

不同外植体及植物生长调节剂对几种豆科牧草体细胞胚诱导的影响

靳慧卿¹, 米福贵^{1,*}, 闫利军^{2,*}, 于洁¹, 贾振宇¹

¹内蒙古农业大学生态环境学院, 呼和浩特010019; ²四川省草原科学研究院, 成都611731

摘要: 以6个豆科牧草材料的5种不同外植体(幼根、子叶、下胚轴、茎和叶片)为试材, 研究了不同生长调节剂组合下的愈伤组织诱导及体细胞胚分化情况。结果表明: 基因型、外植体类型和植物生长调节剂种类及其浓度均显著影响供试材料愈伤组织的诱导与体细胞胚的分化。不同基因型以‘中苜2号’紫花苜蓿和百脉根整体表现良好, 平均愈伤组织诱导率分别为86.67%和90.13%, 平均体细胞胚分化率分别为36.63%和50.93%; 不同外植体间愈伤组织诱导率及体细胞胚分化率差异较大, 其中下胚轴是理想的受体材料, 表现为出愈早, 体细胞胚形成和再生能力强。供试材料愈伤组织诱导和体细胞胚分化的适宜生长调节剂组合分别为 $2.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 2,4-D+ $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ KT和 $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA+ $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 6-BA。

关键词: 豆科牧草; 外植体; 植物生长调节剂; 愈伤组织诱导; 体细胞胚分化

Effects of Different Explants and Plant Growth Regulator Combinations on Somatic Embryo Induction of Leguminous Forage Plants

JIN Hui-Qing¹, MI Fu-Gui^{1,*}, YAN Li-Jun^{2,*}, YU Jie¹, JIA Zhen-Yu¹

¹College of Ecology and Environmental Science, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010019, China; ²Sichuan Academy of Grassland Science, Chengdu 611731, China

Abstract: The effects of different plant growth regulator combinations on callus induction and somatic embryos differentiation of five different explants (radicle, cotyledon, hypocotyl, stem and leaf) of six kinds of leguminous forage were studied. The results show that diverse genotypes, different explants and exogenous plant growth regulators and concentration had obvious effects on callus and somatic embryos induction, in which the genotypes alfalfa (*Medicago sativa* cv. ‘Zhongmu No.2’) and *Lotus corniculatus* were better than the others in genotypes. The average callus induction rates from the variety ‘Zhongmu No.2’ of alfalfa and *L. corniculatus* were 86.67% and 90.13%, respectively, and the average somatic embryo production rates were 36.63% and 50.93%, respectively. There were great differences in callus induction rate and somatic embryo production rate among different explants, and hypocotyl was ideal receptor of all, for forming callus earlier and the stronger regeneration ability in somatic embryo. MS containing $2.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 2,4-D and $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ KT was the optimal embryonic callus induction medium and the medium of MS containing $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA and $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 6-BA was the most efficient for inducing somatic embryos.

Key words: leguminous forage plants; explant; plant growth regulator; callus induction; somatic embryos differentiation

豆科牧草不仅是蛋白质饲料来源, 生物固氮、生态保育的重要组成部分, 在畜牧业生产、草田轮作、环境保护和建设方面也发挥着极其重要的作用。因此, 通过基因工程技术改良豆科牧草, 培育优质、高产牧草新品种, 具有重要的理论和实际意义。要实现对豆科牧草的遗传改良, 建立一个稳定、高频的再生体系至关重要。豆科牧草的再生通常通过体细胞胚途径, 这主要是因为体细胞胚起源于单个细胞, 具有嵌合体少、遗传稳定性好、再生频率高等特点。豆科牧草的再生一直

被认为高度依赖于基因型, 且大多数栽培品种都很难再生(Somers等2003)。长期以来, 国内外许多学者对豆科牧草的再生进行了大量的研究, 但普遍存在再生周期长、再生率低和可重复性差等不足(马海燕等2005), 对于影响豆科牧草愈伤组织分化及体细胞胚分化的各种因素仍不十分清楚, 许

收稿 2015-10-30 修定 2015-11-25

资助 国家“十二五”科技支撑项目(2011BAD17B05-3)和四川省“十二五”饲草育种攻关项目(2011NZ0098-11-3)。

* 共同通讯作者(E-mail: mfguinm@163.com, Tel: 0471-4303902; E-mail: yanlijun456@126.com, Tel: 15248016137)。

多豆科牧草离体培养中愈伤组织分化特别是体细胞胚产生还有一定困难。为此,筛选出体细胞胚产生率高的豆科牧草种及品种,获得重复性强、操作简便、培养周期短、再生率高和遗传稳定性好的受体再生系统具有重要的科学意义和育种应用价值。

本研究以‘中苜2号’紫花苜蓿、‘草原3号’杂花苜蓿、百脉根等6种豆科牧草作为实验材料,探讨基因型、外植体及植物生长调节剂种类和浓度对其愈伤组织诱导和体细胞胚分化的影响,旨在建立供试豆科牧草高效、高频和稳定的再生体系,为实现外源基因的高效遗传转化和生物技术育种奠定基础。

材料与方法

1 植物材料

百脉根(*Lotus corniculatus* L.)、黄花草木樨(*Melilotus officinalis* L.)和沙打旺(*Astragalus adsurgens* Pall)种子由中国农科院草原研究所牧草种质资源中期库提供,紫花苜蓿‘中苜2号’(*Medicago sativa* Martin. cv. ‘Zhongmu No.2’)、杂花苜蓿‘草原3号’(*Medicago varia* Martin. cv. ‘Caoyuan No.3’)和红豆草(*Onobrychis viciaefolia* Scop)种子由本实验室保存。试验于2014~2015年在内蒙古农业大学生态环境学院组织培养实验室进行,培养温度为(25±2)℃,光照14 h·d⁻¹,光强约为30 μmol·m⁻²·s⁻¹。

2 无菌苗获得及外植体准备

将挑选好的饱满种子用砂纸轻轻打磨3~4下,然后用医用纱布包裹,皮筋扎住,放置于4℃的冰箱冷藏2~4 h,之后在超净工作台用70%酒精进行表面消毒3~5 min,2%的次氯酸钠溶液中灭菌10~15 min,最后用无菌水冲洗3~5次,每次3 min。将处理后的种子接种到蔗糖浓度为3%、琼脂浓度为0.7%的MS培养基上培养获得无菌苗备用。

将萌发5~7 d的子叶和下胚轴以及萌发12~15 d的茎和真叶从无菌苗上切下。将下胚轴和茎段切成约0.5 cm长的小段,子叶和真叶横向切成3~5 mm宽的小条,将长至1.0 cm左右的幼根切成0.5 cm长的小段。

3 愈伤组织的诱导和继代

以MS为基本培养基,分别附加不同浓度的2,4-二氯苯氧乙酸(2,4-D)和激动素(kinetin, KT),将

供试材料的下胚轴接种到愈伤组织诱导培养基上,筛选出愈伤组织诱导的最佳生长调节剂组合。将供试材料无菌苗的幼根、子叶、胚轴、茎和叶片接种到筛选出的最佳培养基(MS+2 mg·L⁻¹ 2,4-D+0.5 mg·L⁻¹ KT+3%蔗糖+0.7%琼脂)上,研究不同物种不同外植体对愈伤组织诱导的影响。每处理3次重复,每重复接种5瓶,每瓶接种5块外植体。诱导培养15 d后统计下胚轴、幼根和茎的愈伤组织诱导率,25 d后统计子叶和叶片的愈伤组织诱导率。愈伤组织诱导率=长出愈伤组织的外植体数/接种的外植体总数×100%。将诱导出的愈伤组织每隔14 d继代一次,切分成小块接种到新鲜的原培养基上继代增殖,为随后体细胞胚分化提供材料。

4 胚性愈伤组织诱导及体细胞胚分化

将下胚轴培养形成的粘性致密的胚性愈伤组织分别接种到添加不同生长调节剂配比的体细胞胚分化培养基上,选择最佳的体细胞胚分化培养基。将不同豆科牧草的不同外植体诱导培养的愈伤组织分别转入筛选出的体细胞胚分化培养基上,培养25 d以后,统计体细胞胚分化率。体细胞胚分化率=分化出芽的愈伤组织块数/接种愈伤组织的总块数×100%。每处理3次重复,每重复接种5瓶,每瓶接种5块外植体。

5 统计方法与数据分析

用Excel软件进行图表分析,用SAS统计分析软件对试验数据进行方差分析。

实验结果

1 愈伤组织的诱导

1.1 不同植物生长调节剂组合对愈伤组织诱导的影响

6个供试豆科牧草材料在添加不同浓度2,4-D和KT的MS培养基上培养,均可形成愈伤组织,但愈伤组织诱导率有差异。‘中苜2号’和‘草原3号’在MS+2.0 mg·L⁻¹ 2,4-D+0.02 mg·L⁻¹ KT培养基上愈伤组织诱导率最高,分别达到100%和90.67%,而其他4个材料百脉根、红豆草、黄花草木樨和沙打旺在2,4-D浓度为2.0 mg·L⁻¹、KT为0.5 mg·L⁻¹时愈伤组织的形成能力较强,诱导率分别为100%、89.33%、73.33%和68%(表1)。

表1 不同植物生长调节剂组合对下胚轴愈伤组织诱导率的影响

Table 1 Effects of different plant growth regulator combinations on callus induction from hypocotyl

植物生长调节剂浓度/mg·L ⁻¹		愈伤组织诱导率/%						
2,4-D	KT	‘中苜2号’	‘草原3号’	百脉根	红豆草	黄花草木樨	沙打旺	平均数
1.0	0.02	88.00 ^{ab}	82.67 ^{cd}	86.67 ^{bc}	69.33 ^{ab}	53.33 ^c	58.67 ^{bc}	73.11
1.0	0.5	85.33 ^b	80.00 ^{cd}	90.67 ^{bc}	74.67 ^{ab}	69.33 ^{ab}	53.33 ^{cd}	75.56
1.0	1.0	82.67 ^b	77.33 ^d	85.33 ^c	64.00 ^b	60.00 ^{bc}	48.00 ^d	69.56
2.0	0.02	100.00 ^a	90.67 ^a	93.33 ^{abc}	76.00 ^{ab}	64.00 ^{abc}	61.33 ^b	80.89
2.0	0.5	94.67 ^{ab}	89.33 ^{ab}	100.00 ^a	89.33 ^a	73.33 ^a	68.00 ^a	85.78
2.0	1.0	92.00 ^{ab}	84.00 ^{bc}	94.67 ^{ab}	74.67 ^{ab}	68.00 ^{ab}	54.67 ^c	78.00

表中数据为平均值, 同一列中不同字母标识表示数据间差异显著(P<0.05); 表2~4同。

1.2 不同外植体愈伤组织诱导能力的比较

从表2中看出, 经愈伤组织的诱导培养后, 不同基因型的外植体愈伤组织形成能力存在着明显差异。供试的6个豆科牧草中, 百脉根表现出

较强的愈伤组织形成能力, 平均诱导率达90.13%, ‘中苜2号’和‘草原3号’次之, 平均诱导率均为80%以上, 黄花草木樨和沙打旺的愈伤组织形成能力较差。

表2 不同种类外植体形成愈伤组织的能力比较

Table 2 Comparison of inducing callus with various explants of different species

外植体	愈伤组织诱导率/%						
	‘中苜2号’	‘草原3号’	百脉根	红豆草	黄花草木樨	沙打旺	平均数
幼根	80.00 ^b	76.00 ^c	89.33 ^{ab}	57.33 ^b	70.67 ^a	53.33 ^b	71.11
下胚轴	96.00 ^a	92.00 ^{ab}	97.33 ^a	84.00 ^a	72.00 ^a	65.33 ^a	84.44
子叶	78.67 ^b	81.33 ^{bc}	86.67 ^{ab}	85.33 ^a	64.00 ^a	60.00 ^{ab}	76.00
茎	94.67 ^a	93.33 ^a	96.00 ^{ab}	80.00 ^a	69.33 ^a	62.67 ^a	82.67
叶片	84.00 ^b	74.67 ^c	81.33 ^b	64.00 ^b	56.00 ^b	54.67 ^b	69.11
平均数	86.67	83.47	90.13	74.13	66.40	59.20	—

同一基因型的不同外植体愈伤组织形成能力也明显不同。百脉根下胚轴的愈伤组织诱导率最高, 茎次之, 叶片最低; ‘中苜2号’和‘草原3号’的下胚轴和茎也表现出较强的愈伤组织形成能力, 诱导率达90%以上, 且品种间差异显著; 红豆草的愈伤组织形成能力表现一般, 不同外植体中以子叶的较强, 诱导率为85.33%; 黄花草木樨和沙打旺各外植体的愈伤组织形成能力均较低, 其中黄花草木樨的下胚轴和幼根、沙打旺的下胚轴和茎愈伤组织诱导率略高一些(表3)。由此可见, 下胚轴是愈伤组织诱导的最佳外植体。

1.3 不同类型愈伤组织的生长状况

根据文献(刘振虎等2005; 孙艳香等2007)将本试验诱导的愈伤组织分为3种类型: I型为浅黄色, 表面有绿色突起, 结构松脆, 干燥易碎(图1-A); II型

为浅黄色, 质地松软、湿润, 粘性, 颗粒状, 表面有小突起(图1-B); III型为淡黄色, 结构致密, 干燥, 表面有紫色小突起(图1-C)。I型和III型生长迅速, 容易褐化, 不能分化, 为非胚性愈伤组织; II型生长较慢, 容易分化, 能够再生成苗, 为胚性愈伤组织(图1-D)。胚性愈伤组织经分化培养发育为体细胞胚(图1-E), 继而长成再生植株(图1-F)。

2 体细胞胚的分化

2.1 不同植物生长调节剂组合对体细胞胚分化的影响

不同植物生长调节剂组合处理对不同基因型体细胞胚分化率的影响存在差异。百脉根和‘草原3号’在MS+0.1 mg·L⁻¹萘乙酸(NAA)+0.5 mg·L⁻¹ 6-苄氨基嘌呤(6-BA)培养基上体细胞胚分化率最高, 分别为85.33%和48%; ‘中苜2号’在NAA浓度为0.1

表3 不同植物生长调节剂组合对体细胞胚分化能力的影响

Table 3 Effects of different plant growth regulator combinations on somatic embryo differentiation

植物生长调节剂浓度/mg·L ⁻¹			体细胞胚分化率/%					
NAA	KT	6-BA	‘中苜2号’	‘草原3号’	百脉根	红豆草	沙打旺	平均数
0	0.1	0	6.67 ^c	8.00 ^b	18.67 ^d	5.33 ^c	0.00 ^b	7.73
0.1	0.5	0	42.67 ^a	38.67 ^a	48.00 ^{bc}	16.00 ^{ab}	1.33 ^b	29.33
0.1	1.0	0	21.33 ^b	13.33 ^b	32.00 ^{cd}	21.33 ^a	2.67 ^b	18.13
0	0	0.5	18.67 ^b	10.67 ^b	40.00 ^{cd}	6.67 ^c	0.00 ^b	15.20
0.1	0	0.5	40.00 ^a	48.00 ^a	85.33 ^a	20.00 ^{ab}	9.33 ^a	40.53
0.1	0	1.0	24.00 ^b	41.33 ^a	62.67 ^b	12.00 ^{bc}	10.67 ^a	30.13

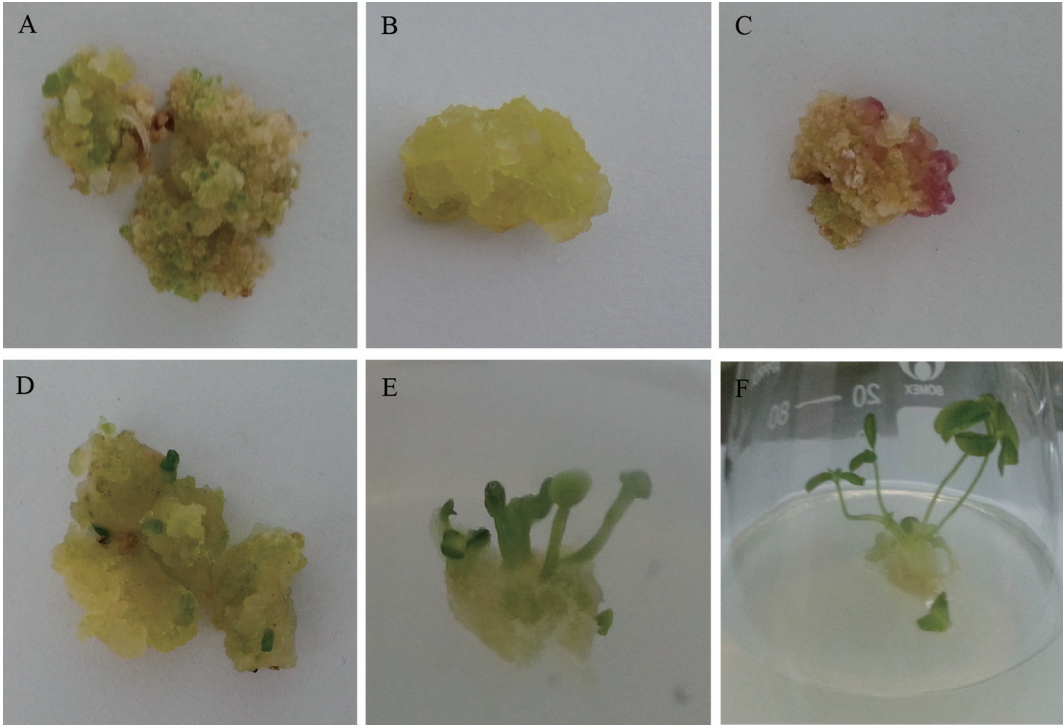


图1 愈伤组织形态及体细胞胚发育成植株

Fig.1 Three types of calli and the different stages of plant development from somatic embryos

A: I型愈伤组织; B: II型愈伤组织; C: III型愈伤组织; D: 胚性愈伤组织; E: 成熟体细胞胚; F: 再生植株。

mg·L⁻¹、KT为0.5 mg·L⁻¹或0.1 mg·L⁻¹ NAA、0.5 mg·L⁻¹ 6-BA时表现出较强的体细胞胚分化能力, 分化率均在40%以上; 0.1 mg·L⁻¹的NAA分别与1.0 mg·L⁻¹的KT或0.5 mg·L⁻¹的6-BA配合时, 红豆草的体细胞胚分化率较高, 且数值相近, 分别为21.33%和20%; 沙打旺的体细胞胚分化率在NAA与细胞分裂素配合使用时比单独使用细胞分裂素时要高, 且随着细胞分裂素浓度的增加而增加, 最高值出现在NAA浓度为0.1 mg·L⁻¹、6-BA为1.0 mg·L⁻¹时(表3)。在培养基MS+0.1 mg·L⁻¹ NAA +0.5 mg·L⁻¹

6-BA上所有供试材料愈伤组织的体细胞胚分化率均表现出极高的稳定性。

2.2 不同外植体对体细胞胚诱导与分化的影响

将不同外植体诱导培养的愈伤组织分别转入筛选出的体细胞胚分化培养基MS+0.1 mg·L⁻¹ NAA+0.5 mg·L⁻¹ 6-BA上, 观察体细胞胚分化情况。各材料的下胚轴均表现出较强的体细胞胚分化能力, 平均为42.13%; 其次为茎, 平均为39.72%; 叶片和子叶的平均体细胞胚分化率相近, 均在20%以上; 幼根来源愈伤组织的体细胞胚分化能力较差(表4)。

表4 外植体类型对不同豆科牧草体细胞胚分化的影响

Table 4 Effects of different explants of different species on somatic embryo differentiation

外植体	体细胞胚分化率/%					平均数
	‘中苜2号’	‘草原3号’	百脉根	红豆草	沙打旺	
幼根	18.67 ^c	21.33 ^c	30.67 ^b	10.67 ^b	2.67 ^d	16.80
下胚轴	44.00 ^a	48.00 ^a	84.00 ^a	22.67 ^a	12.00 ^a	42.13
子叶	22.67 ^{bc}	24.00 ^c	30.67 ^b	29.33 ^a	5.33 ^{cd}	22.40
茎	41.33 ^{ab}	46.67 ^{ab}	80.00 ^a	21.33 ^a	9.33 ^{ab}	39.73
叶片	56.00 ^a	32.00 ^{bc}	29.33 ^b	8.00 ^b	6.67 ^{bc}	26.40
平均数	36.53	34.40	50.93	18.40	7.20	—

百脉根各外植体来源愈伤组织的平均体细胞胚分化率为50.93%，整体表现较好；‘中苜2号’和‘草原3号’各外植体来源愈伤组织的平均体细胞胚分化率相近，均在35%左右，其中‘中苜2号’的叶片表现出较强的体细胞胚分化能力，体细胞胚分化率高达56%；红豆草各外植体来源愈伤组织的体细胞胚分化能力一般，平均体细胞胚分化率仅为18.4%，其子叶、下胚轴、茎的体细胞胚分化能力高于幼根和叶片；沙打旺形成体细胞胚的能力较差，其下胚轴表现略高一些，其他外植体的体细胞胚分化能力无大的差异，幼根、子叶、茎和叶片的体细胞胚分化率均在10%以下。5个豆科牧草材料各自不同外植体来源愈伤组织的平均体细胞胚分化率顺序为：百脉根>‘中苜2号’>‘草原3号’>红豆草>沙打旺。

讨 论

在植物组织和细胞培养中通过体细胞胚的途径形成植株是植株分化的一条最快、最有效的途径。另外，体细胞胚再生的植株来源单个胚性细胞，这就克服了遗传嵌合及后代分离问题，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(Cheliak和Klimaszewska 1991)。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(孙丹等2013)，特别是植物生长调节剂的诱导作用，这也是本论文研究的重点所在。

基因型是影响植物体细胞胚发生的关键因素(马彩霞等2013)。马晖玲(2004)的研究结果证实苜

蓿不同品种间表现出明显的体细胞胚胎发生能力的差异。张谦和郑国锴(1995)也认为红豆草基因型在胚性愈伤组织的诱导和保持中起着重要作用。本研究中，不同豆科牧草表现出明显的体细胞胚胎发生能力的差异，其中‘中苜2号’苜蓿和百脉根从愈伤组织诱导到体细胞胚分化均表现良好，是进行遗传转化的理想实验材料。草木樨5种外植体的愈伤组织在6种分化培养基上均未产生体细胞胚，愈伤组织在继代培养中迅速生长直至褐化死亡；这与李建科(2007)所报道的结果不同，他在草木樨愈伤组织的诱导和芽的再生研究中，曾诱导出绿色芽点。分析其原因可能是在草木樨的不同种质材料之间存在着差异，是否还存在其他原因，还需进一步研究。

植株不同器官和部位的生理状态和再生能力之间存在着明显的差别，不同外植体的选择必将导致胚性愈伤组织及体细胞胚形成和发育能力的差异。孙艳香等(2007)发现，不同外植体类型产生愈伤组织及体细胞胚的能力不同，如保丰苜蓿的下胚轴和叶柄较强，而子叶和真叶较弱。王涌鑫等(2008)在高效苜蓿组织培养再生体系建立的研究中得出：愈伤组织的诱导受外植体类型影响，下胚轴是苜蓿组织培养的首选外植体，因为其具有更短的愈伤组织诱导时间、更高的诱导率和更高的体细胞胚产生率。大量的研究证明，外植体的生理状态和发育程度都直接影响体细胞胚的产生，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(邓百万等2000)。本研究的结果也证实，下胚轴是供试豆科牧草胚性愈伤组织诱导的最佳外植体，其平均愈伤组织诱导率(84.44%)和平均体细胞胚分化率(42.13%)均高于其他类型

外植体;此外,实验观察发现下胚轴产生愈伤组织所需的时间一般短于其他外植体,通常培养2~3 d就会观察到切口两端明显加粗膨大,7 d为愈伤组织发生高峰,12~15 d后就可得大量新鲜愈伤组织。值得注意的是‘中苜2号’苜蓿的叶片、‘草原3号’苜蓿的茎、红豆草的子叶在实验过程中也表现出较强的体细胞胚分化能力,说明不同基因型的最佳体细胞胚诱导材料是多样的,但下胚轴在各基因型中均表现出稳定的愈伤组织诱导和体细胞胚分化能力,因此下胚轴是最佳的体细胞胚诱导材料。

在豆科牧草愈伤组织和体细胞胚的诱导中,许多研究证明2,4-D在诱导胚性愈伤组织中是必不可少的,特别是2,4-D与KT的配合使用更有利于体细胞胚的诱导(李明等2011)。本试验中通过对不同浓度KT与不同浓度2,4-D组合,研究各植物生长调节剂组合对胚性愈伤组织诱导的影响。结果表明,不同的植物生长调节剂组合处理下愈伤组织诱导率差异显著,2.0 mg·L⁻¹ 2,4-D是供试豆科牧草愈伤组织诱导的最佳浓度,这与许多研究结果一致(张万军和王涛2002;马晖玲等2004),而KT浓度在0.02~0.5 mg·L⁻¹范围内使用效果更佳,KT浓度太高(1.0 mg·L⁻¹)时反而会降低愈伤组织诱导率。因此,选择合适的植物生长调节剂种类及浓度对胚性愈伤组织的诱导至关重要。然而,2,4-D在体细胞胚发育过程中却又起抑制作用,在体细胞胚分化过程中,则必须要降低2,4-D浓度或将其去除;否则,胚性愈伤组织会在生长素的持续刺激下进入脱分化状态,不断产生愈伤组织,始终不能形成成熟的体细胞胚或再生植株。这种情况的出现可能是因为生长素既可激活某些基因表达产生特异性蛋白质,促进体细胞胚的分化,又可抑制这些基因表达,激活另一些基因表达,从而抑制了体细胞胚的发育(周健等2008)。因而,在体细胞胚分化过程中选择了低浓度的生长素NAA分别与细胞分裂素KT和6-BA组合,结果表明低浓度的NAA与高浓度的6-BA组合(0.1 mg·L⁻¹ NAA+0.5 mg·L⁻¹ 6-BA)更

适宜供试豆科牧草体细胞胚的分化。胚发生的最初启动也是由于胚性愈伤组织或单个胚原始细胞中的植物生长调节剂,主要是生长素与细胞分裂素之间的平衡改变,导致了细胞中基因表达调节控制系统发生改变,并最终导致细胞发育途径的改变。这也就是说,胚发生要求生长素与细胞分裂素2种植物生长调节剂同时存在,并在二者间保持某种平衡的条件下诱导细胞完成其基因表达的再程序化,然后开始胚发生过程。

参考文献

- 邓百万,张兆清,刘世贵(2000). 几种豆科牧草植物组织培养体细胞胚诱导研究. 汉中师范学院学报(自然科学), 18 (1): 72~78
- 韩阳,卢福荣,崔智昕,王成,茹艺,李曹娜(2014). 百脉根植株高频再生体系的建立. 辽宁大学学报: 自然科学版, 41 (2): 152~156
- 李建科,黄俊轩,李双跃,杨静慧,刘艳军,华修德,张雷(2007). 草木樨愈伤组织的诱导和芽的再生. 天津农学院学报, 14 (1): 28~30
- 李明,王树香,冯大领(2011). 植物体细胞胚发生及发育研究进展. 中国农学通报, 27 (3): 237~241
- 刘振虎,卢欣石,葛军(2005). 紫花苜蓿愈伤组织及体细胞胚的细胞学观察. 草业科学, 22 (2): 37~40
- 马彩霞,穆国俊,侯名语,陈焕英,崔顺立,何美敬,刘立峰(2013). 一种快速、高效花生植株再生体系的建立. 植物生理学报, 49 (12): 1333~1338
- 马晖玲,卢欣石,曹致中,葛军(2004). 紫花苜蓿不同栽培品种植株再生的研究. 草业学报, 13 (6): 99~105
- 孙丹,李宏博,李千,朴钟云(2013). 北五味子体细胞胚发生过程中内源IAA、ABA和GA₃含量的动态变化. 植物生理学报, 49 (1): 70~74
- 孙艳香,杨红梅,尹军,朱晔荣,王宁宁,王勇(2007). 紫花苜蓿高频体细胞胚与次生胚再生体系的建立. 南开大学学报(自然科学版), 40 (4): 1~6
- 王涌鑫,关宁,李聪(2008). 高效的苜蓿组织培养再生体系的建立. 东北师大学报(自然科学版), 40(3): 112~117
- 张谦,郑国锴(1995). 不同品种红豆草的组织培养与植株再生. 兰州大学学报(自然科学版), 31 (4): 145~149
- 张万军,王涛(2002). 紫花苜蓿愈伤成苗高频再生体系的建立及其影响因子的研究. 中国农业科学, 35 (12): 1579~1583
- 周键,孙建波,彭明(2008). 高等植物体细胞胚胎发生的研究进展. 中国农学通报, 24 (2): 129~133
- Cheliak WM, Klimaszewska K (1991). Genetic variation in somatic embryogenic response in open-pollinated families of black spruce. Theor Appl Genet, 82 (2): 185~190
- Somers DA, Samac DA, Olhoft PM (2003). Recent advances in legume transformation. Plant Physiol, 131: 892~899