



试验研究

黄瓜 (*Cucumis sativus* L.) 花药培养

Nguyen Thi Thanh Van, 陈劲枫

(作物遗传与种质创新国家重点实验室·南京农业大学园艺学院 南京 210095)

摘要: 以卡罗尔、HH1-8-57 与津绿农家乐 3 个不同基因型黄瓜品种为试材,在 Kumar 等、Song 等和詹艳等试验研究基础上,设计试验分别探讨低温预处理时间、培养基成分(胚性愈伤组织诱导培养基、胚状体诱导培养基)和基因型等因素对黄瓜花药培养的影响。结果表明:在 4℃ 低温预处理 2 d 时,胚性愈伤组织诱导率显著高于其他处理;在 MS+1.0 mg·L⁻¹ 2,4-D + 0.5 mg·L⁻¹ 6-BA + 3% 蔗糖 + 0.8% 琼脂培养基上胚性愈伤组织诱导率最高,达到 81.3%;在 MS + 0.1 mg·L⁻¹ NAA + 3.0 mg·L⁻¹ 6-BA + 3% 蔗糖 + 0.8% 琼脂培养基上胚状体诱导率最高,为 40.0%;基因型间胚性愈伤组织诱导率及胚状体诱导率差异显著,津绿农家乐品种胚性愈伤组织诱导率最高,达到 81.1%,HH1-8-57 胚状体诱导率最高,为 40.0%。本研究从 2 份试材中成功地诱导出胚状体并获得了黄瓜单倍体再生植株。

关键词: 黄瓜;花药培养;胚性愈伤组织;胚状体;再生植株

Cucumber (*Cucumis sativus* L.) Anther Culture

Nguyen Thi Thanh Van, CHEN Jin-feng

(State Key Laboratory of Crop Genetics and Germplasm Enhancement, College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing, Jiangsu, 210095, China)

Abstract: Based on the protocols by Kumar et al, Song et al and Zhan, the anthers of three cucumbers genotypes “Kaluoer”, “HH1-8-57” and “Jinlu Nongjiale” were used as test materials to investigate the factors of anther pretreatment (temperature and duration), medium composition (embryonic callus induction medium and embryo induction medium) and cucumber genotype on cucumber anther culture. The results showed that pretreatment of anthers at 4℃ for 2 d significantly increased the embryonic callus induction ratio; the highest rate (81.3%) of embryonic callus induction was obtained on Zhan’s medium (MS + 1.0 mg·L⁻¹ 2,4-D + 0.5 mg·L⁻¹ 6-BA + 3% sucrose + 0.8% agar); the highest rate (40.0%) of embryoids induction was obtained on Song’s embryo induction medium (MS + 0.1 mg·L⁻¹ NAA + 3.0 mg·L⁻¹ 6-BA + 3% sucrose + 0.8% agar). The embryonic callus and embryoid induction ratios were significantly different among tested varieties. Variety “Jinlu Nongjiale” had the highest embryonic callus induction rate (81.1%) and “HH1-8-57” had the highest embryoid induction rate (40.0%). Embryogenesis and haploid plants were obtained from two of three tested genotypes.

Key words: Cucumber; Anther culture; Embryonic callus; Embryoid; Plant regeneration

黄瓜 (*Cucumis sativus* L.) 是葫芦科重要的经济作物。采用常规育种手段选育新品种不仅耗时耗力、效率低,且难以使新品种在抗性和品质等方面有显著提高。利用花药培养技术可快速获得纯系和突变体,将大大缩短育种时间,同时也为分子理论研究提供基础。

有关黄瓜花药培养研究目前在国内外报道较少。Lazarte 和 Sasser^[1]首次从黄瓜花药培养中获得愈伤组织,但没有说明愈伤组织的来源是配子体还是孢子体。Kumar 等^[2-3]以及詹艳^[4]对几个黄瓜品种进行花药培养,诱导胚胎发生并获得了单倍体再生植株。Song 等^[5]通过黄瓜花药培养获得了双单倍体。

本文是在 Kumar 等^[2]、詹艳^[4]和 Song 等^[5]试验研究的基础上,从胚性愈伤组织诱导培养基、4℃ 低温预处理时间、胚状体诱导培养基等方面设计试验,研究其对黄瓜花药培养的影响,确定最适宜的花药培养条件,为建立黄瓜花药培养及植株再生体系提供理论和技术基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以卡罗尔、HH1-8-57 与津绿农家乐作为供体材料,将其种植于南京农业大学园艺试验站塑料大棚中,常规管理。

收稿日期: 2011-11-26

基金项目: “863”计划专项(2010AA10A108, 2012AA100202); 江苏省科技支撑计划(BE2009310); 江苏省农业科技自主创新基金(CX(11)1002)

作者简介: Nguyen Thi Thanh Van, 女,越南留学生,在读硕士研究生,研究方向为植物组织培养。电子信箱: nguyenthanhvan132@yahoo.com.cn

通讯作者: 陈劲枫,男,教授,博导,研究方向为蔬菜遗传育种与生物技术。电子信箱: jfchen@njau.edu.cn

1.2 花药培养方法

于盛花期,在晴天 9:00—10:00 选择健壮植株,取小孢子发育处于单核靠边期的花蕾。将花蕾放置于铺有湿纱布的培养皿中,然后置于 4℃ 下预处理 2 d。接种前先将花蕾用流水冲洗 30 s,然后用 70% 酒精消毒 30 s,再用 0.1% 升汞消毒 8 min,最后用无菌水冲洗 3 次,每次 30~60 s。花蕾消毒之后,于超净工作台上,用镊子和解剖针小心剥取花蕾中的 5 个花药,去除花丝,接种到盛装 30 mL 固体胚性愈伤组织诱导培养基的培养皿(90 mm×15 mm)内,然后置于 25℃ 下暗培养 2 周产生胚性愈伤组织。再将其转接至胚状体诱导培养基上,在 25℃ 恒温条件下培养 20 d 左右,每天进行 16 h 光照培养,以获得胚状体。之后胚状体在胚状体萌发培养基(MS + 0.5 mg·L⁻¹ 6-BA + 6.0% 蔗糖 + 1.2% 琼脂)上培养 20 d 左右,使其萌芽并形成苗。将无根苗以及根较弱的再生植株转接至生根培养基(1/2 MS+0.2 mg·L⁻¹ IBA+ 3% 蔗糖+ 0.8% 琼脂)上进行光照培养,15 d 左右即可获得大量的根,形成完整的再生植株。

1.3 各因素对花药培养的影响试验

1.3.1 不同胚性愈伤组织诱导培养基对胚性愈伤组织诱导的影响 每个参试材料取 70 个花蕾,4℃ 低温预处理 1 d。然后接种到不同胚性愈伤组织诱导培养基(表 1)上。接种密度为每个培养皿 25 个花药,每种培养基接种 3 个培养皿,作为 3 次重复。暗培养 2 周以后,统计胚性愈伤组织诱导率,要求分化出的胚性愈伤组织直径在 0.2 cm 以上。公式如下:

$$\text{胚性愈伤组织诱导率} \% = (\text{产生胚性愈伤组织花药数量} / \text{接种花药数量}) \times 100$$

表 1 3 种胚性愈伤组织诱导培养基成分

培养基编号	胚性愈伤组织诱导培养基						pH 值
	基本培养基	2,4-D / (mg·L ⁻¹)	6-BA / (g·L ⁻¹)	KT / (mg·L ⁻¹)	蔗糖 / %	琼脂 / %	
1	B5	0.442	0.225		8.5	0.8	5.8
2	MS	0.500	1.000	1.0	3.0	0.8	5.8
3	MS	1.000	0.500		3.0	0.8	5.8

[注] (1)Kumar 的培养基;(2)Song 的培养基;(3)詹艳的培养基。表 2 同。

1.3.2 4℃ 低温预处理不同时间对黄瓜花药胚性愈伤组织诱导率的影响 每个参试材料取 80 个花蕾,随机分作 4 组,分别于 4℃ 下预处理 0 d、1 d、2 d 和 4 d。花蕾预处理完毕,基于试验 1 的结果,将其接种到 3 号胚性愈伤组织诱导培养基上。接种密度为每个培养皿 25 个花药,每个处理接种 3 个培养皿,作为 3 次重复。在暗室培养 2 周后,统计胚性愈伤组织诱导率。

1.3.3 不同胚状体诱导培养基对胚状体诱导的影响

将之前试验获得的胚性愈伤组织,接种到不同的胚状体诱导培养基(表 2)上。每个培养皿接种 15 块胚性愈伤组织,每种培养基接种 3 个培养皿,作为 3 次重复。光照培养培养 20 d 后,统计胚状体诱导率。

$$\text{胚状体诱导率} \% = [(\text{产生胚状体的胚性愈伤组织数量} / \text{接种胚性愈伤总数量}) \times 100]$$

表 2 3 种胚状体诱导培养基成分

培养基编号	胚状体诱导培养基						pH 值
	基本培养基	6-BA / (mg·L ⁻¹)	NNA / (mg·L ⁻¹)	KT / (mg·L ⁻¹)	蔗糖 / %	琼脂 / %	
1	B5		0.047	0.054	8.5	0.8	5.8
2	MS	3.0	0.100		3.0	0.8	5.8
3	MS	0.5			3.0	0.8	5.8

1.3.4 不同基因型对黄瓜花药培养的影响 每个材料各取 18 个花蕾,基于之前试验的结果进行培养成苗和形成完整的再生植株。统计每个基因型的胚性愈伤组织诱导率、胚状体诱导率。

以上试验所需培养基均利用 1 mol·L⁻¹ HCl 和 1 mol·L⁻¹ NaOH 调节 pH 值为 5.8,培养基采用高压蒸汽灭菌,温度为(121±1)℃,灭菌时间 20 min。

1.4 再生植株倍性鉴定

将再生植株在生根培养基上培养 15 d 后,从培养瓶中随机选取 20 株,取根尖,参照李懋学等^[6]的方法,稍作改动进行染色体计数;将根尖在室温下先用 0.075 mol·L⁻¹ 的饱和对二氯苯处理 3 h,然后用 0.075 mol·L⁻¹ 的 KCl 溶液处理 30 min,最后在醋酸酒精(醋酸:酒精=1:3)溶液里固定 24 h。用去离子水将处理好的根尖洗净,而后在 60℃ 下于 1 mol·L⁻¹ HCl 中解离 12 min,卡宝染色 1 h,最后用 45% 乙酸压片在 OLYMPUS(BX51)显微镜下镜检。

1.5 数据统计分析

采用 SAS 软件统计分析相关数据,Duncan's 多重比较法进行显著性测验分析。

2 结果与分析

2.1 黄瓜花药培养胚胎发生情况

黄瓜花药在胚性愈伤组织诱导培养基(MS + 1.0 mg·L⁻¹ 2,4-D + 0.5 mg·L⁻¹ 6-BA + 3.0% 蔗糖 + 0.8% 琼脂)上生长 1 周后,有些花药对诱导没有反应,很快褐化死亡,但有些花药体积缓慢增大,并且颜色由刚接种时的黄色和黄绿色逐渐加深为深黄色和绿色(图 1-A)。之后愈伤组织不断增殖,培养 2 周后,可见由彼此不相连且表面有很多突起的颗粒状结构组成的淡黄绿色胚性愈伤组织(图 1-B)。部

分胚性愈伤组织已带有球形胚(图 1-C)。胚状体或带有胚状体的胚性愈伤组织不能在胚性愈伤组织诱导培养基上进一步分化。因此将胚性愈伤组织(包括带有胚状体的胚性愈伤组织)转接至胚状体诱导培养基($MS + 3.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} 6\text{-BA} + 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NAA} + 3.0\%$ 蔗糖 + 0.8% 琼脂)上,培养 20 d 后可见成熟的子叶

形胚(图 1-D)。之后将子叶形胚转移至胚状体萌发培养基($MS + 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} 6\text{-BA} + 6.0\%$ 蔗糖 + 1.2% 琼脂)上,培养 20 d 后,大部分子叶形胚可形成根、叶、芽俱全的完整植株,部分子叶形胚根发育不良形成无根苗(图 1-E1、E2),经生根培养基培养后生根(图 1-F)。

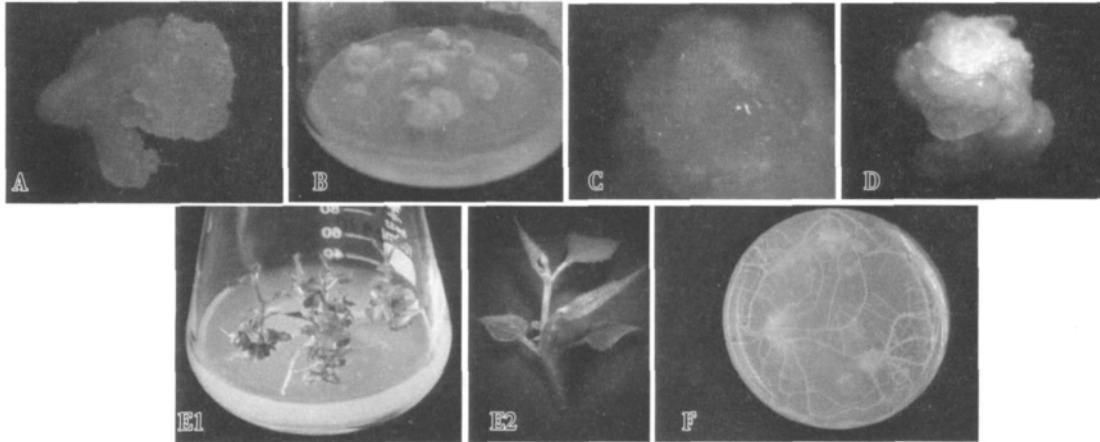


图 1 黄瓜花药培养胚胎发生和植株再生情况

A. 从花药中长出胚性愈伤组织(20x); B. 胚性愈伤组织(20x); C. 球形胚; D. 子叶形胚; E(1-2). 再生植株; F. 在生根培养基上生根

2.2 不同胚性愈伤组织诱导培养基对胚性愈伤组织诱导的影响

在植物花药培养中诱导花粉细胞由配子体途径转化为孢子体途径,形成体细胞胚胎的过程中,外源生长素和细胞分裂素是必不可少的诱导条件。如表 3 所示,3 号胚性愈伤组织诱导培养基诱导胚性愈伤组织效果最佳,卡罗尔、HH1-8-57 和津绿农家乐的平均诱导率分别达到 56.0%、73.7% 和 77.3%。1 号培养基诱导胚性愈伤组织效果最低,卡罗尔、HH1-8-57 和津绿农家乐的平均诱导率分别只有 33.3%、40.0% 和 42.7%。这表明在 MS 培养基中添加适量的 2,4-D 和 6-BA 可以显著提高胚性愈伤组织诱导率。

表 3 3 个黄瓜品种在 3 种胚性愈伤组织诱导培养基上的诱导率比较

培养基编号	胚性愈伤组织诱导率/%		
	卡罗尔	HH1-8-57	津绿农家乐
1	33.3 b	40.0 c	42.7 c
2	40.0 b	57.3 b	56.0 b
3	56.0 a	73.3 a	77.3 a

[注] 1. 3 号为詹艳的培养基; $MS + 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} 2,4\text{-D} + 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} 6\text{-BA} + 3.0\%$ 蔗糖 + 0.8% 琼脂。2. 同列不同小写英文字母表示同个品种间差异显著($P \leq 0.05$),下同。

2.3 4 °C 低温预处理不同时间对黄瓜花药胚性愈伤组织诱导率的影响

本试验探讨了 4 °C 低温预处理对黄瓜花药培养的影响(表 4)。对供试的 3 份材料而言,在 4 °C 低温预处理 2 d 时,胚状体诱导率显著高于其他处理。这表明对本研究中的 3 份试材而言,4 °C 低温预处理 2 d 时培养效果最好。同时也说明 4 °C 低温处理可作为花蕾的一种保存方式。

表 4 不同低温预处理时间 3 个黄瓜品种胚性愈伤组织诱导率比较

4 °C 低温预处理时间/d	胚性愈伤组织诱导率/%		
	卡罗尔	HH1-8-57	津绿农家乐
0	52.0 b	66.7 b	72.0 b
1	56.0 ab	73.3 ab	77.3 ab
2	61.3 a	78.7 a	81.3 a
3	22.7 c	57.3 c	58.7 c

[注] 该试验使用的胚性愈伤组织诱导培养基是 $MS + 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} 2,4\text{-D} + 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} 6\text{-BA} + 3.0\%$ 蔗糖 + 0.8% 琼脂。

2.4 不同胚状体诱导培养基对胚状体诱导的影响 外源激素对黄瓜花药培养诱导成胚亦具有显著

表 5 3 个黄瓜品种在 3 种培养基上胚状体诱导率比较

培养基编号	胚状体诱导率/%		
	卡罗尔	HH1-8-57	津绿农家乐
1	0.0 a	17.8 b	11.1 c
2	0.0 a	40.0 a	35.5 a
3	0.0 a	33.3 ab	24.5 b

[注] 2 号为 Song 的培养基; $MS + 3.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} 6\text{-BA} + 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NAA} + 3.0\%$ 蔗糖 + 0.8% 琼脂。

影响。结果如表 5 所示,2 号胚状体诱导培养基诱导胚状体效果最佳,HH1-8-57 与津绿农家乐平均诱导率分别达到 40.0%、35.6%。而卡罗尔在所有培养基胚状体诱导率均为 0。1 号胚状体诱导培养基诱导胚状体效果最差,HH1-8-57 与津绿农家乐的平均诱导率分别只有 17.8%、11.1%。这说明在黄瓜花药培养中,NAA 与 6-BA 配合使用的比例有可能是成功诱导胚性愈伤组织分化的关键因素。

2.5 不同基因型对黄瓜花药培养的影响

如表 6 所示,基因型是影响黄瓜花药培养的又一关键因素。不同基因型间胚性愈伤组织诱导率和胚状体诱导率差异显著,津绿农家乐品种胚性愈伤组织诱导率最高,HH1-8-57 胚状体诱导率最高,而卡罗尔则得不到胚状体。

表 6 不同基因型黄瓜花药培养胚性愈伤组织和胚状体诱导率比较

培养基编号	品种	胚性愈伤组织诱导率 /%	胚状体诱导率 /%
1	卡罗尔	61.3 bB	0.0 cB
2	HH1-8-57	78.7 abA	40.0 aA
3	津绿农家乐	81.3 aA	35.6 bA

[注] 同列数字后不同大写英文字母表示差异极显著($P \leq 0.01$)。

2.6 黄瓜再生植株倍性鉴定

黄瓜染色体计数鉴定结果显示,在随机选取的 20 株再生植株中,HH1-8-57 和津绿农家乐分别有 10 株和 3 株是单倍体(图 2-A),其余是二倍体(图 2-B)。

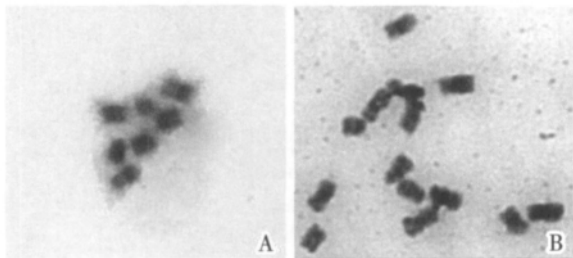


图 2 染色体计数情况
A. 单倍体, $2n=7$; B. 二倍体, $2n=14$

3 讨论

花药培养中胚胎发生途径可分为直接胚胎发生和间接胚胎发生。本研究中 3 份试材均发生了间接胚胎发生,主要经历了胚性愈伤组织诱导、胚状体诱导和胚状体萌发 3 个阶段。其中又以前 2 个阶段更为关键。胚性愈伤组织诱导培养基、胚状体诱导培养基、预处理、基因型对诱导胚性愈伤组织和胚状体均具有显著影响。

笔者研究了低温预处理和基因型对黄瓜花药培养的影响,结果显示 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 低温预处理 2 d,胚性愈伤组织诱导效果最佳。温度预处理能够对花药培养产生影响,有可能是因为温度胁迫打乱了小孢子的早期细胞分裂,从而导致小孢子由正常形成花粉粒途径转变为胚性愈伤组织发生途径形成愈伤组织^[7-8]。

本研究结果显示詹艳的胚性愈伤组织诱导培养基($\text{MS} + 1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ 2,4-D} + 0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ 6-BA} + 3.0\%$ 蔗糖 + 0.8% 琼脂配合使用)诱导效果最佳。Song 的胚状体诱导培养基($\text{MS} + 3.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ 6-BA} + 0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ NAA} + 3.0\%$ 蔗糖 + 0.8% 琼脂)诱导胚状体效果最佳。这些结果表明在黄瓜花药培养中的胚性愈伤组织诱导培养基添加 MS 并与 2,4-D 和 6-BA 配合,能够显著提高胚性愈伤组织诱导率。2,4-D 已被广泛应用于各种作物花药培养的诱导起始阶段,它被认为对诱导小孢子脱分化形成愈伤组织有促进作用^[7-9]。不同作物 2,4-D 的最佳用量不同。NAA 与 6-BA 配合使用的比例有可能是成功诱导胚性愈伤组织分化的关键因素。总的来说,在黄瓜花药培养中,诱导胚性愈伤组织是较易实现的,而诱导胚状体则较难。

多种作物花药培养研究表明,基因型是影响花药培养效果的关键因素,花药顽拗型材料可以通过与花培能力高的亲本杂交,以改善其花培能力^[10-12]。本试验的 3 份材料都可以获得胚性愈伤组织,但是只有 2 份材料能够获得胚状体和再生植株。表明在黄瓜花药培养过程中,诱导胚性愈伤组织成功分化形成胚有可能是很关键的限速步骤。

4 结论

通过花药培养可以获得黄瓜单倍体再生植株。本研究筛选的用以黄瓜花药的培养体系为:首先将处于单核靠边期的花蕾置于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下预处理 2 d,之后以 $\text{MS} + 1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ 2,4-D} + 0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ 6-BA} + 3.0\%$ 蔗糖 + 0.8% 琼脂为胚性愈伤组织诱导培养基;以 $\text{MS} + 3.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ 6-BA} + 0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ NAA} + 3.0\%$ 蔗糖 + 0.8% 琼脂为胚状体诱导培养基;以 $\text{MS} + 0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ 6-BA} + 6.0\%$ 蔗糖 + 1.2% 琼脂为胚状体萌发诱导培养基;以 $1/2\text{ MS} + 0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ IBA} + 3\%$ 蔗糖 + 0.8% 琼脂为生根培养基。

参考文献

- [1] Lazarte J E, Sasser C C. Asexual embryogenesis plantlet development in anther culture of *Cucumis sativus* L.[J]. HortScience, 1982, 17: 88.
- [2] Ashok Kumar H G, Murthy H N, Paek K Y. Embryogenesis and

plant regeneration from anther culture of *Cucumis sativus* L. [J]. *Scientia Horticulturae*, 2003, 98(3): 213-222.

[3] Ashok Kumar H G, Murthy H N. Effect of sugars and amino acids on androgenesis of *Cucumis sativus* L. [J]. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 2004, 78(3): 201-208.

[4] 詹艳. 黄瓜(*Cucumis sativus* L.)花药培养与游离小孢子培养研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2008.

[5] Song H, Lou Q F, Luo X D, et al. Regeneration of doubled haploid plants by androgenesis of cucumber(*Cucumis sativus* L.)[J]. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 2007, 90(3): 245-254.

[6] 李懋学, 杜美霞. 豌豆的核型研究[J]. *遗传*, 1984, 11(3): 195-201.

[7] Ferrie A M R, Palmer C E, Keller W A. Haploid embryogenesis [M]. In: Thorpe TA (Ed), *In vitro* embryogenesis in plants. Kuwer Academic Publishers. Dordrecht, Netherlands 1995: 309-344.

[8] Toshikazu N, Yoshij N, Han D S. Haploid plant regeneration via embryogenesis from anther cultures of *Hepatica nobilis* [J]. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 2004, 79(3): 307-313.

[9] Ball S T, Zhou H P, Konzak C F. Influence of 2,4-D, IAA, and duration of callus induction in anther culture of spring wheat [J]. *Plant Science*, 1993, 90(2): 195-200.

[10] Cai Q, Szarejko I, Polok K, et al. The effect of sugars and growth regulators on embryoid formation and plant regeneration [J]. *Plant Breeding*, 1992, 109(3): 218-226.

[11] Metwally E I, Moustafa S A, Ei-Sawy B I, et al. Haploid plantlets derived by anther culture of *Cucumbita pepo* [J]. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 1998, 52(3): 81-89.

[12] Malik M R, Rangaswamy N S, Shivanna K R. Induction of microspore embryos in a CMS line of *Brassica Juncea* and formation of the androgenic plantlets [J]. *Euphytica*, 2001, 120(2): 195-203.

中国农业科学院郑州果树研究所杂志社书刊(一)

书刊编号/书刊名/单价(元)	书刊编号/书刊名/单价(元)	书刊编号/书刊名/单价(元)
(一) 专著类		
Z1 中国果树实用新技术大全-落叶果树卷/183	J19 果树育苗关键技术百问百答 23	J66 桃无公害高效栽培 11.5
Z2 中国果树实用新技术大全-常绿果树卷/183	J20 保护地热门果树病虫害防治彩色图说 22	J67 桃高效栽培教材 7
Z3 葡萄学/140(暂无)	J21 北方果树整形修剪技术百问百答 17	J68 桃树优质高产栽培 17
Z4 苹果学/170	J22 无公害果树施肥技术 10	J69 怎样提高桃栽培效益 13
Z5 荔枝学/16 5	J23 果园农药使用指南 23	J70 保护地桃树栽培技术图解 10(暂无)
Z6 中国果树志-桃卷/110	J24 果树嫁接新技术 9	J71 桃树病虫害防治(修订版)11
Z7 中国果树志-苹果卷/130	J25 果树施肥手册 24	J72 桃树整形修剪图解(修订版)9
Z8 中国果树志-梅卷/65	J26 果树套袋栽培新技术-苹果、梨、葡萄、桃 5	J73 实用桃树栽培图决 200 例 6
Z9 中国果树志-草莓卷/75	J27 水果套袋栽培新技术 5	J74 油桃优质高效栽培 12
Z10 中国果树志-板栗榛子卷/95	J28 果树整形修剪技术问答 33	J75 油桃栽培实用技术 6
Z11 中国果树志-李卷/100	J29 苹果病虫害防治 16	J76 桃李樱桃果实贮藏加工技术 8.5
Z12 中国果树志-枣卷/55	J30 苹果梨山楂病虫害诊断与防治原色图谱 40	J77 猕猴桃无公害高效栽培 9.5
Z13 中国果树志-核桃卷/75	J31 新编苹果病虫害防治技术 20	J78 怎样提高猕猴桃栽培效益 12
Z14 中国果树志-荔枝卷/65	J32 苹果树合理整形修剪图解(修订版)17	J79 猕猴桃贮藏保鲜与深加工技术 7.5
Z15 中国果树志-龙眼枇杷卷/77	J33 苹果高效栽培教材 6	J80 猕猴桃栽培与贮藏加工新技术 5
Z16 中国果树志-山楂卷/55	J34 苹果全套袋栽培 18	J81 樱桃高产栽培(修订版)9
Z17 中国果树志-杏卷/158	J35 中国植保手册·苹果病虫害防治手册 14	J82 樱桃无公害高效栽培 11
Z18 中国果树志-柑橘卷/155	J36 图说苹果高效栽培关键技术 8	J83 甜樱桃栽培百问百答 21
Z19 中国农业百科全书-昆虫卷/130	J37 苹果无公害生产技术 15	J84 果树保护地栽培丛书-樱桃 11
Z20 中国农业百科全书-生物学卷/65	J38 苹果树整形修剪图说 5	J85 大樱桃栽培与贮藏加工新技术 6
Z21 中国农业百科全书-果树卷/60	J39 苹果栽培与贮藏加工新技术 5	J86 酸樱桃栽培与贮藏加工新技术 5
Z22 中国农业百科全书-植物病理卷/140	J40 苹果优良新品种原色图谱 10.5	J87 樱桃栽培实用技术 6
Z23 中国农业百科全书-土壤卷/130	J41 苹果 梨 桃病虫害防治技术 5	J88 杏和李高效栽培教材 6
Z24 中国梨<英文版>/33	J42 苹果生产关键技术百问百答 12	J89 杏树高产栽培(修订版)9
Z25 中国西瓜甜瓜专著/165(暂无)	J43 梨新品种及实用配套新技术 12	J90 杏栽培与贮藏加工新技术 5
Z26 中国葡萄志/260(暂无)	J44 梨高效栽培教材 6	J91 果树保护地栽培问答丛书-杏 9
Z27 中国干果/55	J45 图说梨高效栽培关键技术 13	J92 保护地杏栽培技术图解 8
(二) 技术类		
J1 农药科学使用指南(第四次修订版)39	J46 优质梨新品种高效栽培 10.5	J93 杏、李生产关键技术百问百答 11
J2 农药科学使用指南(第二次修订版)31	J47 梨树良种引种指导 9	J94 李树杏树良种引种指导 16.5
J3 果树嫁接新技术(第二次修订版)12	J48 梨树矮化密植栽培 8	J95 李、杏优质丰产栽培技术彩色图说 17
J4 果园农药安全使用百问百答 14	J49 梨树整形修剪图解(修订版)11	J96 李树丰产栽培 4.5
J5 新编林果病虫害防治手册 31	J50 新编梨树病虫害防治技术 14	J97 李树整形修剪图解 8
J6 园林农药安全使用技术 5	J51 梨无公害生产技术 15	J98 枣树高效栽培 111 问 5
J7 农药识别与施用方法 9	J52 看图剪梨树 6.5	J99 枣树高效栽培实用技术 4
J8 简明农药使用技术手册 14	J53 实用梨树栽培图决 250 例 7	J100 枣树高产栽培新技术 12
J9 果树嫁接育苗与高接换优技术百问百答 18	J54 梨栽培与贮藏加工新技术 5	J101 枣树优质丰产实用技术问答 10
J10 农药使用技术图解-技术决策 20	J55 梨生产关键技术百问百答 13	J102 枣高效栽培教材 7
J11 无公害蔬菜农药选择与使用教材 6.5	J56 红皮梨高效栽培与加工利用 18	J103 枣无公害高效栽培 14
J12 无公害果品生产技术 10	J57 桃李樱桃病虫害诊断与防治原色图谱 28	J104 冬枣优质丰产栽培新技术 13.5
J13 无公害果园农药使用指南 14	J58 桃优良品种及无公害栽培技术 14.5	J105 冬枣栽培与贮藏加工新技术 5
J14 果树病虫害生物防治 18	J59 果树保护地丛书-桃 11	J106 冬枣生产关键技术百问百答 13
J15 果树害虫生物防治 6.5	J60 桃生产关键技术百问百答 13(暂无)	J107 枣树病虫害防治(修订版)9
J16 果树无公害生产技术指南 12	J61 桃栽培实用技术 6	J108 枣树高产栽培新技术(第2版)14
J17 果树育苗手册 19	J62 桃保护地优质高效栽培 10	J109 无公害金丝小枣优质栽培技术 13
J18 果树反季节栽培技术指南 10	J63 看图剪桃树 5	J110 柿树栽培技术(第二次修订版)11
	J64 桃栽培与贮藏加工新技术 5	J111 柿树良种引种指导 9
	J65 桃树良种引种指导 11	J112 柿病虫害及防治原色图册 14