

## 植物体细胞胚发生及发育研究进展

李明,王树香,冯大领

(河北农业大学生命科学学院,河北保定 071000)

**摘要:**体细胞胚发生是植物界的一个普遍现象,具有广阔的应用前景和巨大的潜在经济价值。近几年来,对植物体细胞胚胎发生的研究取得了较大的进展,但同时也存在着一系列的问题有待于进一步解决。根据近年来的相关研究报道,本文综述了影响体细胞胚发生和发育的外部条件,如植物激素、光质、碳源、活性炭、渗透压、培养条件等;内部因素如基因型、生理状态。以期为植物体细胞胚诱导提供一定参考价值。

**关键词:**体细胞胚发生;植物激素;内因;外因

中图分类号:Q942

文献标志码:A

论文编号:2010-2136

### The Advance of Plant Somatic Embryogenesis and Development

Li ming, Wang shuxiang, Feng daling

(College of Life Science, Agriculture University of Hebei, Baoding Hebei 071001)

**Abstract:** Plant somatic embryogenesis is a common phenomenon and has wide application prospects and potential economic value. Great progress has been made in plant somatic embryogenesis recently, but many problems are still unsolved. Based on the related reports and literature of recent years, the research results on factors affecting of plant somatic embryogenesis were summarized. It is including outer factors, such as plant hormones, light quality, carbon source, osmotic pressure and culture conditions; interior factors, such as genotype and physiological state. This can provide references for the researches on somatic embryo induction.

**Key words:** somatic embryogenesis; plant hormones; interior factors; outer factors

### 0 引言

植物组织培养中体细胞胚的发生不仅具有普遍性,而且具有数量多,速度快,结构完整的特点。另外,体细胞胚再生的植株其最初来源是单个胚性细胞,这就能克服遗传嵌合及后代分离问题,可以在细胞水平上进行遗传选择,这就为高等植物在细胞水平上进行遗传操作及品种改良提供了可靠的依据和有效途径。自20世纪80年代初各国相继开始研究植物人工种子,目前已对近30种植物进行过人工种子制作的研究<sup>[1]</sup>。人工种子的核心是体细胞胚,所以体细胞胚大批量生产及高质量体细胞胚诱导也是人工种子研制的关键。因此组织培养中体细胞胚的发生对细胞工程的实施有着重要意义。

### 1 影响体细胞胚发生和发育的外部条件

#### 1.1 植物激素的影响

植物体细胞转化为胚性细胞的一个重要前提是这些细胞必须脱离整体的约束而进行离体培养。但仅离体培养并非是胚性细胞分化的充分条件。细胞分化还必须具有相应的诱导因子,特别是激素的诱导与调节作用。在影响组织培养过程中体细胞胚发生的诸多因素中,植物激素是最重要的调节因素之一<sup>[2]</sup>。从目前的报告看,不同的植物所使用的激素种类大不相同,有的植物必须通过生长素与细胞分裂素联合使用,而有的植物只使用生长素或细胞分裂素便可形成体细胞胚。例如,对苜蓿的分化诱导,必须同时使用生长素和细胞分裂素,而对红豆草则只在附加一定量BA的情

基金项目:河北省科学技术研究与发展计划项目(09225511)。

第一作者简介:李明,男,1976年出生,讲师,硕士,主要从事植物学及分子生物学领域的研究。通信地址:071000 河北农业大学西校区生命科学院植物系、河北农业大学生命科学学院, Tel: 0312-7528241, 13931296063, Email: liming@hebau.edu.cn。

收稿日期:2010-07-13, 修回日期:2010-09-19。

况下也能分化,且分化率较高<sup>[3,4]</sup>。

1.1.1 生长素类物质 2,4-D, NAA, IAA 等生长素类物质对愈伤组织分化形成胚状体具有促进作用,是体细胞胚发生的重要条件。

大多数植物细胞在离体培养条件下诱导胚性细胞的发生必须在含有2,4-D的条件下,并认为2,4-D对内源生长素的调节和平衡起重要作用<sup>[5]</sup>。然而,2,4-D在诱导胚性愈伤组织中是必不可少的,在体细胞胚发育过程中却又起抑制作用。极低浓度甚至无激素培养基则有利于体细胞胚发生发育。这正好和某些蛋白质组分含量变化相一致<sup>[6]</sup>。

IAA也是诱导体细胞胚发生的关键因素。水稻(*Oryza sativa*)胚性细胞出现时伴随有较高的内源IAA水平。在胚性细胞转换时期添加外源IAA或阻止生长素流出细胞的抑制剂能促进胚性细胞形成<sup>[7]</sup>。香雪兰(*Freesia refracta*)花序外植体离体培养时,只有花序轴的原形态学下端分化出体细胞胚,而在形态学上端无体细胞胚形成,体细胞胚发生端的IAA含量明显高于非胚发生端<sup>[8]</sup>。胡萝卜(*Daucus carota*)胚性细胞的IAA含量是非胚性细胞的13倍<sup>[9]</sup>。

同样,NAA对体细胞胚的诱导作用也是显著的,关键是其使用的浓度和存在时间的长短。如在防风(*Saposhnikovia divaricata*)体细胞胚发生的过程中,0.5 mg/L 2,4-D是诱导胚性愈伤组织最适宜的生长素浓度,当2,4-D的浓度高于1 mg/L则限制了体细胞胚的进一步发育;在胚状体的分化过程中,只有逐步降低2,4-D浓度或代之以作用较弱的同浓度的NAA,才会有利于体细胞胚的进一步分化和发育,推测胚性愈伤组织经过诱导和驯化后已经产生了相应的内源激素。如果再继续使用原来浓度水平的强效的2,4-D会对体细胞胚的分化起抑制作用<sup>[10]</sup>。

1.1.2 细胞分裂素和赤霉素 细胞分裂素(CTK)及赤霉素(GA<sub>3</sub>)类在体细胞胚的发生和发育过程中起协同作用。例如特定浓度的GA<sub>3</sub>和ABA能够促进印度娃儿藤体细胞胚的形成<sup>[11]</sup>。细胞分裂素类物质如BA、KT等也是体细胞胚诱导中不可缺少的,它可促进一些植物胚性愈伤组织形成和体细胞胚的成熟。BA与生长素组合对体胚诱导的效果优于只添加生长素的培养基配方<sup>[12]</sup>。但细胞分裂素类对体细胞胚发生的作用具有基因型差异。皇冠草(*Echinodorus orisis*)的内源CTK在球形胚期达最大值,即CTK通过促进细胞分裂而促进体细胞胚生长<sup>[13]</sup>,大茴香(*Pimpinella anisum*)体细胞胚发育却与内源CTK无明显相关性<sup>[14]</sup>。最近,黄健秋等<sup>[15]</sup>用马尾松(*Pinus massoniana*)种子做外植体,在含

2,4-D、6-BA和KT的培养基中得到胚性愈伤组织,在培养基中形成具子叶的胚和完整小植株。

在前期研究的基础上,经过近几年的进一步试验,人们越来越重视细胞分裂素类和生长素类的配合使用,特别是KT与2,4-D的配合使用,往往能解决体细胞胚诱导中的棘手问题。如2,4-D和KT按一定比例组合使用,不仅能诱导体细胞胚发生,而且胚胎的诱导率很高成胚期短(7~30天)<sup>[16]</sup>。GA<sub>3</sub>调节体细胞胚发生和发育的报道较少。皇冠草体细胞胚发生过程中GA<sub>3</sub>变化趋势与CTK相同,可能共同参与调节细胞的生长<sup>[13]</sup>。多数植物却可在无GA<sub>3</sub>培养基中产生体细胞胚,可能其内源GA<sub>3</sub>足以满足体细胞胚发生需要<sup>[17]</sup>。

1.1.3 脱落酸 大量实验表明,脱落酸(ABA)对某些植物体细胞胚发生的特异基因表达起调控作用,激活相关基因的表达,大量合成贮藏蛋白、晚期胚胎丰富蛋白(LEA)和少量胚胎发生特异性蛋白<sup>[18]</sup>。通常低浓度(1~10 μmol/L)能促进体细胞胚发生,高浓度(10 μmol/L以上)则抑制体细胞胚的发生。此外,ABA对体细胞胚的促进和抑制作用,还与胚体的生理状态密切相关。例如,在鹰嘴豆(*Cicer arietinu*)的体细胞胚发生研究中发现,用ABA处理可产生三种特异的cDNA克隆,这三种克隆的表达与胚的成熟有关<sup>[19]</sup>。在白云杉研究中发现,用ABA处理愈伤组织6 h后有新蛋白合成,同时提高了体细胞胚发生的频率<sup>[20-21]</sup>。在大麦(*Hordeum vulgare*)中发现,外源ABA对胚的萌发起决定作用<sup>[22]</sup>。在棉花(*Gossypium klotzschimum*)的体细胞胚发生中,ABA诱导出胚胎特异性蛋白质ECP31和LEA(D34)蛋白质,并具有表达的时空顺序性。ABA可以使胡萝卜体细胞胚发生的水平提高,用抑制剂降低ABA的合成,也影响了mRNA的转录水平,表明ABA至少部分地在转录水平上对该基因进行调控<sup>[23]</sup>。最近也有实验表明,ABA对甘薯(*Ipomoea batatas*)体细胞胚诱导具有显著的抑制作用。如果将已产生的球形胚和心形胚转入含有ABA(0.2~0.5 mg/L)或ABA+BG(1~2 mg/L)的培养基中培养3天,体细胞胚将发生脱分化,变成愈伤组织。

## 1.2 光质的影响

一些研究者认为,激素对植物组织培养的形态发生起决定作用,而光质只起一种补偿作用,只从数量上影响形态发生,并不能代替激素的作用。花生(*Arachis hypogaea*)体细胞胚诱导培养中,即使极弱光照也明显抑制体细胞胚的发生,光下继代培养中无体细胞胚发生<sup>[24]</sup>。Michler详细研究了光质对胡萝卜体细胞胚发生的影响,发现高强度的白光和蓝光抑制愈

伤组织生长和体细胞胚发生,红光和绿光与黑暗处理相同,产生最多胚状体。在持续光照下,蓝光中的细胞产生次级胚,并促进下胚轴伸长;红光中的培养物产生多子叶,胚轴长度正常<sup>[25]</sup>。

### 1.3 碳源的影响

蔗糖、PEG作为碳源和渗透调节剂,能促进植物体细胞胚成熟。

对绝大多数植物而言,蔗糖浓度太低或无时,生成的愈伤组织量少而且无胚性能力,不能再生成苗;蔗糖浓度太高,如为9%时,愈伤组织多呈球形胚,虽具胚性能力,但愈伤组织生长极慢,量少,而且再生能力有所下降;蔗糖浓度为3%时,只停留在胚性愈伤组织阶段,球形胚甚少,但愈伤组织量多,再生能力强,而且正常苗比例高<sup>[26]</sup>。如胡萝卜愈伤组织在含不同蔗糖浓度的MS培养液中培养7天后,在1%和12%蔗糖培养液中空长细胞多,在含3%、5%、8%和10%蔗糖的培养液中空长细胞少,小细胞多<sup>[27]</sup>。

而在少数植物体细胞胚成熟培养过程中,用麦芽糖代替蔗糖要比以前常用的蔗糖培养基好,不但明显提高了体细胞胚成熟频率,而且使体细胞胚发生时间提前,同时体细胞胚质量明显改善。如华北落叶松体细胞胚的成熟频率和根发生频率在麦芽糖3%配合PEG4000 4%且无蔗糖时能显著提高,且产生的体细胞胚质量较高<sup>[28]</sup>。

### 1.4 活性炭的影响

活性炭对体细胞胚的诱导有促进作用,而适当的活性炭浓度(0.1%~0.3%)较利于体细胞胚的发育。如在番木瓜(*Carica stipulata*)的体细胞胚发生过程中在不含任何激素的培养基上继代的愈伤组织生长缓慢,继代两代不见有体细胞胚出现。而在降低激素浓度和附加0.2%活性炭的培养基上继代的愈伤组织生长速度适中,继代两次后有大量体细胞胚出现<sup>[29]</sup>。在生根培养基中加入活性炭,不仅可以促进雷公藤芽苗不定根产生,也可以促进根的生长,并且可抑制根褐变现象的发生<sup>[30]</sup>。

### 1.5 渗透压的影响

蔗糖在培养基中既作碳源,又能维持一定的渗透压。不同的蔗糖浓度对番木瓜体细胞胚的发育有明显的作用。3%的蔗糖浓度适于植物体细胞胚的整个发育时期<sup>[31-32]</sup>。

### 1.6 培养方式的影响

不同的培养方式对体细胞胚的发育也有影响:一般认为,在固体培养基上生长的体细胞胚比在液体上生长的质量高,但液体培养具有扩大体细胞胚生产量

及易于体细胞胚分选收集等优点<sup>[33]</sup>。因此,让体细胞胚在固体培养基上完成其早期发育,而在液体培养基上完成其后期发育,这种培养方式综合了固体培养和液体培养各自的优点,使其体细胞胚经历液体培养的时间短,但仍能用过筛的方法使体细胞胚实现同步化,从而提高体细胞胚的质量<sup>[29]</sup>。

### 1.7 不同离子的影响

不同离子对植物体细胞胚的形成具有重要的作用,不仅影响诱导频率,而且还影响胚性愈伤组织的形成。 $\text{Ca}^{2+}$ 对体细胞胚胎发生的影响在植物细胞分化与发育过程中起着十分重要作用,它参与了细胞分化、分裂和形态发生以及植物抗逆反应等过程。如激素作为重要调节因子,在植物细胞分化、体细胞胚的诱导和形态建成等过程中起关键作用,而在激素的信号传递过程中 $\text{Ca}^{2+}$ 可能是通过调节基因表达来实现的<sup>[34]</sup>。 $\text{La}^{3+}$ 作为一种稀土元素,既是植物生长发育所需的一种矿质营养元素,又是 $\text{Ca}^{2+}$ 通道的竞争性抑制剂。当在培养基中加入低浓度 $\text{La}^{3+}$ 时,其主要表现为一种营养元素,对体细胞胚胎发生略有促进作用<sup>[35]</sup>。培养基中加入适当浓度金属离子可提高体细胞胚发生的频率,使愈伤组织的体细胞胚胎发生数量提高,防止培养物的褐化与玻璃化。而超过一定浓度则对植物有毒害作用。 $\text{Ag}^+$ 不仅促进器官发生,而且对体细胞胚胎发生也有积极的促进作用。它不仅可提高诱导频率,而且还可以加速胚性愈伤组织的形成。 $\text{Ag}^+$ 对枸杞(*Lycium barbarum* L.)体细胞胚发生表现促进作用,当 $\text{AgNO}_3$ 的浓度为50 mg/L时,可大大提高愈伤组织中体细胞胚发生,是对照(不加 $\text{AgNO}_3$ )组的3倍左右。而超过此浓度后, $\text{Ag}$ 离子对枸杞体细胞胚发生表现毒害作用,体细胞胚的发生受到明显抑制<sup>[36]</sup>。在对于Se的研究中发现 $\text{Ag}$ 与Se相互拮抗,Se可以拮抗 $\text{Ag}$ 的毒性。在 $\text{Ag}$ 离子浓度在50 mg/L以上(毒害作用),Se的吸收量还是较高<sup>[32]</sup>。在20世纪90年代初,Kiyosue等<sup>[37]</sup>用含有 $\text{CoCl}_2$ 、 $\text{NiCl}_2$ 、 $\text{CuCl}_2$ 、 $\text{ZnCl}_2$ 和 $\text{CdCl}_2$ 的MS培养基诱导了胡萝卜体细胞胚的形成。小麦(*Triticum aestivum*)愈伤组织诱导体细胞胚发生中也发现 $\text{Zn}^{2+}$ 、 $\text{Cu}^{2+}$ 、 $\text{Co}^{2+}$ 和 $\text{Mn}^{2+}$ 等金属离子具有重要的促进作用,不仅可提高诱导频率,而且还可以加速胚性愈伤组织的形成<sup>[38]</sup>。

## 2 影响体细胞胚发生和发育的内部条件

### 2.1 植物基因型的影响

大量实验结果表明,不同品系的植物在体细胞胚培养中激素的选择与搭配以及浓度的选择,培养条件等部分具有很大差异,这与不同植物千差万别的基因

型有关。例如,生长素、尤其是2,4-D是广泛用于诱导植物体细胞胚发生的生长调节剂,但却在核桃(*Juglans regia*)中少有应用。被认为对体细胞胚发生有阻碍作用的细胞分裂素类却是用于核桃体细胞胚发生的主要生长调节剂<sup>[39]</sup>。大豆的8个品种在外植体大小和培养条件完全相同的情况下,体细胞胚发生频率最高达18.3%,最低只有4.2%<sup>[40]</sup>。黑云杉不同品种间体细胞胚分化率也从17%~65%不等<sup>[41]</sup>。

## 2.2 植物生理状态的影响

植物的每个细胞均有成胚的潜力,但成胚频率最高的是那些具有较高胚性感受能力(embryogenic competence)的细胞<sup>[39]</sup>。大量实验证明,外植体的生理状态和发育程度都直接影响体细胞胚的发生,一般生理代谢旺盛而分化程度较低的组织有利于体细胞胚的诱导<sup>[42]</sup>。例如,华北落叶松外植体取材时,仅有某一时期内采集的球果容易诱导胚性愈伤组织<sup>[43]</sup>。黄山栎体细胞胚的发生研究中表明:节间愈伤组织可诱导产生体细胞胚,而叶柄愈伤组织则生根<sup>[44]</sup>。胡桃楸胚性愈伤组织诱导与体细胞胚胎发生的研究结果为合子胚为外植体时最易形成胚性愈伤组织,外植体最佳取材时期为5~6月<sup>[45]</sup>。而一品红的体外培养中,只有黄色愈伤组织可以产生体细胞胚,红色愈伤组织和脱分化过度的白色愈伤组织都不能形成体细胞胚<sup>[46]</sup>。

## 3 结语

综上所述,植物体细胞胚发生是一个复杂的过程,受细胞内外多种因子调控,如植物的基因型及其生理状态、光质、碳源、培养方式、植物激素以及不同离子的作用等。但这些因素诱导植物体细胞胚发生的作用程度不尽相同,而且多数植物只有各种因素配合使用时才能快速高效地诱导出体细胞胚。目前,尽管前人对不同植物体细胞胚发生发育的影响因素进行了探讨,也对体细胞胚发生的生理生化过程进行了研究<sup>[47]</sup>,但植物体细胞从单细胞到体细胞胚再到完整植株的整个发育过程的分子机制仍然不是很清楚,控制体细胞胚发生的基因表达与调控有待于今后进一步研究,体细胞胚发生发育的分子机制越来越引起学者的重视。深入研究体细胞胚发生与发育机理对于揭示细胞分化、发育、形态发生和合子胚发育等的机制有极其重要的意义。

## 参考文献

- 国际种子检验协会 ISTA. 国际种子检验规程[M]. 北京: 中国农业出版社, 1999.
- 邓正正, 王力华, 王庆礼. 植物生长调节剂对水曲柳组培苗生长及内源激素的影响[J]. 东北林业大学学报, 2009, 37(12): 10-13.
- 刘振虎, 卢欣石, 葛军. 紫花苜蓿愈伤组织及体细胞胚的细胞学观察[J]. 草业科学, 2005, 22(2): 37-41.
- Burrell A M, Lineberger R D, Keerti S R, et al. Genetic Variation in Somatic Embryogenesis of Rose[J]. Hort Science, 2006, 41(5): 1165-1168.
- 张涛, 芸芥体细胞胚胎发生的组织细胞学研究[J]. 园艺学报, 2007, 34(1): 131-134.
- 陈雄, 王星, 王亚馥. 激素对枸杞体细胞胚发生及可溶性蛋白质含量和组分的影响[J]. 西北植物学报, 1995, 15(5): 26-30.
- 陈以峰, 周燮, 汤日圣, 等. 水稻体细胞培养中胚性细胞出现与 IAA 的关系[J]. 植物学报, 1998, 40(5): 474-477.
- 王丽, 鲍晓明, 黄百渠, 等. 香雪兰外植体形态学极性决定的体细胞胚胎发生[J]. 植物学报, 1998, 40(2): 138-143.
- Sasaki K, Shimomura K, Kamada H, et al. IAA metabolism in embryogenic and non-embryogenic carrot cells[J]. Plant and Cell Physiology, 1994, 35(8): 1159-1164.
- 乔琦, 肖娅苹, 王喆. 外源激素对防风体细胞胚发生和发育的影响[J]. 西北大学学报(自然科学版), 2005, 35(3): 316-319.
- Dennis T, 张玉霞. 糖、GA3 及 ABA 对印度娃儿藤(*Tylophora indica* (Burm. f.) Merrill) 体细胞胚发生的影响[J]. 生物工程学报, 2006, 22(3): 465-471.
- 宁国贵, 吕海燕, 张俊卫, 等. 梅花不同外植体离体培养及体细胞胚诱导植株再生[J]. 园艺学报, 2010, 37(1): 114-120.
- 邢登辉, 赵云云, 黄承芳. 皇冠草体细胞胚胎发生及其体胚发生过程中内源激素的变化[J]. 生物工程学报, 1999, 15(1): 98-103.
- Attree S M, Fowke L C. Embryogeny of gymnosperms: advances in synthetic seed technology of conifer[J]. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 1993, 35(1): 1-35.
- 黄健秋, 卫志明, 许智宏. 马尾松成熟合子胚的体细胞胚发生和植株再生[J]. 植物学报, 1995, 37(4): 289-294.
- 李丽, 万勇善, 刘凤. 2,4-D 浓度对花生体细胞胚发生的影响[J]. 生物技术, 2005, 15(3): 77-79.
- 刘华英, 萧浪涛, 何长征. 植物体细胞胚发生与内源激素的关系研究进展[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2002, 28(4): 349-354.
- Tetteroo F A A, Bino R J, Bergervoet J H W, et al. Effect of ABA and slow drying on DNA replication in carrot (*daucus carota*) embryoids[J]. Physiologia Plantarum, 1995, 95(1): 154-158.
- Pilar C, Carlos N, Gregorio N, et al. Expression of three ABA-regulated clones and their relationship to maturation processes during the embryogenesis of chick-pea seeds[J]. Physiologia Plantarum, 1995, 94(1): 1-6.
- Dong J Z, Perras M R, Abrams S R, et al. Induced gene expression following ABA uptake in embryogenic suspension cultures of picea glauca[J]. Plant Physiology and Biochemistry, 1996, 34(4): 579-587.
- Burg K, Helmersson A, Bozhkov P, et al. Developmental and genetic variation in nuclear microsatellite stability during somatic embryogenesis in pine[J]. Journal of experimental botany, 2007, 58(3): 687-698.
- Visser K, Vissers A P A, Cagiran M I, et al. Rapid germination of a barley mutant is correlated with a rapid turnover of abscisic acid outside the embryo[J]. Plant Physiology, 1996, 111(4): 1127-1133.

- [23] 邢更生,崔凯荣,山仑,等.植物体细胞胚发生的分子基础[J].遗传,1999,21(1):30-34.
- [24] 邓向阳,卫志明.幼胚长度、2,4-D浓度、光强度等对花生体细胞胚发生的影响及高效再生系统的建立[J].植物生理学报,2000,26(6):525-531.
- [25] 徐根娣,李瑶,贾林,等.光质和碳素对旱芹体细胞胚发生的影响[J].浙江师大学报(自然科学版),1995,18(2):57-60.
- [26] Abdoulaye T, Mark J. Guiltinan. Effects of Carbon Source and Explant Type on Somatic Embryogenesis of Four Cacao Genotypes [J].HortScience,2006,41(3):753-758.
- [27] 黄绍兴,王慧中,黄美娟.蔗糖浓度对胡萝卜体细胞胚生长与发育的影响[J].科技通报,1995,11(2):111-115.
- [28] 齐力旺,韩一凡,韩素英,等.麦芽糖、NAA及ABA对华北落叶松体细胞胚成熟及生根的影响[J].林业科学,2004,40(1):52-57.
- [29] 黄俊潮,叶克难,陈谷,等.番木瓜体细胞胚发生及发育的影响因素[J].中山大学学报(自然科学版),1996,35(4):90-94.
- [30] 李琰,冯俊涛,陈新雨.雷公藤胚性愈伤组织再生植株的增殖及其稳定性[J].林业科学,2009,45(1):57-63.
- [31] 袁澍,贾勇炯,林宏辉.诱导植物体细胞胚发生的几个生理因素[J].植物生理学通讯,2003,39(5):508-512.
- [32] Chen M H, Wang P J, Maeda E. Somatic embryogenesis and plant regeneration in *Carica papaya* L. tissue culture derived from root explants[J].Plant Cell Reports,1987,6(5):348-351.
- [33] Yolanda Z C P, Flick A C, López-Puc G. omatic Embryogenesis in Habanero Pepper (*C. chinense* Jacq.) From Cell Suspensions[J]. HortScience,2007,42:329-333.
- [34] 孙大业,郭艳林,马力耕,等.细胞信号转导(第三版)[M].北京科学出版社,2001,201-217.
- [35] 杨汉民,杜琳.稀土元素对枸杞体细胞胚诱导频率的影响[J].中国稀土学报,1994,12(2):186-188.
- [36] 李杉,戴若兰,秦芝,等.枸杞体细胞胚发生过程中Ag<sup>+</sup>对痕量金属离子吸收的影响[J].实验生物学报,2001,34(2):127-130.
- [37] Kiyosue T, Takano K, Kamada H, *et al.* Induction of somatic embryogenesis in carrot by heavy metal ions[J].Canadian journal of botany,1990,68:2301-2303.
- [38] 刘华英,萧浪涛,何长征.植物体细胞胚发生与内源激素的关系研究进展[J].湖南农业大学学报(自然科学版),2002,28(4):349-355.
- [39] 汤浩茹,王永清,任正隆.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.
- [40] 张淑珍,徐鹏飞,林世锋,等.大豆体细胞胚再生体系的研究进展及展望[J].大豆科学,2004,23(3):232-235.
- [41] Cheliak W M, Klimaszewska K. Genetic variation in somatic embryogenic response in open-pollinated families of black spruce [J].Theoretical and Applied Genetics,1991,82(2):185-190.
- [42] 王傲雪,李景富.植物体细胞胚的诱导研究及应用[J].黑龙江农业科学,1999,(2):39-41.
- [43] 汪小雄,卢龙斗,郝怀庆,等.松杉类植物体细胞胚发育机理的研究进展[J].西北植物学报,2006,26(9):1965-1972.
- [44] 冯大领,李伟,张洁.黄山栎树体细胞胚的发生和组织学观察[J].植物生理学通讯,2009,45(9):855-859.
- [45] 张建瑛,姜思佳,刑亚娟.胡桃楸胚性愈伤组织诱导与体细胞胚胎发生[J].植物研究,2010,30(1):22-26.
- [46] 陈利萍,汪炳良,张明方.一品红离体培养诱导体细胞胚的研究[J].植物生理学通讯,1999,35(6):463-465.
- [47] 幸福梅,张存旭,王红.栓皮栎胚性和非胚性愈伤组织抗氧化酶的研究[J].西北林学院学报,2007,22(3):67-70.