗不同, 可分为茎尖嫁接(stem apex grafting)、微枝嫁接(micro shoot grafting)、愈伤组织嫁接(callus grafting)和细胞嫁接(cell grafting)等。茎尖嫁接是指在无菌条件下将生长枝的茎尖嫁接在去顶的试管苗或茎段上, 在适宜的条件下培养成为新植株。茎尖嫁接的反复进行可以诱导林木发育阶段返幼^[3,4]。微枝嫁接是指在无菌条件下将试管苗的茎段嫁接到另一株去顶的试管苗或茎段上, 在适宜条件下培养成为新植株^[5~7]。愈伤组织嫁接是指将不同植物的愈伤组织进行混合培养, 以获得嫁接嵌合体的方法, 它可避免整体嫁接时由切割造成的隔离层对接穗与砧木细胞真正关系的掩盖作用^[5~7]。细胞嫁接是指将不同植物的细胞或原生质体进行混合并继代培养, 诱导根、茎、叶的分化, 形成植株^[5~7]。细胞嫁接与细胞融合不同。细胞嫁接中, 来自不同植物的细胞很少(甚至没有)发生遗传物质的交换, 细胞生长保持各自的特性, 来源不同的细胞之间可形成次生胞间连丝, 进行一定的物质和信息交流, 以满足植株生长发

育的需要。与常规的嫁接方法相比, 微嫁接具有其自身特有的优越性^[1,8]: (1)周期短、费用低、占地少、成活率高; (2)进行微嫁接后, 生长条件可以人为控制, 提高了有关科学研究的可信度; (3)不受季节的限制和环境的影响, 可以在实验室常年进行; (4)有利于进行嫁接亲和力的研究。现就植物微嫁接技术及其应用作如下介绍。

1 植物微嫁接技术

1.1 影响微嫁接成活的主要因素

1.1.1 蔗糖浓度 Navarro等^[9]在柑桔的微嫁接过程中发现, 培养基中蔗糖浓度对微嫁接的成活起非常关键的作用。培养基中的蔗糖浓度为7.5%时, 微嫁接成活率最高为90%; 而蔗糖浓度为2.5%时, 成活率仅为55%。并且蔗糖浓度为7.5%的微嫁接植株生长状况, 如总叶片数、叶片大小、总的叶片生长量以及新发根植株的比例都明显大于生长在2.5%的蔗糖培养基上的微嫁接成活株。

1.1.2 植物生长调节剂和抗氧化剂 植物生长调节剂和抗氧化剂可减轻氧化作用, 促进接穗与砧木切口表面愈伤组织的形成。BAP、NAA、GA₃、6-BA等植物生长调节剂可促进苹果、樱桃、柑

收稿 2004-06-10 修定 2004-10-08

资助 国家自然科学基金项目(30270947)。

*E-mail: jlzhang@lzu.edu.cn, Tel: 0931-3222722

桔等嫁接植株愈伤组织的形成, 提高成活率; 嫁接前在切口处加1~2滴激动素或玉米素可明显提高嫁接成活率^[10~12]。将嫁接株插入含抗氧化剂二乙基硫代甲酸钠(DIECA)的培养基中, 使其接口部位与培养基接触, 可提高许多果树的微嫁接成活率^[1, 13]。

1.1.3 砧木与接穗上的叶片 Palma等^[14, 15]以阿拉伯胶树(*Acacia senegal*)作实验的结果表明, 砧木上的叶子有助于微嫁接植株的生长, 而接穗上的叶子对微嫁接的成活必不可少。宋瑞琳等^[12]柑桔茎尖嫁接的研究表明, 砧木带子叶嫁接成活率也高于不带子叶的。

1.1.4 用作砧木或接穗的试管苗的培养时间 Navarro等^[9]发现, 柑桔的苗龄对微嫁接的成活起非常关键的作用, 二周龄砧木的嫁接成活率最高, 较大与较小苗龄的试管苗嫁接成活率均较低。Palma等^[14, 15]在阿拉伯胶树上的研究发现, 用作接穗的试管苗在培养基上的培养时间不能少于7周, 否则在微嫁接1周后便会死亡。宋瑞琳等^[12]的研究表明, 柑桔砧木苗龄以15 d左右最为适宜, 微嫁接成活率可达45%左右, 均优于砧木苗龄12和20 d的。李耿光等^[16]的工作也证明了这一点。砧木苗龄较老时, 用作接穗的茎尖易变干、变褐以致死亡; 砧木苗龄较小时, 用作接穗的微茎尖易被砧木产生的愈伤组织埋没。所以在选取用作砧木或接穗的试管苗时, 一定要注意其培养时间, 选取处于最佳状态的试管苗作砧木或接穗。

1.1.5 不同放置方式 赵改荣和余旦华^[17]的葡萄微嫁接结果表明, 在1/2MS培养基中直立培养的微嫁接苗成活率比平直培养的高出38%。平直培养的微嫁接苗中大多数是砧木和接穗同时生根, 接口处砧木张开。有的嫁接苗也形成愈伤组织, 但愈伤组织越长越多, 并各自生根, 结合不紧密, 成活率降低。这可能是形成的愈伤组织直接和培养基接触造成的。

1.1.6 其它因素 赵改荣和余旦华^[17]的研究表明, 用带根苗作砧木的微嫁接苗成活后开始生长早、叶片大、生长势强, 培养30 d时其苗高比用腋芽未萌发茎段作砧木的嫁接苗平均高出2 cm。这可能是砧木带根嫁接后不需生根, 直接吸收营养所

致。经过绑缚的嫁接苗整个切面愈合良好; 而未经绑缚的嫁接苗只在接穗下剖面的顶端与砧木相接处形成2 cm的愈合组织, 造成愈合不良; 接穗的腋芽是否萌发并不影响微嫁接的成活率, 但对嫁接苗的生长则影响很大。用腋芽刚萌发茎段作接穗的嫁接苗培养15 d后, 嫁接活的苗已全部开始生长。Mnoney和Mantell^[18]在腰果微嫁接中侧接成功率大于顶接, 在砧木下胚轴处嫁接的成功率高于上胚轴处。

1.2 微嫁接的细胞学 杨世杰^[19]用光学显微镜和电子显微镜系统观察2种凤仙花种间嫁接组合(*Impatiens walleriana*/*Impatiens olivieri*)形成过程的初步结果表明, 嫁接初期, 隔离层两层细胞发生一系列变化: 高尔基体、内质网和线粒体等细胞器大量增加, 细胞核和核仁体积增加, 细胞质染色强度减弱, 淀粉积累以及大量的小泡、多泡体、壁旁体的出现。亲和性组合接穗与砧木细胞间有胞间连丝的次生形成。嫁接过程细胞学变化与生理功能相关。许多小泡、壁旁体、多泡体的出现与细胞内外物质运输、隔离层及细胞壁物质的消长有关, 高尔基体数量的增加与细胞物质的沉积有关, 细胞核和核仁体积的增加及内质网数量增多与嫁接后蛋白质合成速度提高有关。王幼群等^[20]的实验表明, 异种嫁接西葫芦(*Cucurbita pepo*)/南瓜(*Cucurbita moschata*)和南瓜自体嫁接后6~8 d, 在接穗、砧木的薄壁细胞和嫁接面处愈伤组织细胞中分化出管状分子和筛分子, 连接接穗和砧木的木质部和韧皮部桥在嫁接后8 d形成, 以后其数目随着发育天数的增加而增加。

1.3 微嫁接的生理学 嫁接生理学研究主要限于激素、毒素和营养物质在砧木与接穗间交流3个方面^[21~29]。在嫁接理论研究早期, 人们就注意到植物激素特别是生长素的作用, 嫁接的极性现象就可能与生长素的极性运输有关^[23]。近10年来, 对嫁接过程中植物激素作用的研究不断深入。卢善发等^[26~28]的研究表明, 嫁接初期, 接穗和砧木间失去共质体联络, 随着嫁接面产生隔离层, 生长素的极性运输受阻, 在维管束切割面附近积累并释放到周围组织, 引起嫁接面生长素分布发生变化。细胞分裂素主要影响结合部愈伤组织中维管

束桥的分化和形成层的再生, 嫁接接合部木质部汁液中细胞分裂素的浓度随砧木活力的增加而增加^[25]。接穗和砧木结合部之间的物质交流, 早期主要限于砧木和接穗间生物碱、开花刺激物传递和病毒转移的研究^[21], 近年来主要集中于结合部同化产物的运输和矮化中间砧的作用机制等的探讨。已有实验表明, 同化产物可以通过质外体, 也可以通过共质体越过嫁接面^[2, 8]。共质体路线可以是活细胞间的胞间连丝(或筛管)。科内组合通过筛管的可能性大些, 而科间组合主要通过胞间连丝, 这可能是由于科间组合结合部形成的韧皮部多数是不能执行运输机能的。另外, 卢善发和杨振杰^[29]的研究表明, 砧木和接穗之间在共质体连通前后均存在电波传递。

1.4 微嫁接的生物化学 微嫁接过程中的生物化学研究主要限于酶学和蛋白质化学。酶学研究主要包括: 过氧化物酶、细胞色素氧化酶、多酚氧化酶、酸性磷酸酯酶、酸性转化酶和酸性磷酸酶等的活性变化规律检测。已有实验表明, 在亲和与不亲和组合中, 一些酶的活性高峰出现时间有先后不同, 亲和性组合早于非亲和性组合; 酸性转化酶在结合部的活性增高与结合部的单糖含量升高有关; 过氧化物酶活性的变化与木质素沉积有关, 说明细胞色素氧化酶与嫁接面细胞的呼吸供能有关, 而多酚氧化酶与伤呼吸及木质素的合成有关^[2, 15, 24, 28]。有关嫁接过程中蛋白质化学的研究是从1978年开始的。Yeoman^[21]用³H-Met和³⁵S-Met孵育培养嫁接后3 d的番茄自体嫁接茎段时, 发现有新蛋白质出现。Schmid和Feucht^[30]在欧洲甜樱桃(*Prunus avium*)/欧洲酸樱桃(*Prunus cerasus*)组合的韧皮部中发现蛋白质稍有变化。杨世杰和卢善发^[6, 7]以番茄自体嫁接(auto graft)和黄瓜同种异体嫁接(homograft)为材料, 进一步证实嫁接过程中的确有特异蛋白质合成。这说明嫁接是一个与愈伤组织反应不同的更为复杂的生理过程, 是探讨嫁接亲和性机制的一条新途径。

2 微嫁接技术在农业生产中的应用

2.1 脱除果树病毒 果树单纯以茎尖热处理虽然可以脱除大部分病毒和类病毒, 但有些病毒却难以用热处理脱除, 如卷叶病毒、栓皮病毒以及部分

抗热病毒。病毒在茎尖中有呈梯度分布的特性, 即在受浸染的植株中, 顶端分生组织一般是无毒的, 或者是只带有浓度很低的病毒; 而在较老的组织中, 病毒数量随着与茎尖距离的加大而增加^[31, 32]。70年代初, Murashige等^[3]最先在柑桔上应用茎尖嫁接技术脱毒, 以后 Navarro等^[9, 31]和 Roistacher等^[33~35]相继改进和逐步完善了柑桔的茎尖嫁接技术, 采用茎尖嫁接直接脱毒或先经热处理后再用茎尖嫁接法成功地脱除了柑桔的衰退病毒(citrus triteza virus, CTV)、黄龙病毒(citrus yellow-shoot, CYV)、花叶病毒(citrus mosaic virus, CMV)、裂皮病毒(citrus exocortis viroids, CEVd)、鳞皮病毒(citrus psorosis virus, CPV)、环斑病毒(citrus ring spot virus, CRSV)和碎叶病毒(citrus tatter leaf virus, CTLV)等多种病毒, 引起世界各国同行们的关注。以后茎尖嫁接技术开始应用于脱除苹果、桃、杏、樱桃、草莓的褪绿叶斑病毒(chlorotic leaf spot virus, CLSV)和环斑病毒(ring spot virus, RSV), 桃、杏、巴旦杏、李的矮化病毒(dwarf virus, DV), 苹果、梨的苹果茎沟病毒(apple stem grooving virus, ASGV), 葡萄的扇叶病毒(grapevine fanleaf virus, GFLV)、栓皮病毒(grapevine vitivirus B, GVB)、卷叶病毒(grapevine leafroll virus, GLRV)和环斑花叶病毒(grapevine ringspot mosaic virus, GRMV)^[1, 4, 32, 36~38]。宋瑞琳等^[12]采用茎尖嫁接和热处理与茎尖嫁接相结合的技术对我国柑桔的主要病毒类病害(黄龙病、衰退病、裂皮病、碎叶病)进行了脱除病原研究。他们的结果表明: 黄龙病、衰退病、裂皮病平均脱除率分别为100%、80.6%和54.1%, 单用茎尖嫁接对脱除碎叶病无效, 但用热处理与茎尖嫁接相结合的方法进行脱除则可以收到理想的效果。

2.2 快速繁育无病毒苗木, 繁殖保存珍贵的育种材料和种质资源 果树组培时, 一些难以生根的树种和品种, 如格里菲思(Griffith)苹果, 通过茎尖培养可以获得无毒新梢, 但新梢不能生根, 只有采用容易生根的砧木组培后, 再用茎尖嫁接即可获得成功。为了能大量获得苗木, 茎尖嫁接用的砧木一般多用实生砧; 也可以从实生砧木上选取茎尖, 经组培生根后再进行茎尖嫁接。通过茎尖培

养获得的幼龄茎段含有不利于产生根原体的酚类物质, 而以幼龄砧木实生苗的茎段进行组培后用作茎尖嫁接的砧木, 不仅可以解决无毒苗木生根难的问题, 而且还可以充分利用砧木实生苗, 加速砧木繁育的数量, 从而加快无毒苗木的大量繁育^[1, 4, 11, 18, 37]。

用微嫁接法可以直接繁殖花药培养取得的单倍体植株或通过胚挽救取得的植株, 由于这些植株十分难得, 且生长又十分衰弱, 土培容易死亡, 如果损失一株, 就是损失了一个可贵的育种材料。所以可采用切割它的试管枝作接穗, 进行微嫁接, 这并不损害它的母株, 因此, 就可以使所有的试管单株形成单株系, 加上微嫁接苗土培的成活率高, 所以可保证通过花药培养或胚挽救取得的每一个试管单株均有机会土培成露地苗和取得的不同基因型的育种材料不致丢失, 从而大大提高育种效率^[39~42]。伊华林^[42]以试管嫁接柑桔三倍体组培苗的试验结果表明, 试管嫁接方法获得的完整植株率可达100%, 而弱苗直接诱导生根的成苗率较低, 仅为22.5%。陈如珠^[40]将甜橙胚乳三倍体试管苗茎段和顶芽嫁接于试管中的砧木上后, 其成苗率达90%以上。嫁接苗移植于无菌土中后的成活率高达95%以上。另外, 对于难以生根的不定芽, 通过茎尖嫁接方法可以获得带根的植株^[40, 41], 这为植物育种工作者尽早获得新品种幼苗提供了一种新的方法。

2.3 快速检测植物病毒 植物病毒的快速检测可以加快果树无病毒苗木的繁育过程, 缩短果树无病毒苗木的繁育周期^[32]。长期以来, 果树病毒主要靠木本指示植物检测, 但由于这种方法费时费工, 妨碍了无病毒苗木的生产^[36]。Tanne等^[32]根据田间木本指示植物检测的原理, 以感葡萄栓皮病毒的葡萄试管苗为砧木, 葡萄栓皮病毒的指示植物作接穗, 用试管内微嫁接的方法成功地检测了葡萄栓皮病毒, 时间仅需8~12周, 而常规的母本指示植物检测则需要2年的时间。马云霞^[38]以试管内微嫁接快速检测方法对已知带葡萄扇叶病毒的标准毒株进行了微嫁接快速检测。在培养室条件下, 微嫁接株经过2~3个月的培养后, 有80%以上的微嫁接株呈现典型的扇叶症状。吴雅

琴和章德明^[43]用离体微嫁接法检测苹果茎痘病毒也取得成功, 检出率达81.3%以上。总之, 与传统的田间木本指示植物检测相比, 此法大大缩短了检测时间。由此看来, 试管内微嫁接检测法可用于快速检测植物病毒, 这种方法不受时间限制, 可以常年在实验室中进行。

2.4 果树检疫 采用茎尖嫁接技术可将需从国外引进的果树接穗、苗木或茎尖先在组培条件下嫁接到有关病毒的指示植物上, 检验指示植物有无发病症状, 以确定果树是否携带病毒, 此法可缩短果树常规检疫的时间和简化检疫的手续^[1]。西班牙采用茎尖嫁接技术曾顺利地检验了从世界各国引入的40余种果树及其他植物种质资源, 这样可以收到在丰富本国果树资源的同时又确保本国果树及其他植物不被感染的效果^[37]。

2.5 嫁接亲和力的鉴定和亲和力的早期预测 所谓嫁接亲和力(graft compatibility), 是指砧木和接穗通过嫁接能够愈合生长的能力^[6, 7, 44]。嫁接亲和力的研究有3个主要目的: (1) 尽早识别不亲和; (2) 克服嫁接不亲和; (3) 找出不亲和的基本原因。但直到现在, 人们依然不能说已经真正了解了亲和力的实质^[6, 7, 44~47]。采用微嫁接技术进行嫁接亲和性机制的研究具有周期短、占用空间少、见效快、研究结果可靠性强等优点, 已经在嫁接亲和性的鉴定以及亲和力的早期预测中得到广泛应用^[1, 44~48]。此法可对果树的同属内不同种间的嫁接亲和性进行早期鉴定; 促进果树生长, 使果树提早开花、结果^[39, 49]。一般情况下, 果树嫁接的亲和性还受病毒的干扰, 砧穗之间原本有亲和力的, 但往往由于接穗携带病毒, 反而造成嫁接植株不亲和。茎尖嫁接技术不仅可以早期诊断果树砧穗间的不亲和性, 还可以在早期就能发现接穗是否携带病毒^[44, 46, 47]。在组培条件下, 一般经10~15 d就可以发现接穗携带病毒与否, 这样就可以及时排除病毒对嫁接亲和性的干扰^[37, 44, 50]。

3 结束语

微嫁接技术的开发和应用, 不仅为有关嫁接的研究提供了良好的实验系统, 同时也为亲和力的早期预测提供了可能的技术; 另一方面, 微嫁接的作用已经突破传统的繁殖意义, 它在种质资

源保存、突变的固定、遗传稳定性检测和杂交后代的提早鉴定中也有很广泛的应用价值。同时,微嫁接技术在作物改良中也可起作用。采用微嫁接技术可以增加许多园林花卉植物的观赏价值,使品种脱除病毒而复壮。而这些通过育种手段是不易在短期内达到目的的,但微嫁接技术则是一条十分行之有效的解决这些问题的途径。目前,单子叶植物微嫁接还很难说有什么经济上特别有用的价值,但在育种和植物学研究工作中肯定是有用处的。在极少数的几种单子叶植物的果树中,特别是棕榈科果树,如果能应用嫁接繁殖技术,将非常有价值,这在生产应用中也是有意义的。总之,微嫁接是一种非常实用而比较新的技术,它不受时间和空间的限制。相信,随着现代科学技术,尤其是现代生物技术的快速发展,在不远的将来,微嫁接技术将越来越广泛地应用于植物,特别是果树的研究与生产中,估计会取得令人满意的结果。

参考文献

- Jonard R, Hugard J, Macheix JJ et al. *In vitro* micrografting and its applications to fruit science. *Sci Hort*, 1983, 20: 147~159
- Estrada-Luna AA, Lóez-Peralta C, Cádenas-Soriano E. *In vitro* micrografting and the histology of graft union formation of selected species of prickly pear cactus (*Opuntia* spp.). *Sci Hort*, 2002, 92(3): 317~327
- Murashige J, Bitters WP, Rangan JS et al. A technique of shoot apex grafting and its utilization towards recovering virus-free citrus clone. *J Hort*, 1972, 7: 118~119
- 郭春慧, 马凤桐. 经济林木试管茎尖嫁接的研究现状及展望. *西北农业大学学报*, 1997, 25(3): 36~40
- 卢善发. 器官、组织、细胞水平的嫁接. *植物杂志*, 1994, (6): 23~23
- 杨振杰, 卢善发. 植物嫁接基础理论研究(上). *生物学通报*, 1995, 30(9): 10~12
- 杨振杰, 卢善发. 植物嫁接基础理论研究(下). *生物学通报*, 1995, 30(10): 4~6
- Ollat N, Poizat C, Lima Da Silva A et al. Quantitative root-stock-scion relationships in grapevine: investigations by the analysis of reciprocal micrograftings. *Book of abstracts of 6th international symposium on grapevine physiology and biotechnology*, June 11~15, 2000. 70~71
- Navarro L, Roistacher CN, Murashige T. Improvement of shoot tip grafting *in vitro* for virus-free citrus. *J Am Soc Hort*, 1975, 100: 471~479
- Jonard R, Soedharma I, Villemur P. Analysis of the influence of various factors on the improvement of successful micrografts in citrus. *Science de la vie*, 1987, 305(2): 45~49
- Olbeidy AA, Smith M AL. A versatile new tactic for fruit tree micrografting. *Hortic Technol*, 1991, 57(1): 91~95
- 宋瑞琳, 吴如健, 柯冲. 茎尖嫁接脱除柑桔主要病原的研究. *植物病理学报*, 1999, 29(3): 275~279
- 姜玲, 万蜀洲, 王映红等. 柑桔茎尖嫁接操作方法的改进及研究. *华中农业大学学报*, 1995, 14(4): 381~385
- Palma B, Vogt GF, Neville P. A combined *in vitro/in vivo* method for improved grafting of *Acacia senegal* (L.) Willd. *J Hort*, 1996, 71(3): 379~381
- Palma B, Vogt GF, Neville P. La microgreffe, une solution pour la multiplication *in vitro* de l'*Acacia senegal* (L) Willd. *Annales des Sciences Forestières*, 1997, 54(2): 203~210
- 李耿光, 胡兰娟, 黄群声等. 柑桔茎尖培养的初步研究. *植物生理学报*, 1978, 4(2): 189~196
- 赵改荣, 余旦华. 葡萄试管苗嫁接方法研究. *果树科学*, 1998, 15(3): 277~279
- Mnenez EE, Mantell SH. *In vitro* micrografting of cashew. *Plant Cell Tiss Org Cult*, 2001, 66: 49~58
- 杨世杰. 嫁接过程的组织学和细胞学观察. *北京农业大学学报*, 1987, 13(3): 359~365
- 王幼群, 杜中, 韩静. 南瓜属植物离体茎段嫁接维管组织的发育过程. *西北植物学报*, 2000, 20(1): 54~58
- Yeoman MM. Cellular interactions during graft formation in plants, a recognition phenomenon. *Symp Soc Exp Biol*, 1978, 132~139
- Parkinson M, Yeoman MM. Graft formation in cultured, explanted internodes. *New Phytol*, 1982, 91: 711~719
- Jefree CE, Yeoman MM et al. Development of intercellular connections between opposing cells in a graft union. *New Phytol*, 1983, 93: 491~509
- Yeoman MM. In: Linkens HF, Jackson JF (eds). *Encycloped of Plant Physiology*. Berlin, Heidelberg, New York, Tokyo: Springer, 1984. 453~472
- Kamboj JS, Blake PS, Quinlan JD et al. Identification and quantitation by GC-MS of zeatin and zeatin riboside in xylem sap from rootstock and scion of grafted apple trees. *Plant Growth Regul*, 1999, 28: 199~205
- 卢善发, 宋艳茹. 激素水平与试管苗离体茎段嫁接体维管束桥分化的关系. *科学通报*, 1999, 44: 1422~1425
- 卢善发. 离体茎段嫁接体内IAA的免疫组织化学定位. *科学通报*, 2000, 45: 856~860
- 卢善发. 番茄/番茄嫁接体发育过程中的过氧化物同工酶. *园艺学报*, 2000, 27(5): 340~344

- 29 卢善发, 杨振杰. 砧木与接穗间的电波传递. 植物生理学报, 1995, 21(4): 386~392
- 30 Schmid PPS, Feucht W. Compatibility in *Prunus avium*/*Prunus cerasus* graftings during the initial phase. III. Isoelectrofocusing of proteins, peroxidases and acid phosphatases during union formation. J Horticult Sci, 1985, 60(3): 311~318
- 31 Navarro L. Application of shoot tip grafting *in vitro* for virus-free citrus. Acta Horticult, 1988, 227: 43~49
- 32 Tanne E, Shlamovitz N, Spiegel-Roy P. Rapidly diagnosing grapevine corky-bark by *in vitro* micrografting. Horticult Sci, 1993, 28: 667~668
- 33 Roistacher CN. Detection of citrus tristeza virus by graft transmission: a review. In: Calavan EC(ed). Proceedings of the 7th Conference of the International Organization of Citrus Virologists. Riverside: University of California, 1976. 175~184
- 34 Roistacher CN. Elimination of additional citrus virus by shoot tip grafting *in vitro*. Plant Dis Repr, 1977, 61: 594~596
- 35 Roistacher CN, Nauer EM, Kishaba A et al. Transmission of citrus tristeza virus by a gossypii: reflecting change in virus transmissibility in California. In: Calavan EC, Garnsey SM, Timmer LW(eds). Proceedings of the 8th Conference of the International Organization of Citrus Virologists. Riverside: University of California, 1980. 76~82
- 36 Walker MA, Wolpert JA. Field screening of grape rootstock selections for resistance to fan leaf degeneration. Plant Disease, 1994, 78(2): 134~136
- 37 王中英. 果树的微型嫁接. 世界农业, 1998, (7): 29~32
- 38 马云霞. 葡萄扇叶病毒病试管内微嫁接快速检测研究. 河北果树, 1999, (3): 10~13
- 39 Huang LC, Chen WL. *In vitro* graft-enhanced nuclear plant development in the monoembryonic *Citrus grandis* L. J Horticult Sci, 1988, 63(4): 705~710
- 40 陈如珠. 柑桔三倍体苗试管嫁接及微繁殖研究. 中国柑桔, 1992, 21(4): 10~12
- 41 Luo JH, Gould JH. *In vitro* shoot-tip grafting improves recovery of cotton plants from culture. Plant Cell Tiss Org Cult, 1999, 57: 211~213
- 42 伊华林. 试管嫁接提高柑桔三倍体组培苗成苗率试验. 中国果树, 2000, (4): 28~29
- 43 吴雅琴, 章德明. 用离体微嫁接法快速检测苹果潜隐病毒. 落叶果树, 2001, (2): 4~6
- 44 Moore R. A model for graft compatibility-incompatibility in higher plants. Am J Bot, 1984, 71(5): 752~758
- 45 Breen PJ. Effect of peach/plum graft incompatibility on seasonal carbohydrate changes. J Am Soc Horticult Sci, 1975, 100(3): 253~259
- 46 Moore R, Walker DB. Studies on vegetative compatibility-incompatibility in higher plants. I. A structural study of compatible autograft in *Sedum telephoides* (Crassulaceae). Am J Bot, 1981, 68(6): 820~830
- 47 Moore R. Graft incompatibility between pear and quince: The influence of metabolites of *Cydonia oblonga* on suspension cultures of *Pyrus communis*. Am J Bot, 1986, 73(1): 1~4
- 48 Breen PJ, Muraoka T. Seasonal nutrient levels and peach/palm graft incompatibility. Am Soc Horticult Sci, 1975: 100(4): 339~342
- 49 Ke S, Cai Q, Skirvin RM. Micrografting speeds growth and fruiting of protoplast-derived clones of kiwifruit (*Actinidia deliciosa*). J Horticult Sci, 1993, 68(6): 837~840
- 50 程玉琴, 韩振海, 许雪峰等. 试管微嫁接早期鉴定小金海棠与苹果品种的亲合性. 农业生物技术学报, 2003, 11(6): 472~476