

# 百合体细胞胚胎发生研究进展

石晋芳, 孙明, 孔瑾, 张启翔

(北京林业大学 园林学院, 国家花卉工程技术研究中心, 北京 100083)

**摘要:**通过对百合体细胞胚发生的方式、诱导胚性愈伤组织形成中的影响因素、培养条件和方式等方面进行总结概括, 并且对存在问题进行了分析, 为今后百合体细胞胚胎发生的相关研究提供参考依据。

**关键词:**百合; 体细胞胚; 胚性愈伤组织

**中图分类号:**S 682.2<sup>+</sup>9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2010)18-0215-05

植物组织培养中从各种器官、组织以及悬浮培养的细胞和原生质体都可以诱导形成不同于合子胚起源但是结构类似的培养物, 因此称为不定胚或胚状体, 而由体细胞诱导的胚状体称为体细胞胚胎, 简称体胚<sup>[1]</sup>。自1958年 Steward 和 Reinert 发现组织培养条件下胡萝卜根细胞形成了胚状体并长成完整的植株, 至今已有 100 余种植物成功地获得了体细胞胚, 并在一些珍稀树种上实现了体细胞工程育苗的产业化<sup>[2]</sup>。体细胞胚胎发生技术不仅使植物体的工厂化快繁成为现实, 而且是为研究高效基因转化受体系统建立、种质保存、突变体筛选、人工种子研制、单倍体育种、体细胞胚胎发生与发育机理等方面提供了可能<sup>[3-4]</sup>。

百合(*Lilium* Spp.) 属于百合科(Liliaceae)百合属(*Lilium*)多年生具地下鳞茎的草本植物。百合花朵硕大、花色艳丽、花姿百态、芳香怡人, 栽培及应用历史悠久<sup>[5]</sup>。千百年来深受我国各族人民和世界人民所喜爱, 研究百合体细胞胚胎发生机理, 对于百合工厂化快繁和转基因育种、突变体筛选、人工种子研制、单倍体育种等研究提供理论依据和实践意义。

## 1 百合体细胞胚发生途径

### 1.1 直接发生途径

直接发生途径是指从外植体某些部位直接诱导分化出体细胞胚。刘选明等<sup>[6]</sup>、杨柏云等<sup>[7]</sup>研究共同证明, 用四倍体龙牙百合鳞片叶作外植体通过直接体细胞胚发生方式产生小鳞茎。2002年, Nhut D T 等<sup>[8]</sup>利用

*L. longiflorum* 茎尖、假鳞茎薄层切片培养直接获得体胚。李筱帆<sup>[9]</sup>通过石蜡切片观察到了‘白天堂’体胚的发生阶段。

### 1.2 间接发生途径

间接发生途径是指外植体先发生脱分化形成愈伤组织后, 再从愈伤组织的某些细胞分化出体细胞胚。1997年, Tribulato A<sup>[10]</sup>用麝香百合‘Snow Queen’和东方百合‘Star Gazer’的花梗、花柱作为外植体; 杨柏云等<sup>[7]</sup>用四倍体龙牙百合鳞片叶作外植体; 王杰等<sup>[11]</sup>采用麝香百合(*L. longiflorum*) 无菌苗叶柄和叶片再生小鳞茎; Arzate-Fernández 等<sup>[12]</sup>利用 *Lilium longiflorum* 带有花药的花丝; Nhut D T 等<sup>[13]</sup>利用 *L. longiflorum* ‘Easter Lily’胚性愈伤组织; 柳玉晶等<sup>[14]</sup>用‘bernini’的花丝; Kerdra M 等<sup>[15]</sup>利用 *L. martagon* 以上均通过胚性愈伤组织的诱导, 间接得到了体胚。

研究者们只是发现了这 2 种体胚发生途径, 但是并未对 2 种途径进行深入的研究, 发现导致这 2 种途径的实质差别, 这是以后研究的一个重点, 从细胞学、组织学等方面研究 2 种途径的区别, 诱导效果的差别, 从而选择高效的途径, 提高诱导率、缩短诱导时间。

## 2 胚性愈伤组织的诱导及其影响因素

离体培养条件下影响体细胞胚发生的因素很多, 其内因主要是植物的基因型、外植体类型; 外因主要是激素种类及其浓度、其它添加物, 培养条件和培养方式等。

### 2.1 胚性愈伤组织与非胚性愈伤组织

在诱导愈伤组织的过程中, 及时正确地区分胚性愈伤组织与非胚性愈伤组织, 不仅能够减少工作量, 而且能够及时获得大量的体胚。刘选明等<sup>[16]</sup>进行细胞超微结构观察时认为器官发生型的胚性细胞呈圆形或近椭圆形, 排列较疏松, 细胞之间的大小差异。吴若菁等<sup>[17]</sup>认为愈伤组织较紧密, 形成胚状体多, 而愈伤组织较疏松时形成的胚状体少, 同时植株易产生玻璃化现象。柳玉晶等<sup>[14]</sup>认为黄色疏松的愈伤组织为胚性愈伤,

第一作者简介: 石晋芳(1986-), 女, 山西晋城人, 在读硕士, 研究方向为百合育种。E-mail: matilian950601@sina.com。

通讯作者: 张启翔(1956-), 男, 湖北黄冈人, 教授, 博士生导师, 现从事园林植物种质资源与创新的教学与研究。E-mail: zqx@bjfu.edu.cn。

基金项目: 国家林业局 948 重大资助项目(2006-4-C08); 北京林业大学科技创新计划资助项目(BLJD200910)。

收稿日期: 2010-06-21

而绿色致密的为非胚性愈伤。唐东芹等<sup>[18]</sup>认为胚性愈伤组织表现为颜色新鲜,色泽浅黄或黄色,质地较紧密,表面有颗粒状的小凸起。Mori S<sup>[43]</sup>认为黄色、疏松,表面光滑呈颗粒状的为胚性愈伤组织,Kedra M<sup>[15]</sup>认为黄色、致密、颗粒状的愈伤组织为胚性愈伤组织,更利于悬浮细胞系的建立,体细胞胚单独、疏松地与胚性愈伤连接,而直接产生的鳞茎则紧密地与愈伤组织连接。

目前为止,关于胚性愈伤组织的描述还不是完全一致,可能与外植体、培养条件、培养方式等有关。外植体颜色较深时,诱导出的胚性愈伤为绿色,反之为黄色;液体培养时可能为疏松状态,而固体培养则可能为致密的状态。对于胚性愈伤组织的鉴定还需要进一步的研究,只有通过细胞学、组织学的手段才能真正区别出胚性愈伤和非胚性愈伤组织。

## 2.2 影响胚性愈伤组织形成的因素

### 2.2.1 基因型及外植体

在百合体细胞胚诱导方面,不同的基因型差异很大。Haensch 等<sup>[19]</sup>将不同基因型的百合接种在含 2,4-D 或 Picloram 的 MS 培养基上,在 23 个杂种中,仅 4 种获得了体细胞胚。1997 年, Tribulato A 等<sup>[10]</sup>用麝香百合‘Snow Queen’和东方百合‘Star Gazer’的花梗、花柱得到体胚。Arzate-Fernández 等<sup>[12]</sup>利用 *L. longiflorum* 带花药的花丝间接诱导小鳞茎和根;王杰等<sup>[11]</sup>采用 *L. longiflorum* 无菌苗叶柄和叶片再生小鳞茎;Nhut D T 等<sup>[8]</sup>利用 *L. longiflorum* 茎尖培养得到了体胚。张艺萍等<sup>[21]</sup>利用东方百合‘Tiber’、‘Acapulco’、‘Siberia’的花丝、无菌幼叶、生长点等分别作为外植体均诱导出了胚性愈伤组织,其中,花丝和无菌苗叶片的诱导率均为 70% 以上,但生长点诱导率仅为 28.4%。间接诱导形成再生植株。Kedra M<sup>[15]</sup>通过 *L. martagon* 的种子试管内萌发形成的胚轴、鳞片等诱导出胚性愈伤组织,间接得到体胚。百合基因型差异较大,其中东方百合和麝香百合杂种系的体胚诱导已有报道,但亚洲百合杂种系还未见报道。外植体的生理状态也是影响诱导的重要因素。其中花丝、花梗、花托较为容易诱导出胚性愈伤组织。而外植体的影响因素是与其它因素交互在一起的。与其生理状态、发育阶段密切相关,还与激素的种类、浓度,培养方式,培养条件等一起起作用。因此,很难笼统地说哪种外植体容易诱导体胚或者哪种不容易。

### 2.2.2 常用激素或者添加剂及其适宜浓度

2,4-D: Arzate-Fernández 等<sup>[12]</sup>认为诱导胚性愈伤组织合适的 2,4-D 浓度为 4 mg/L,诱导率为 46%。刘选明等<sup>[16]</sup>认为 2,4-D 是龙牙百合体细胞胚发生的必要因素,与 2,4-D 的浓度和预培养浓度及时间有关。经过 2,4-D 预培养,转入无激素的培养基后,鳞片叶上于未形成愈伤组织处可以直接产生体细胞胚。而杨柏云等<sup>[7]</sup>研究认为 2,4-D

的浓度高于 3.0 mg/L 时,产生的愈伤组织多为非胚性的,不能进一步发育成体细胞胚,合适的胚性愈伤组织诱导浓度为 2 mg/L。施季森等<sup>[20]</sup>诱导‘Tiber’的愈伤组织在 MS 培养基添加 2,4-D 暗培养时,同时诱导出不定芽和体胚。2,4-D 在诱导胚状体中具有双重效应,它既能启动胚状体发生中胚胎蛋白合成的早期反应,又能阻止胚状体发育成熟过程中的必需蛋白质的进一步合成。报道中,不同品种所用的 2,4-D 浓度相差较大,可能还与基因型等有较大的关系。Picloram: 张艺萍等<sup>[21]</sup>诱导东方百合花器官时认为 Picloram 比 2,4-D 更有利于胚性愈伤组织的诱导,当 Picloram 的浓度为 2 mg/L 时获得了较好的胚性愈伤组织。Kedra M<sup>[15]</sup>认为单独使用 Picloram 或者配合 BA 诱导 *L. martagon* 的无菌苗的胚轴、鳞片均能得到黄色、颗粒状的胚性愈伤组织;姜新超等<sup>[22]</sup>认为利用 2 mg/L Picloram 诱导岷江百合试管鳞茎得到了结构疏松、有粘性、乳白色的愈伤组织,建立了理想的细胞悬浮系。Dicamba: Furini 和 Jewel<sup>[23-24]</sup>认为 Dicamba 是诱导棉花疏松的愈伤组织和体细胞胚合适的生长调节剂,Tribulato A 等<sup>[10]</sup>认为由 Dicamba 诱导的疏松愈伤组织比 Picloram 诱导的愈伤组织更白且产生少量的根,更适合悬浮细胞体系的建立,低浓度的 Dicamba 能都诱导出‘Snow Queen’和‘Star Gazer’疏松的愈伤组织适于诱导体胚。TDZ: 被认为是能诱导外植体从愈伤组织形成到体细胞胚胎发生的一系列不同反应,具有生长素和细胞分裂素双重作用的特殊功能<sup>[25]</sup>。‘Acapulco’的愈伤组织在含有 Picloram、TDZ 的培养基上长得较好,愈伤组织呈颗粒状,适宜作下一步悬浮培养,将 Picloram 2 mg/L+TDZ 0.03 mg/L 作为‘Acapulco’愈伤增殖培养基<sup>[21]</sup>;NAA 在配合任何浓度的 TDZ 使用的情况均可以产生疏松的愈伤组织,并且可以观察到体细胞胚发育过程,促进直接体胚的形成<sup>[8]</sup>。6-BA: 在诱导胚性愈伤组织植株再生时,6-BA 浓度较低时只有芽的分化而没有根的分化。Kedra M<sup>[15]</sup>认为 6-BA 与 Picloram 配合使用可以促进形成黄色、紧实颗粒状的愈伤组织,即为胚性愈伤组织。NAA: Nhut D T<sup>[26]</sup>认为 NAA 和 TDZ 或者 6-BA 的组合能够诱导出胚性愈伤组织及体细胞胚。Ho Chin-Wen<sup>[27]</sup>认为利用 0.1 mg/L 的 NAA 能够诱导出 *L. × formolongi* 绿色、易碎的愈伤组织从而形成体胚和再生植株。齐力旺等<sup>[28]</sup>在华北落叶松(*Larix principis × rupprechtii*) 胚性愈伤组织继代、增殖过程中,以 0.5 mg/L 的 NAA 代替 2,4-D 后,有利于体细胞胚的成熟和根发生。吴若菁<sup>[17]</sup>研究发现在培养基里单独添加 2,4-D 或 NAA 都能使外植体产生愈伤组织,进而分化形成胚状体。ABA: 霍妙娟等<sup>[29]</sup>研究认为 ABA 对改善愈伤组织的状态具有较好的作用。张艺萍等<sup>[21]</sup>认为 ABA 对胚性愈伤组织的诱导有促进作用。王

杰等<sup>[11]</sup>认为随着 ABA 浓度提高,对胚性愈伤组织的长势、干湿程度、增殖体积和增殖系数的抑制效果逐渐明显,但其浓度对胚性愈伤组织比例和颗粒性的影响效果不显著。Li L<sup>[30]</sup>认为 ABA 促进体细胞胚成熟的作用在单子叶植物上表现得比较明显。KT:吴若菁<sup>[17]</sup>认为 0.5 mg/L KT+0.2 mg/L 2,4-D 能够诱导大多数外植体均能产生致密的愈伤组织,并在愈伤组织表面或内部产生数量较多的球形期胚状体,但要让球形期胚状体继续沿正常途径发育下去,则需将其转移到仅添加 0.5~1.0 mg/L KT 的培养基中。Ho Hin-Wen<sup>[27]</sup>认为添加 KT 有助于提高体胚或者胚状体的再生率。许洁婷等<sup>[44]</sup>研究结果表明,由于 BA 浓度过高会抑制胚状体发生,并且会产生玻璃化现象,而 KT 与 NAA 配合使用能够达到较高的分辨率,在功能上能够取代 BA。

### 3 其它添加物

#### 3.1 氯化钴

王杰等<sup>[11]</sup>认为氯化钴对麝香百合胚性愈伤组织的长势、比例、颗粒形状、体积、增殖系数、干湿程度等方面有明显影响,其认为合适的氯化钴浓度为 0.05  $\mu\text{mol/L}$ 。Philosoph-Hadas 等<sup>[31]</sup>认为由于  $\text{Co}^{2+}$  的存在,乙烯不能干扰多胺的合成, $\text{Co}^{2+}$  可以通过促进多胺的合成而提高体细胞胚的发生频率。Merritt 等<sup>[32]</sup>则认为  $\text{Co}^{2+}$  作为一种直接的乙烯抑制剂,抑制了 ACC 循环中乙烯的产生。对于  $\text{Co}^{2+}$  影响胚性愈伤组织的机理,目前尚不清楚。

#### 3.2 蔗糖以及 N 源

王杰等<sup>[11]</sup>研究认为蔗糖对愈伤组织的影响作用是与光照条件交互存在的。在光照条件下,60 g/L 的蔗糖浓度对麝香百合胚性愈伤组织的比例和颗粒性都有较好的促进作用;而在暗培养条件下,30 g/L 的蔗糖效果要更好一些。Arzate-Fernández 等<sup>[12]</sup>认为相对较高的蔗糖浓度(90 g/L)和较低的 N 源以及暗培养有利于花丝胚性愈伤组织的形成。还原态氮是体细胞胚发生的一个重要因素。康玉庆等<sup>[33]</sup>认为通常 N 源由水解酪蛋白(CH)或氨基酸及其衍生物提供,精氨酸能使百合科植物体细胞胚体积比使用  $\text{NH}_4^+$  时增大 1 倍。

#### 3.3 活性炭(AC)

Mathews H Sinha<sup>[34-35]</sup>认为活性炭能够提高体胚发生率,Druart P<sup>[35]</sup>认为活性炭可能通过改变植物激素的比例从而影响植株再生。Zaghamount O M F<sup>[37]</sup>认为活性炭提高了 *Festuca rubra* 的愈伤组织再生体胚和植株的能力。

#### 3.4 LH

水解乳蛋白(Lactalbumin Hydrolysate,简称 LH),为乳白蛋白经蛋白酶和肽酶水解的产物,含有丰富的氨基酸,是常用的天然培养基,可用于许多细胞和原代细胞的培养。LH 中的还原性氮对胚状体或不定芽的分化

有良好的促进作用。柳玉晶等<sup>[14]</sup>认为利用花丝诱导胚性愈伤组织时 LH 的影响效果优于 6-BA。李筱帆<sup>[9]</sup>研究表明添加低浓度的 LH 是体胚发生的关键因素。在体胚间接诱导方面,6-BA 和 LH 的配合对胚性愈伤组织诱导分化体胚起着关键作用。

### 4 培养方式以及条件

据报道,影响体胚诱导的培养方式主要有液体培养、固体培养、薄层切片培养,而培养条件主要是指光照条件,pH、温度等对其的影响还未见报道。pH 一般为 5.8~6.0,温度一般为 20~25℃。

Priyadarshi 和 Sen<sup>[38]</sup>认为黑暗条件是愈伤组织形成的重要条件。Arzate-Fernández 等<sup>[12]</sup>认为外植体在黑暗条件下比光照条件更有利于胚性组织的形成;刘选明等<sup>[6]</sup>认为体胚发生采取二步培养法,弱光照或先暗培养然后光照培养。杨柏云等<sup>[7]</sup>认为光照强度为 2 000 lx,光照时间 12 h/d 的培养条件下直接和间接获得了体细胞胚;胡凤荣等<sup>[20]</sup>认为明暗培养是‘Tiber’的愈伤组织形成体胚的必要条件。张芝萍等<sup>[21]</sup>利用 3 个东方百合品种百合‘Acapulco’、‘Tiber’、‘Siberia’在全黑暗条件下的胚性愈伤出愈率在 70%以上;王杰等<sup>[11]</sup>认为麝香百合胚性愈伤组织在光培养条件下其体积增长和增殖系数为 12 级以上,比较暗培养条件下的 6 级高很多,结合较高的蔗糖浓度 60 g/L,观察到体细胞胚发育的各个阶段。

### 5 百合体细胞胚发生的应用前景

Skirvin R M 等<sup>[39]</sup>研究认为,百合体细胞胚发生的途径比其它器官的发生途径有很明显的优点,单细胞起源避免了植株再生过程中的嵌合体产生,另外即使经过长期的培养也有较高的再生效率<sup>[40]</sup>。百合上已有的研究成果表明,以胚状体为受体的遗传转化更容易成功。Mercari A 等<sup>[43]</sup>从 *L. longiflorum* ‘Snow Queen’的花梗和花托诱导出了胚性愈伤,成功转入了 rolabc 基因,培育出了转基因植株。Cohen 等<sup>[44]</sup>在建立百合基因枪法遗传转化体系时,将固体培养得到的胚性愈伤转入液体培养基中振荡培养,得到适宜转化的疏松胚性愈伤,其接受外源基因的能力比普通的愈伤组织要高 50~70 倍。但是百合胚状体的发生对培养条件要求较高,又不易直接识别,需要利用切片和扫描电镜等手段观察。

转基因受体系统基因型依赖性强,并且转入基因的稳定性是百合研究中急需解决的问题。体细胞胚胎是理想的外源基因受体,其细胞繁殖量大、转化率高、嵌合体少,无性系变异小。可以大幅度提高转基因的效率。

百合体细胞胚胎发生的研究报道还相对较少,虽然国内外都有报道已观察到体胚发生的过程,但是对于体胚发生的机理还不是很清楚,通过体胚产生实现工厂化快繁还存在一定的困难,为我们进行深入研究提供了可

能性和挑战。

百合体细胞胚胎诱导技术成熟后,可以用于基因转化、种植保存、人工种子研制、突变体筛选、单倍体育种等领域。可以结合生物反应器微体繁殖,2003年,廉美兰等<sup>[45]</sup>研究表明利用生物反应器进行百合小鳞茎快速繁殖比固体培养发生率高,通过胚性细胞的诱导,利用生物反应器进行工厂化繁殖是百合未来研究的一个重点。

### 参考文献

[1] 郑艳红,熊庆娥. 植物体细胞胚胎发生的研究进展[J]. 四川农业大学学报,2003,21(1):59-63.

[2] 闫红舟. 植物体细胞胚胎发生的研究进展[J]. 河北农业科学,2008,12(3):4-5.

[3] 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.

[4] 周丽依,曹静. 园艺植物体胚发生及植株再生技术研究[J]. 热带作物学报,1998,19(2):15-19.

[5] 龙雅直,张金政,张兰年. 百合—球根花卉之王[M]. 北京:金盾出版社,1999.

[6] 刘选明,周朴华,屈妹存,等. 百合鳞片叶离体诱导形成不定芽和体细胞胚[J]. 园艺学报,1997,24(4):353-358.

[7] 杨柏云,杨慧琴,蔡奇英,等. 龙牙百合体细胞胚的诱导及植株再生[J]. 南昌大学学报(理科版),2005,29(6):536-539.

[8] Nhut D T, Van Le B, Tri Minh N, et al. Somatic embryogenesis through pseudo-bulblet transverse thin cell layer of *Lilium longiflorum* [J]. Plant Growth Regulation,2002,37:193-198.

[9] 李筱帆. 几种百合组织培养及体细胞胚发生技术的研究[D]. 北京:北京林业大学,2009.

[10] Tribulato A, Remotti P C, Loffler H J M, et al. Somatic embryogenesis and plant regeneration in *Lilium longiflorum* Thunb [J]. Plant Cell Rep, 1997,17:113-118.

[11] 王杰,刘国锋,包满珠,等. 麝香百合胚性愈伤组织状态的调整与植株再生[J]. 园艺学报,2008,35(12):1795-1802.

[12] Arzate-Fernández A M, Nakazaki T, Okumoto Y. Efficient callus induction and plant regeneration from filaments with anther in lily (*Lilium longiflorum* Thunb.) [J]. Plant Cell Reports, 1997,16:836-840.

[13] Nhut D T, Minh Hanh N T. Liquid culture as a positive condition to induce and enhance quality and quantity of somatic embryogenesis of *Lilium longiflorum* [J]. Scientia Horticulturae, 2006,110:93-97.

[14] 柳玉晶,龚束芳,樊金萍. 百合愈伤组织的诱导及植株再生[J]. 东北农业大学学报,2007,638(3):352-355.

[15] Kedra M, Bach A. Morphogenesis of *Lilium martagon* L. explants in callus culture [J]. Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica, 2005,47(1):65-73.

[16] 刘选明. 百合鳞叶细胞形态发生中胚性细胞电镜观察[J]. 湖南农业大学学报,1997,223(1):31-35.

[17] 吴若菁,阮少宁,刘春,等. 百合胚状体形成途径及植株的再生研究[J]. 福建林学院学报,2003,23(4):322-325.

[18] 唐东芹,钱虹妹,黄丹枫,等. 百合基因转化胚性愈伤组织受体系统的建立[J]. 浙江林学院学报,2003,20(3):273-276.

[19] Haensch K T. Plant regeneration through somatic embryogenesis in different genotypes of *Lilium* hybrids [J]. Gartenbauwissenschaft, 1996,61,

214-218.

[20] 胡凤荣,席梦利,刘光欣,等. 东方百合的器官发生与体胚发生研究[J]. 南京林业大学学报(自然科学版),2007,331(2):5-8.

[21] 张芝萍,吴丽芳,吴学尉,等. 东方百合胚性愈伤组织诱导和植株再生研究[J]. 江西农业学报,2008,20(12):33-36.

[22] 姜新超. 岷江百合细胞悬浮培养及其植株再生[C]. 2009中国球根花卉年会交流论文集,17-20.

[23] Furini A, Jewell D C. Somatic embryogenesis and plant regeneration from immature and mature embryos of tropical and subtropical *Zea mays* L. genotypes [J]. Maydica, 1994,39:155-164.

[24] Furini A, Jewell D C. Somatic embryogenesis and plant regeneration of maize *tripsacum* hybrids [J]. Maydica, 1995,40:205-210.

[25] 徐晓峰,黄学林. TDZ:一种有效的植物生长调节剂[J]. 植物学通报,2003,20(2):227-237.

[26] Nhut D T, Bui V L, Fukai S T, et al. Effects of activated charcoal, explant size, explant position and sucrose concentration on plant and shoot regeneration of *Lilium longiflorum* via young [J]. Plant Growth Reg, 2001,33:59-65.

[27] Chin-Wen Ho, Wei-Ting Jian, Hui-Chun Lai. Plant regeneration via somatic embryogenesis from suspension cell cultures of *Lilium × formolongi* H. using a bioreactor system [J]. In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant, 2006(5):42:240-246.

[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):52-58.

[29] 霍妙娟,魏岳荣,胡家金. 脱落酸在植物体细胞胚胎发生中的调控作用[J]. 中国生物工程杂志,2007,27(11):92-98.

[30] Li L, Qu R. In vitro somatic embryogenesis in turf 2 type bermudagrass: Roles of abscisic acid and gibberellic acid, and occurrence of secondary somatic embryogenesis [J]. Plant Breed, 2002,121:155-158.

[31] Philosoph-Hadas S, Meir S, Rosenberger I, et al. Regulation of the gravitropic response and ethylene biosynthesis in gravistimulated snapdragon spikes by calcium chelators and ethylene inhibitors [J]. Plant Physiol, 1996,110:301-310.

[32] Merritt F, Kemper A, Tallman G. Inhibitors of ethylene synthesis inhibit auxin-induced stomatal opening in epidermis detached from leaves of *Vicia faba* L. [J]. Plant Cell Physiol, 2001,42:223-230.

[33] 康玉庆,张存金. 百合科植物组织培养中的体细胞胚发生[J]. 天津教育学院学报(自然科学版),1992(2):8-11.

[34] Mathews H, Schopke C, Carcamo R, et al. Improvement of somatic embryogenesis and plant recovery in cassava [J]. Plant Cell Rep, 1993,20(12):328-333.

[35] Sinha R K, Mallick R. Plantlets from somatic callus tissue of the wood legume *Sesbania bispinosa* (Jacq.) W. F. Wight [J]. Plant Cell Rep, 1991,13:247-250.

[36] Druart P, Wulf O. Activated charcoal catalyses sucrose hydrolysis during autoclaving [J]. Plant Cell Tissue Organ Cult, 1993,32:97-99.

[37] Zaghmount O M F, Torello W A. Enhance regeneration in long term callus cultures of red fescue by pre-treatment with activated charcoal [J]. HortScience, 1988,23:615-616.

[38] Priyadarshi S, Sen S. A revised scheme for mass propagation of Easter Lily [J]. Plant Cell Tissue Organ Cult, 1992,30:193-197.

[39] Skirvin R M, Norton M, McPheters K D. Somaclonal variation: has it proved useful for plant improvement [J]. Acta Hort, 1993,336:333-340.

# 芦笋花药培养的研究进展

陈海媛, 乜兰春, 张学英

(河北农业大学 园艺学院, 河北 保定 071000)

**摘要:** 该文综述了芦笋花药培养中材料的选择、培养基的种类及其添加物质、培养方法、再生植株染色体倍性等方面的国内外研究概况和进展。以期为这一领域的进一步研究提供参考。

**关键词:** 芦笋; 花药培养; 研究进展

**中图分类号:** S 644.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2010)18-0219-03

芦笋 (*Asparagus officinalis*, Linn) 学名石刁柏, 以嫩茎供食, 具有极高的营养保健价值, 有防癌、抗癌、预防和治疗高血压、心脏病的功效。是国际公认的抗癌食品, 享有“蔬菜之王”的美称。在日本、东南亚、欧美各国被视为高级营养保健蔬菜。

20 世纪 90 年代以来, 绿芦笋及其速冻产品在国际市场上长期处于供不应求的状况。发达国家消费需求逐年上升, 但由于土地和劳动力价格昂贵等因素, 栽培

面积却在减少。在这种形式下, 我国芦笋生产迅速发展。全国种植面积已超过 10 万 hm<sup>2</sup>, 为世界第一大芦笋生产国。

芦笋为雌雄异株植物, 雌株产量低, 雄株产量比同期同条件生长的雌株高 20%~30% 以上<sup>[4-6]</sup>, 而且雄株生长旺盛、品质好、产量高、寿命长、抗病性强, 因此, 培育全雄品种成为国内外芦笋育种的主要方向<sup>[5]</sup>。石刁柏的性别是由一对等位基因控制的, 雄性是 Mm, 雌性是 mm, 基因型是 MM 的雄性株被认为是超雄株。超雄株 (MM) 与雌株 (mm) 杂交, F<sub>1</sub> 代全是雄株 (Mm), 因此培育超雄株是全雄育种关键。花药培养是获得芦笋超雄株的重要途径之一<sup>[7]</sup>。

1972 年, Pelletier<sup>[7]</sup> 最早开展了石刁柏花药离体培养, 并从培养的花药中得到由花粉发育来的 n=10 的单倍性细胞团。同年, 日本人 Yakuwa 从芦笋花药再生的 6 棵植株中, 发现 2 棵雌株<sup>[7]</sup>。之后法国人 Dore<sup>[8]</sup> 利用

第一作者简介: 陈海媛 (1985-), 女, 在读硕士, 现从事蔬菜生理及分子生物学研究工作。

通讯作者: 乜兰春 (1966-), 女, 博士, 教授, 现主要从事蔬菜生理生态研究工作。

基金项目: 河北农业大学科学发展计划资助项目 (2007020); 唐山市科技攻关资助项目 (08120204A-7)。

收稿日期: 2010-06-21

[40] Vasil I K. Regeneration of plants from single cells of cereals and grasses. In: Lurquin PF, Kleinhofs A (eds) Genetic engineering in eucaryotes [M]. Plenum, New York, 1983: 233-252.

[41] Mercuri A, De Benedetti L, Bruna S, et al. Agrobacterium-mediated transformation with rol genes of *Lilium Longiflorum* T [C].

[42] Cohen A, Lipsky A, Arazi T, et al. Gera Bombardment-mediated transformation of ornithogalum dubium for ornithogalum mosaic virus resistance [C]. ISHS Acta Horticulturae 673: IX International Symposium on Flower

Bulbs.

[43] Mori S, Adachi Y, Horimoto S, et al. Callus formation and plant regeneration in various *Lilium* species and cultivars [J]. In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant, 2005, 41(6): 783-788.

[44] 许洁婷, 王月, 唐克轩, 等. 麝香百合花部组织离体培养与植株再生 [J]. 上海交通大学学报 (农业科学版), 2008, 26(1): 13-16.

[45] 廉美兰, 林炫春, 白基烽. 应用生物反应器扩繁 'Casa Blanca' 百合鳞茎 [J]. 园艺学报, 2003, 30(4): 479-481.

## Recent Advances in Lily Somatic Embryogenesis Occurrence

SHI Jin-fang, SUN Ming, KONG Ying, ZHANG Qi-xiang

(School of landscape Architecture, Beijing Forestry University, National Engineering Research Center for Floriculture, Beijing 100083)

**Abstract:** A Summary had been done in the following areas. The methods of Lily somatic embryogenesis occurrence, influence factors of induction of embryogenic callus, culture conditions and modalities, And an analysis had been made of existing problems. It can provide a theoretical basis for the future somatic embryogenesis related research.

**Key words:** Lily; somatic embryogenesis; embryogenic callus