

# 不同粳稻品种成熟胚诱导过程愈伤组织超微结构的比较

阎丽娜<sup>1,2</sup>, 李霞<sup>1</sup>

(1 江苏省农业科学院粮食作物研究所, 江苏省优质水稻工程技术研究中心, 江苏 南京 210014)

(2 南京农业大学生命科学学院, 江苏 南京 210095)

[摘要] 以 3 种粳稻成熟胚为外植体, 接种于愈伤组织诱导培养基 (M8 + 30 g/L 蔗糖 + 10 g/L 琼脂 + 5 g/L 山梨醇 + 2 mg/L 2, 4-D + 0.3 mg/L 6-BA), 记录其愈伤组织的出愈率, 统计分析表明其出愈率有显著差异, 并分别取接种 15 d、22 d、29 d 和 36 d 时不同材料的愈伤组织观察其不同诱导天数下超微结构的变化。结果显示, 3 种水稻材料在相同的诱导时间下细胞的发育阶段不同: 扬辐粳 7 号的愈伤组织的细胞发育较快, 较早的进入了成熟阶段; 而武育粳 3 号愈伤组织的细胞则发育较慢, 较长时间仍然处于分生阶段; 苏沪香粳则发育更慢。由此推测, 不同粳稻出愈率和分化的高低主要与愈伤组织细胞发育速度的快慢、生理功能的强弱、以及其衰老的程度有密切关系。

[关键词] 粳稻, 成熟胚, 愈伤组织, 超微结构

[中图分类号] S511 [文献标识码] A [文章编号] 1001-4616(2009)04-0103-07

## Comparison of Ultrastructure of Callus During Induction of Japonica Rice Plants

Yan Lina<sup>1,2</sup>, Li Xia<sup>1</sup>

(1. Institute of Food Crop, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Jiangsu High Quality Rice R&D Center, Nanjing 210014, China)

(2. College of Life Science, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

**Abstract** Mature embryos from 3 Japonica rice varieties as explants were inoculated in induction medium (M8 + 30 g/L Sucrose + 10 g/L Agar + 5 g/L Sorbitol + 2 mg/L 2, 4-D + 0.3 mg/L 6-BA), and the callus inductivities of these materials were different significantly at 0.05 or 0.01 level respectively. At the same time, the callus incubated at 15, 22, 29 and 36 d respectively were observed by transmission electron microscope. The results showed that these rice materials developed differently at the same induction period. The callus cells of Yangfujing 7 developed faster to mature stage. While those in Wuyujing 3 were relatively slower, still keeping glucose metabolism for a long time. However the development of Suhuxiangjing at the same period was slowest. These performances in callus ultrastructure were also consistent with the changes of different inductivities in these varieties. It suggested that the callus inductivities in Japonica rice have close relation with cell development rate, physiological function and senescence as well.

**Key words** Japonica rice, mature embryo, callus tissue, ultrastructure

水稻 (*Oryza sativa* L.) 是世界上重要的粮食作物之一, 种植面积广, 需求量大, 进行水稻品种改良, 提高其抗性、产量和品质有着重要的意义。采用转基因工程, 将外源基因导入水稻, 丰富水稻的基因型, 培育优质、高产、多抗新品种是现代水稻育种的发展方向<sup>[1-3]</sup>。

利用水稻成熟胚进行组织培养具有材料来源广, 取材不受季节和地理环境限制, 而且接种操作方便, 不易染菌等优点, 因而被很多水稻生物技术专家使用。但是关于已有粳稻成熟胚组织培养的材料, 多是易于实验室操作的品种, 如中花系列等, 而真正实际生产上主推的粳稻品种成功的报道不多, 而且出愈率也

收稿日期: 2009-04-23

基金项目: 国家自然科学基金 (30871459)、江苏省农业科技创新基金 (CX[07]603)、江苏省农业科学院基金 (6510707, 6110704) 资助项目。

通讯联系人: 李霞, 博士, 副研究员, 研究方向: 水稻高光效生理育种。E-mail: jspk@jaas.ac.cn

不高,且成熟胚再生技术对基因型依赖程度很高<sup>[46]</sup>。因此,揭示出愈率不同的水稻品种愈伤诱导的生理过程将对在生产上有重要价值和影响的栽培水稻的改良具有很强的实践意义。

愈伤组织诱导是水稻组织培养的最关键步骤,而且对分离原生质体、植株的再生及种质选育均有广泛的应用价值<sup>[7]</sup>,现在报道的粳稻成熟胚诱导主要侧重在对外源不同理化因子和激素的调优,从而达到较高的出愈率<sup>[8]</sup>。但是对于造成不同水稻材料出愈率差异的内在原因研究并不多。为此本文以 3 种出愈率不同的粳稻成熟胚作为外植体,观察其不同诱导时期的愈伤组织细胞超微结构的变化,探讨出愈率不同的粳稻成熟胚诱导过程中细胞超微结构的差异,试图探索其细胞发育和分化的规律性,从而为胚性细胞分化机理的揭示提供信息,并为粳稻组织培养中最适培养基的筛选提供帮助和依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

本研究选取扬辐粳 7 号、武育粳 3 号和苏沪香粳 3 种在江苏种植和选育的粳稻 (*Japonica*) 为研究材料。研究于 2008 年 1 月至 12 月在江苏省农业科学院粮食作物研究所水稻光合生理研究室内进行。

### 1.2 愈伤组织的诱导与培养

将 3 种粳稻的成熟种子去壳,经 75% 乙醇处理 5 min,用 0.1% 氯化汞溶液浸泡 15 min,再用无菌水漂洗 4~5 次,于 28 ± 2℃ 培养过夜,次日再用 75% 乙醇处理 5 min,之后用 0.1% 氯化汞溶液浸泡 5 min,再用无菌水漂洗 4~5 次。将消毒的稻种分别接种在愈伤组织诱导培养基上,28℃ ± 2℃ 黑暗条件下培养不同的天数,设置 2 组。一组分别在接种后 15 d、22 d、29 d 和 36 d 取诱导出的大小、生长状态一致的愈伤组织,经过固定后,保存于 4℃ 冰箱中,统一供透射电镜观察。另一组用于统计出愈率,36 d 后,将诱导的愈伤转入分化培养基中,28 ± 2℃ 光照培养 7 d 后,统计褐化率和绿苗分化率。实验重复 3 次。

愈伤组织诱导培养基: M8 + 30 g/L 蔗糖 + 10 g/L 琼脂 + 5 g/L 山梨醇 + 2 mg/L 2,4-D + 0.3 mg/L 6-BA。

愈伤组织分化培养基: MS + 30 g/L 蔗糖 + 8 g/L 琼脂 + 0.5 mg/L 2,4-D + 1 mg/L 6-BA + 1 mg/L 活性炭。

### 1.3 愈伤组织细胞的电镜制备

将愈伤组织从培养基中取出后,立即投入到预冷的 2.5% (pH 7.2) 戊二醛中进行抽气固定,2 h 后用锋利刀片切取愈伤组织的外部(大约 0.1 cm 厚),然后再次投入到预冷的 2.5% (pH 7.2) 戊二醛中进行抽气固定,然后将愈伤切片投入到有新的戊二醛溶液的 EP 管中,保存于 4℃ 冰箱,待样品全部取到后,统一供透射电镜观察。

样品全部取到后,用 0.1 mol/L 磷酸缓冲液漂洗 3 次;再经梯度浓度丙酮脱水;环氧树脂浸透和包埋,聚合成包埋块后在超薄切片机上切成 50~70 nm 的切片,醋酸双氧铀和柠檬酸双重染色,于南京农业大学生命科学学院实验中心电镜室日立 H-7650 透射电子显微镜下观察、摄影并记录<sup>[9]</sup>。

### 1.4 数据分析

愈伤组织诱导率 = (产生的愈伤组织米粒数 / 接种的米粒数) × 100%,

绿苗分化率 = (分化绿苗的愈伤组织块数 / 转移的愈伤组织块数) × 100%,

显著性差异分析使用了统计软件 SPASS17.0 进行 ANOVA。

## 2 结果与分析

### 2.1 3 种粳稻愈伤组织 36 d 后的愈伤诱导率

将 3 种粳稻的成熟种子接种于同一诱导培养基上,设置 2 组,其中一组用于计算品种の出愈率。利用 ANOVA 进行统计分析,发现 3 种粳稻品种の出愈率存在极显著差异,如表 1 所示是 36 d 时 3 个品种の出愈率。

表 1 3 种粳稻品种 36 d 后的愈伤诱导率

Table 1 Callus induction frequency of three varieties after 36 days

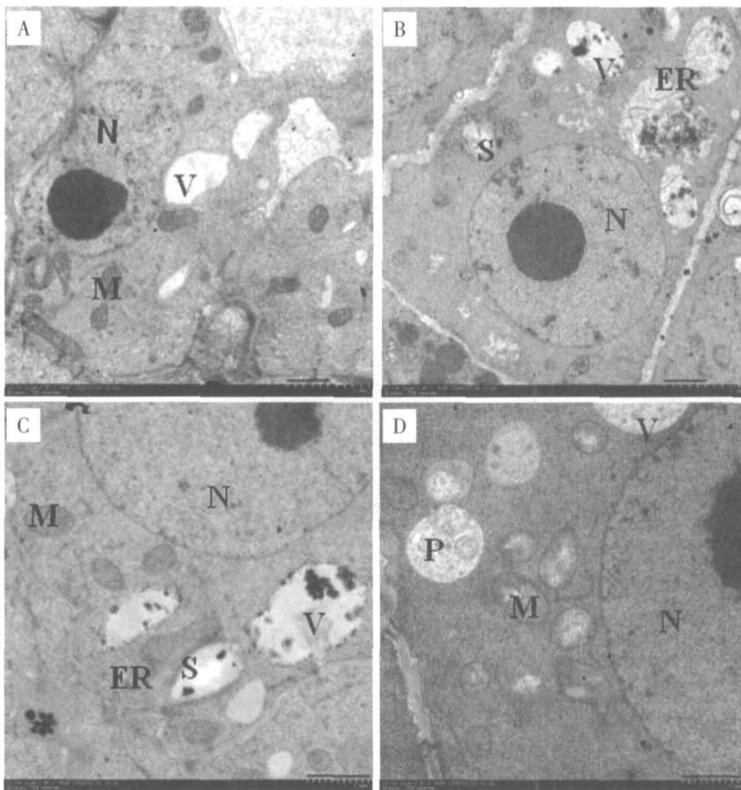
材料名称	接种粒数	出愈总数	总出愈率 /%
扬辐粳 7 号	120	107	89.2 <sup>c</sup>
武育粳 3 号	120	106	88.3 <sup>b</sup>
苏沪香粳	108	14	13.0 <sup>a</sup>

注: A~C 和 a~c 分别表示 3 个粳稻品种在同一培养基上出愈率的显著性差异分析。其中, A~C 表示极显著 ( $P < 0.01$ ), a~c 表示显著 ( $P < 0.05$ )。

## 2.2 3种粳稻不同诱导天数愈伤组织细胞超微结构的变化

### 2.2.1 扬辐粳7号不同诱导天数愈伤组织细胞超微结构的变化

扬辐粳7号的成熟胚接种15d时,开始诱导出愈伤组织,从图1A可见此时细胞壁不明显,还没有发育完全.整个细胞形状不规则,液泡较大,将细胞核挤到细胞的一侧.线粒体很多,大多数靠近细胞核,可以清楚的看到嵴,说明它已经进入了较强的分化阶段,需要能量多(图1A).到了第22d(图1B),细胞壁已经形成,整个细胞也变得规则,细胞核变圆,并可看到内质网与细胞核、线粒体等形成发达网状内膜系统,表明此阶段不仅生长旺盛,而且生理功能也趋于完善,内质网依靠线粒体提供能量合成成熟细胞所需的蛋白质和脂类等大分子,开始出现少量的单粒淀粉粒,表明糖代谢功能已具备.到诱导29d时,淀粉粒小,数量也很少,线粒体很多,但是已经开始解体,液泡较小,中间有少量黑色物质聚集,液泡可以吞噬这些氧化物质,这些黑色的氧化物质也是导致愈伤组织褐化的原因<sup>[10,11]</sup>(图1C).到接种36d时,细胞仍然呈现规则形状,细胞核呈圆形,线粒体数量较多,但是有的已经开始解体,嵴消失,形状开始拉长,变得不规则.液泡很小.有少量的单粒淀粉粒存在,而且观察到原质体的出现,它是叶绿体的前体(图1D).这是分生细胞向成熟细胞分化的标志.



M.线粒体,N.细胞核,S.淀粉粒,V.液泡,ER.内质网,P.原质体

A、B、C、D:分别表示在基本培养基中培养15、22、29和36d时的愈伤组织细胞结构

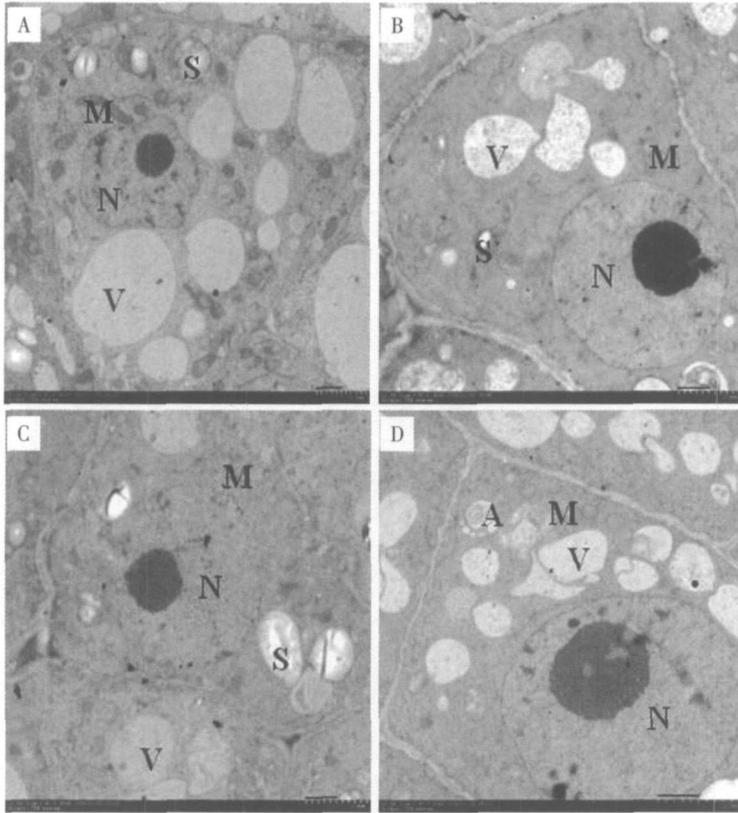
图1 扬辐粳7号愈伤组织的透射电镜观察(标尺为10 μm)

Fig.1 Transmission electron microscopic observation on callus of Yangfujing 7(the bar in the picture represents 10 μm)

### 2.2.2 武育粳3号不同诱导天数愈伤组织细胞超微结构的变化

武育粳3号的成熟胚接种15d时也诱导出愈伤组织,与扬辐粳7号类似,此时它的整个细胞发育没有完成,没有细胞壁,细胞呈不规则形状.同时也出现较多可见嵴的线粒体,液泡较大,但是所不同的是该时期出现了有少量的淀粉粒,表明其糖代谢功能已呈现(图2A).随着诱导时间的增加,细胞壁也形成,整个细胞和细胞核形状逐渐规则,仍有少量的淀粉粒存在,淀粉粒呈圆形.液泡相对较大,其边缘有很多黑色物质聚集,看来水稻在离体培养中产生的有毒的氧化物质都在3周左右累积,因此已报道的粳稻组织培养继代和分化的最佳时期不能超过3周,否则愈伤组织就容易褐化,分化率低,甚至死亡,由此看来,其再生技术的研究和其生育阶段密切相关(图2B).该时期也看到较多的、椭圆形、清晰嵴的线粒体,但是没有看到与蛋白和脂类合成相关的其他细胞器,可见,武育粳3号的发育阶段与扬辐粳7号的发育阶段还是有所

不同的. 29 d 时, 规则完整的细胞内, 有圆形细胞核, 占较大比例. 有趣的是该时期有明显大量单粒淀粉粒存在, 这是与扬辐粳 7 号不同的显著特征, 线粒体数量较少, 有的已经开始解体, 看来此时旺盛的糖代谢与线粒体的发育不同步, 出现了明显的能量过剩 (图 2C). 到愈伤组织诱导的 36 d, 整个细胞形状规则, 细胞核呈圆形, 有少量的淀粉粒存在, 单个淀粉粒较小, 形状呈椭圆形. 同时, 也存在少量造粉体, 它是一种储存碳水化合物的细胞器, 表明细胞也已经进入分化时期 (图 2D).



M. 线粒体, N. 细胞核, S. 淀粉粒, V. 液泡, ER. 内质网, A. 造粉体

A, B, C, D: 分别表示在基本培养基中培养 15、22、29 和 36 d 时的愈伤组织细胞结构

图 2 武育粳 3 号愈伤组织的透射电镜观察(标尺为 10 μm)

Fig.2 Transmission electron microscopic observation on callus of Wuyujing 3(the bar in the picture represents 10 μm)

图 3 是 3 种粳稻不同时间的出愈率的变化情况. 整体上来看, 扬辐粳 7 号的出愈率最高, 但是在 22 d 前后, 武育粳 3 号的出愈率 (62.5%) 高于扬辐粳 7 号 (55.6%). 而苏沪香粳的出愈率至始至终是最低的.

36 d 时将诱导产生的愈伤转入同一分化培养基中 (MS+30 g/L 蔗糖 + 8 g/L 琼脂 + 0.5 mg/L 2,4-D + 1 mg/L 6-BA + 1 mg/L 活性炭), 比较扬辐粳 7 号和武育粳 3 号的分化情况发现, 扬辐粳 7 号的分化率 (67%) 要高于武育粳 3 号的分化率 (52%) 和苏沪香粳的分化率 (54%). 结合超微结构的观察情况, 扬辐粳 7 号在诱导 29 d 时, 愈伤组织细胞的液泡中出现了少量引起褐化的黑色的氧化物质, 武育粳 3 号在 22 d 时已经观察到了这种现象, 而苏沪香粳直到 36 d 才观察到了这种黑色的氧化物质. 由此推测, 愈伤组织细胞内产生的这种可能导致褐化的氧化物质以及其出现的时间, 对愈伤组织的发育产生了一定的影响, 但是对其后的分化影响不大. 由此看来, 愈伤组织细胞的旺盛发育才是直接影响其后分化率高低的关键.

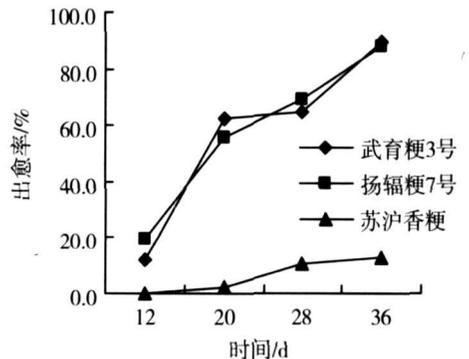


图 3 3 种粳稻不同时间内的出愈率

Fig.3 The inductivities of callus of three varieties in different time

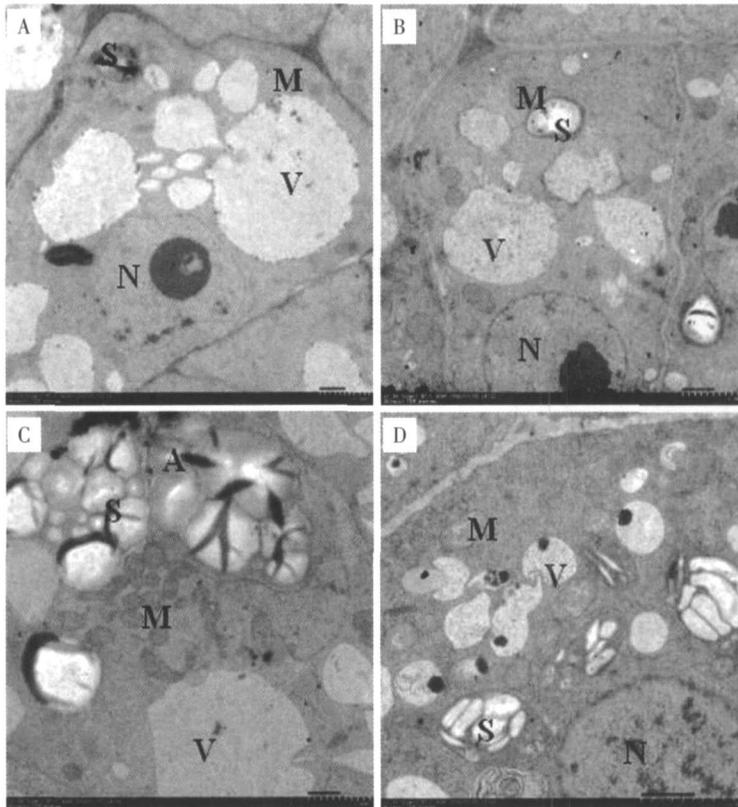
表 2 同一分化培养基上 3种粳稻愈伤组织的绿苗分化率

Table 2 Callus differentiation rate of three varieties on the same differentiation medium

材料名称	转入的愈伤数	分化的绿苗数	绿苗分化率 %
扬辐粳 7号	60	40	67
武育粳 3号	60	31	52
苏沪香粳	56	30	54

2.2.3 苏沪香粳不同诱导天数愈伤组织细胞

苏沪香粳的成熟胚接种 15 d时,整个细胞形状规则,细胞核较圆,有淀粉粒少量存在,单粒的淀粉粒较大较分散.线粒体不清晰,个体小,呈圆形,数目少,线粒体发育较迟(图 3A).到了接种 22 d时,整个细胞形状规则,细胞核呈圆形,淀粉粒仍不多,呈椭圆形,此时线粒体才开始发育完全,有很多清晰可辨的线粒体,可以清楚地看到嵴,并出现了较小的高尔基体.这些高尔基体与液泡邻近,可能与液泡的合成有关,可见液泡发育也较迟(图 3B).看来直到接种 22 d 它可能尚处在细胞器合成阶段,可见出愈率比扬辐粳 7 号和武育粳 3号明显低的苏沪香粳愈伤组织的发育较迟.到 29 d 整个细胞仍呈规则形状,细胞核呈圆形,变化不大,淀粉粒大量存在,而且每个淀粉粒都很大,聚集在一起,形成了造淀粉体,线粒体多而发达,清晰可辨,可以清楚的看到嵴,说明此时细胞才进入旺盛的分生阶段,但是由于其生理活动的能力不强,利用率不高,因此,出现了很多能量的贮藏形式并制造淀粉体,液泡也较小,功能还不完全(图 3C).到 36 d 整个细胞仍呈规则形状,变化不大,细胞核圆而大,仍有淀粉大量存在,每个淀粉粒比之前小一些,聚集在一起.线粒体很少,大部分开始解体,液泡仍然多而小,中央也有黑色物质聚集,其内分泌的氧化物质在此时才出现(图 3D).



M.线粒体,N.细胞核,S.淀粉粒,V.液泡,ER.内质网,A.造粉体

A、B、C、D:分别表示在基本培养基中培养 15、22、29 和 36 d 时的愈伤组织细胞结构

图 4 苏沪香粳愈伤组织的透射电镜观察(标尺为 10 μm)

Fig.4 Transmission electron microscopic observation on callus of Suhuxiangjing(the bar in the picture represents 10 μm)

总之, 3种品种的愈伤组织细胞比起来,扬辐粳 7号发育最快,最早成熟,生理功能最强,衰老较慢,出愈率高;武育粳 3号居中;苏沪香粳发育慢,成熟晚,生理功能弱,出愈率低.

### 2.3 3种粳稻愈伤组织褐化率的比较

36 d后,将诱导的愈伤转入同一分化培养基中,28 ±2℃光照培养 7 d后观察它们的褐化情况,统计褐化率,利用 ANOVA 进行统计分析.在相同分化培养基上,不同品种粳稻愈伤组织之间的褐化率差异极显著.其中武育粳 3号的褐化率最低(为 0),其次是扬辐粳 7号(8.3%),苏沪香粳最高(12.5%).将 3个品种的褐化率与愈伤组织细胞中液泡内氧化物最多时进行比较发现,氧化物最多最集中的时间依次为 22 d(武育粳 3号)、29 d(扬辐粳 7号)和 36 d(苏沪香粳),这说明并不是细胞内黑色的氧化物出现集中的情况越早褐化率就越高,事实上我们观察到的是液泡中出现氧化物最早的武育粳 3号褐化率最低,而最晚出现氧化物的苏沪香粳褐化率最高.由此我们推测,水稻愈伤组织褐化不仅与黑色氧化物的出现迟早有关系,更重要的是与液泡的吞噬和消化能力的强弱有很大的关系.液泡的发育越早,吞噬能力越强,就越能较早的吞噬细胞内的有害物质,进而将其消化,如武育粳 3号;而吞噬和消化能力较弱的苏沪香粳细胞的液泡,由于其不能及时的清除细胞内的有害物质,而最终导致较多的褐化;扬辐粳 7号的情况则居中,可见,供试水稻愈伤组织褐化率差异也是与愈伤组织中液泡的发育密切相关.

### 3 讨论与结论

在水稻组织培养中,常用水稻成熟胚作为外植体接种到诱导培养基中,经过细胞脱分化诱导愈伤组织;由愈伤组织分化培养再产生芽和根,从而形成完整的植株.其中,诱导出胚性愈伤非常关键.但在水稻组织培养愈伤诱导过程中常会出现愈伤组织诱导率低和褐化等问题.因此如何调控细胞的生长和发育,寻找其内在的规律性,以便采取更有效的措施去解决生产实际问题无疑是十分重要的<sup>[12]</sup>.探讨水稻愈伤细胞诱导过程中不同发育阶段的细胞超微结构的差异,这对选择最适的培养条件以及研究体细胞的遗传特性有相当重要的意义.

以往一些关于植物愈伤超微结构的研究,多是对某个植物品种的胚性愈伤和非胚性愈伤进行对比观察<sup>[12-14]</sup>.与以往研究不同,本文选择了 3种出愈率不同的粳稻材料对其不同诱导过程中愈伤组织的变化进行系统的观察研究,结果表明:扬辐粳 7号、武育粳 3号和苏沪香粳成熟胚诱导的愈伤超微结构看,其变化都遵循细胞发育的规律,最明显地观察到愈伤组织中线粒体由少到多,再由多到少.但是在相同的诱导时间,3个品种的愈伤组织细胞的发育阶段则不同.如扬辐粳 7号的愈伤组织的细胞发育较快,较早的进入了成熟阶段,而武育粳 3号愈伤组织的细胞则发育较慢,较长时间仍然处于分生阶段.苏沪香粳则发育更慢.其中线粒体的发育和数量对愈伤的诱导有密切关系,如出愈率较高的扬辐粳 7号和武育粳 3号在诱导的初期,胚性细胞中线粒体含量丰富、内嵴发达,呼吸率强,表明细胞处于十分活跃状态,为进一步分裂和蛋白质等生理功能的完善贮备了丰富的能量;同时胚性细胞中质体开始积累淀粉,淀粉在提供能量和营养方面起重要作用,而且较强的生理功能也为胚性细胞的进一步分化提供结构基础,其中分化率也较高的扬辐粳 7号在诱导 36 d还出现了包含淀粉的质体,推测淀粉的出现与胚胎发生潜能的实现密切相关<sup>[15]</sup>,出愈率低的苏沪香粳则相反.而且在 3个品种愈伤发育的后期,液泡的发育情况,以及液泡对内分泌黑色物质吞噬和消化作用的强弱,与水稻的褐化率的高低也有直接的关系.

基因型不同导致愈伤组织细胞形成的差异的可能原因主要是品种间内源激素浓度和比例不同,以及对同一种培养基表现出不同的敏感性.而不同品种不同时间内的内源激素的变化可能进一步影响了不同粳稻品种愈伤细胞结构的变化.李雪梅等<sup>[16]</sup>研究认为高水平的内源 ABA 与胚性能力的启动和表达有关.王秀红等<sup>[17]</sup>研究发现内源 IAA 与诱导率存在正效应,即出愈率高的基因型和外植体,其内源生长素含量也较高.因此推测内源生长素含量的高低与体细胞诱导脱分化的难易有关.出愈率高的基因型或外植体,其内源 Z+ZR 含量则较低;而绿苗分化率高,则愈伤组织中内源 Z+ZR 含量也高.本文的相同激素培养基中不同粳稻品种出愈率的高低与基因型发育的快慢密切相关,推测可能与内源生长素类高低有关.究竟内

表 3 同一分化培养基上 3种粳稻愈伤组织的褐化率

Table 3 Callus browning rate of three varieties on the same differentiation medium

材料名称	转入的愈伤数	褐化的愈伤数	褐化率 /%
扬辐粳 7号	60	5	8.3 <sup>b</sup>
武育粳 3号	60	0	0 <sup>a</sup>
苏沪香粳	56	7	12.5 <sup>c</sup>

注: A~C 和 a~c 分别表示 3个粳稻品种在同一培养基上出愈率的显著性差异分析.其中, A~C 表示极显著 ( $P < 0.01$ ), a~c 表示显著 ( $P < 0.05$ ).

源激素的含量是如何影响愈伤细胞结构以及出愈率变化的,这些还有待我们进一步研究.

可见,水稻愈伤组织细胞发育速度的快慢,生理功能的强弱,以及其衰老的程度与水稻出愈率的高低有着密切的关系.如何通过外源激素或培养条件的调优,使发育迟缓的水稻品种尽早发育或者使不同水稻材料发育同步化可能是提高水稻出愈和分化的关键,也将是未来研制适应性广的水稻成熟胚再生技术的重要内容之一.

### [参考文献]

- [ 1 ] Ye X, Al-Babili S, Kloti A, et al Engineering the provitamin A ( $\beta$ -carotene) biosynthetic pathway into (carotenoid-free) rice endosperm [ J ]. Science, 2000, 287: 303-305
- [ 2 ] Kyungsun Lee, Hyeung Jeon, Minkyun Kim. Optimization of a mature embryo-based in vitro culture system for high-frequency somatic embryogenic callus induction and plant regeneration from *Japonica* rice cultivars [ J ]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 2002, 71: 237-244
- [ 3 ] 胡燕,李仕贵.重穗型恢复系蜀恢 527成熟胚高频率植株再生及其基因转化的研究 [ J ].西南农业学报, 2008, 21(2): 262-266
- [ 4 ] 李霞,陈婷,周月兰.粳籼稻成熟胚愈伤组织培养力的比较 [ J ].南京师大学报:自然科学版, 2005, 28(4): 103-108
- [ 5 ] 李霞,阎丽娜,周月兰.不同理化因子对苏沪香粳成熟胚愈伤组织诱导的影响 [ J ].江苏农业学报, 2008, 24(增刊): 40-44
- [ 6 ] Li Xia, Yan Lina, Chen Ting, et al. The comparison in tissue culture ability from mature embryo in *indica* and *Japonica* rice cultivars [ J ]. Journal of Natural Science Nanjing Normal University, 2008, 10(2): 27-32
- [ 7 ] 宋春风,孙大业,张玉英,等.白芷愈伤组织的电镜制样技术及超微结构观察 [ J ].河北师范大学学报:自然科学版, 1998, 22(3): 396-398
- [ 8 ] 郝文媛,王丕武,林秀峰,等.粳稻成熟胚高频率再生因素的研究 [ J ].吉林农业科学, 2006, 31(4): 30-33
- [ 9 ] 王超,李霞.高光强下转玉米 PEPC 基因水稻和未转基因水稻秧苗叶片超微结构的比较 [ J ].华北农学报, 2007, 22(4): 99-103
- [ 10 ] 曹昆,李霞.木本植物组织培养不定芽诱导研究进展 [ J ].江苏林业科技, 2008, 35(5): 43-48
- [ 11 ] 邹英宁,吴强盛.果树组织培养中褐变现象及其抑制研究进展 [ J ].长江大学学报:自然科学版, 2007, 4(3): 47-49
- [ 12 ] 陈德海,潘文兰,杨涛.草莓组织培养细胞发育过程的电镜观察 [ J ].厦门大学学报:自然科学版, 1999, 38(6): 918-923
- [ 13 ] 陈颖,曹福亮,甘习华.不同状态银杏愈伤组织蛋白质电泳分析及电镜观察 [ J ].西北植物学报, 2006, 26(11): 2239-2243
- [ 14 ] 杨涛,陈德海,吴荔萍.安祖花组织培养及其细胞和叶绿体发育过程的电镜观察 [ J ].亚热带植物通讯, 1998, 27(1): 1-7
- [ 15 ] 王亚馥,崔凯容,汪丽虹,等.小麦体细胞胚发生的超微结构研究 [ J ].植物学报, 1994, 36(6): 418-422
- [ 16 ] 李雪梅,刘熔山.小麦幼穗胚性愈伤组织诱导及分化过程中内源激素的作用 [ J ].植物生理学通讯, 1994, 30(4): 255-260
- [ 17 ] 王秀红,史向远,吴先军,等.内源激素对水稻不同外植体培养力的影响 [ J ].中国农业科学, 2004, 37(12): 1819-1823

[责任编辑:孙德泉]