园 艺 学 报 2012，39（2）：381－386
Acta Horticulturae Sinica
http: // www. ahs. ac. cn
E-mail: yuanyixuebao@126.com

朱顶红体细胞胚胎发生及植株再生研究

龚雪琴[1]，由翠荣[1]，曲复宁[1,*]，陈礼学[1]，于文胜[2]，解晓旭[2]
（[1]烟台大学生命科学学院，山东烟台 264005；[2]烟台市园林管理处，山东烟台 264000）

摘　要：通过诱导朱顶红（*Hippeastrum hybridum*）小鳞茎形成胚性愈伤组织，建立间接的体细胞胚胎发生途径和植株再生的无性繁殖体系。试验结果表明，0.5 mg · L^{-1} 的 2,4-D 附加 0.5 mg · L^{-1} 6-BA 对试管小鳞茎外植体初代胚性愈伤组织的诱导和继代增殖有明显的促进作用，初培养松脆愈伤组织诱导率可达 83.3%。2.5 ~ 5.0 mg · L^{-1} 的 6-BA 对体细胞胚胎的发育有显著的促进作用，培养 50 d 大于 20 个体细胞胚发生的愈伤组织约为 50%；相同浓度 6-BA 附加不同浓度 NAA 的试验组间体细胞胚发育无明显差异。

关键词：朱顶红；体细胞胚胎发生；胚性愈伤组织
中图分类号：S 682.2+5　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：0513-353X（2012）02-0381-06

Somatic Embryogenesis and Plant Regeneration in *Hippeastrum hybridum*

GONG Xue-qin[1]，YOU Cui-rong[1]，QU Fu-ning[1,*]，CHEN Li-xue[1]，YU Wen-sheng[2]，and XIE Xiao-xu[2]
（[1]*College of Life Science*，*Yantai University*，*Yantai*，*Shandong* 264005，*China*；[2]*Garden Management Department of Yantai*，*Yantai*，*Shandong* 264000，*China*）

Abstract：An effective micropropagation system via callus-mediated（indirect）somatic embryogenesis was established，using *in vitro* bulblets as explants in *Hippeastrum hybridum*. The results showed that 2,4-D（0.5 mg · L^{-1}）and 6-BA（0.5 mg · L^{-1}）had important role in inducing embryogenic callus from *in vitro* bulblets and in multiplication of callus during sub-cultures. The percentage of friable callus formation was 83.3% in primary culture. The 6-BA（2.5－5.0 mg · L^{-1}）had a notable effect on development of somatic embryos. The rate of callus with more than twenty somatic embryos was about 50% for 50 days. Development of somatic embryos had no difference on the same 6-BA media supplemented with different concentrations of NAA.

Key words：*Hippeastrum hybridum*；somatic embryogenesis；embryogenic callus

朱顶红（*Hippeastrum*），亦称孤挺花，属石蒜科（Amaryllidaceae）孤挺花属多年生具鳞茎的草本观赏植物。该属有 50 ~ 60 个种，常见的有孤挺花、红花莲、短筒孤挺花、网纹孤挺花等。大花朱顶红（*Hippeastrum hybridum*）是园艺杂交种，由于其独特的观赏性，目前美国、荷兰和南非在其新品种培育与种球的商品化生产领域做了大量工作，获得的商业栽培园艺品种大约 50 个，其中常见的栽培品种有‘红狮’（‘Red Lion’）、‘大力神’（‘Hercules’）、‘花之冠’（‘Flower Record’）等。近 10 年来，中国分别从荷兰和日本等国引进了一定数量的新品种，并开展了杂交育种工作（马媛媛

收稿日期：2011－09－16；**修回日期**：2012－01－03
基金项目：山东省科技攻关项目（2007GG20002019）；烟台市科技发展计划项目（2011045）
* 通信作者 Author for correspondence（E-mail：qfnzp@ytu.edu.cn）

等，2010）。目前大花朱顶红是近年国际流行的球根花卉之一，单球售价 30 ~ 40 元，促成栽培的年宵花每盆 200 ~ 300 元，已成为经济发达地区中高档盆花之一。生产用种球主要依靠进口，因此种苗的国产化技术已成为主要研究方向。国内的研究主要集中在诱导外植体形成不定芽的器官再生途径方面（张亚玲 等，2006；刘群龙 等，2007；邵素娟和史益敏，2008；孙红梅和宋利娜，2010）。尽管取得了一些可喜的研究成果，但不定芽增殖系数不高成为制约其产业化生产的瓶颈问题。

朱顶红通过体细胞胚胎途径再生植株的研究国内外有零星报道。其中张松等（2002）在诱导朱顶红愈伤组织产生不定芽的同时，观察到了相同愈伤组织上胚状体的发生。Huang 等（2005）报道了在不同植物生长调节剂组合诱导不定芽试验中，用 2,4-D 附加一定浓度 TDZ 处理子房外植体，得到了大量的体细胞胚胎。Mujib 等（1998，2006）以朱顶红球茎的鳞片为外植体，经直接发生途径成功诱导获得体细胞胚胎。直接途径的体细胞胚发生通常只能发生一次，因此相对降低了其产率而不能满足产业化的需求。

本试验中以已获得的大花朱顶红‘花之冠’（*Hippeastrum hybridum*‘FIower Record’）的试管苗小鳞茎为外植体诱导胚性愈伤组织，进而对胚性愈伤组织的筛选、增殖和体细胞胚胎发生和发育技术进行研究，以期建立朱顶红离体培养条件下的高效率和持续稳定的无性繁殖体系，为产业化生产提供参考。

1 材料与方法

1.1 初代愈伤组织的诱导

2007 年 4 月采用从荷兰引进的大花朱顶红‘花之冠’（*Hippeastrum hybridium*‘Flower Record’）的球茎新生花茎为外植体，经过约 1 年的离体培养，在烟台大学植物细胞工程实验室通过器官发生途径成功获得一定数量的试管苗。在此研究的基础上，采用试管小鳞茎（直径 = 6 mm）为外植体进一步研究其体细胞胚胎发生体系。

设计了 3 种初代愈伤组织诱导培养基：（1）1/2MS + 2,4-D 0.5 mg · L^{-1} + 6-BA 0.5 mg · L^{-1}；（2）1/2MS + 6-BA 0.5 mg · L^{-1}；（3）1/2MS + TDZ 0.2 mg · L^{-1}。每种培养基均附加肌醇、酪蛋白各 100 mg · L^{-1}，蔗糖 30 g · L^{-1}，琼脂粉 5.5 g · L^{-1}，pH 5.8。每个 100 mL 三角瓶中倒入 40 mL 培养基，高压灭菌后冷却固化。将小鳞茎从根基部至顶端横切 6 片，分别放入不同诱导培养基中，每个三角瓶中随机接种 6 片，每种培养基接种 10 瓶，（25 ± 1）℃黑暗培养，30 d 时统计初培养诱导出的愈伤组织，重复 3 次。

1.2 愈伤组织的继代增殖和胚性愈伤组织的筛选

将初代诱导 30 d 获得的膨大鳞茎切片连同切口愈伤组织一起转入相同的初代诱导培养基中进行继代培养，初代褐化的组织必须剔除，（25 ± 1）℃黑暗培养。30 d 后，将鳞茎外植体上形成的米黄色的松脆透明的愈伤组织剥离，在相同培养基上进行继代增殖培养。

1.3 体细胞胚胎的发生和发育

将增殖 3 ~ 4 代的胚性愈伤组织分别转接到以下培养基：（A）1/2MS + 6-BA 5.0 mg · L^{-1} + NAA 0.5 mg · L^{-1}；（B）1/2MS + 6-BA 5.0 mg · L^{-1} + NAA 0.1 mg · L^{-1}；（C）1/2MS + 6-BA 2.5 mg · L^{-1} + NAA 0.25 mg · L^{-1}；（D）1/2MS + 6-BA 2.5 mg · L^{-1} + NAA 0.05 mg · L^{-1}；（E）1/2MS + 6-BA 0.5 mg · L^{-1} + NAA 0.05 mg · L^{-1}；（F）1/2MS（不添加任何植物生长调节剂）。以 1/2MS 培养基为对照，研究 6-BA 和 NAA 的配合对体细胞胚胎发育的影响。每瓶培养基接种直径 8 mm 大小的愈伤组织 7 ~ 8 块，每

种培养基接种 10 瓶，培养 50 d 时统计体细胞胚的发生率，重复 3 次。

1.4　体细胞胚胎的后期发育及植株再生

将带有不同发育时期体细胞胚胎的愈伤组织转接到不含任何植物生长调节剂的1/2MS培养基上继续培养，光照强度 3 000 lx，光周期（14 h/10 h），培养温度（25 ± 1）℃，30 d 后获得完整小植株并进一步转入温室炼苗栽培。

2　结果与分析

2.1　2,4-D 对小鳞茎切片胚性愈伤组织启动和继代增殖的影响

小鳞茎外植体在黑暗中培养 20 d 后，观察到外植体在不同培养基中表现出显著差异。以 2,4-D 结合 6-BA 处理外植体，小鳞茎切口呈蓬松状膨胀，有少量白色松散愈伤组织形成（图 1，A）；单独使用 6-BA 处理的鳞茎切片呈致密性膨大，颜色呈现绿色，其上有芽点形成（图 1，B）；而单独使用 TDZ 处理的小鳞茎外植体不产生任何愈伤组织，直接分化形成不定芽，进一步培养即有不定根形成（图 1，C）。

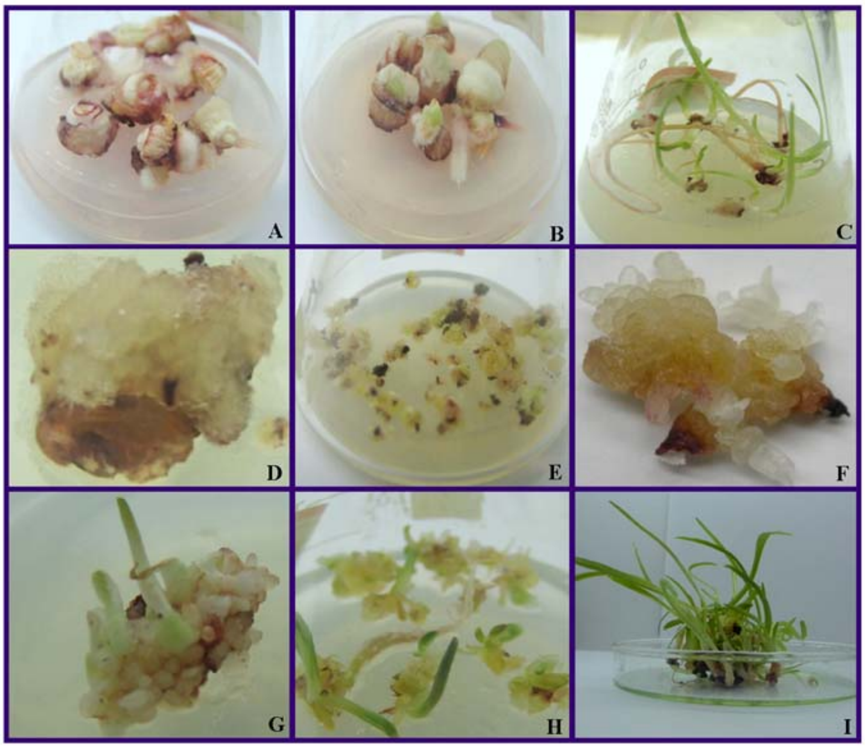

图 1　朱顶红小鳞茎胚性愈伤诱导、体细胞胚胎发生及植株再生

A，B，C：分别培养在（1）2,4-D 0.5 mg · L^{-1} + 6-BA 0.5 mg · L^{-1}，（2）6-BA 0.5 mg · L^{-1} 和（3）TDZ 0.2 mg · L^{-1} 条件下 30 d 外植体启动；D：在 2,4-D 0.5 mg · L^{-1} + 6-BA 0.5 mg · L^{-1} 条件下继代培养 2 个月形成的米黄色松脆愈伤组织；E：胚性愈伤组织的增殖培养；F：胚性愈伤组织上体细胞胚的发育；G：体细胞胚的不同步化发育；H：培养在 1/2MS 培养基 30 d 植株的再生；I：培养在 1/2MS 培养基 60 d 试管苗形成。

Fig. 1　The callus induction and plant regeneration via somatic embryogenesis from bulblets

A，B，C：Initiation of the explants respectively on the media with（1）2,4-D 0.5 mg · L^{-1} and 6-BA 0.5 mg · L^{-1}，（2）6-BA 0.5 mg · L^{-1} and（3）TDZ 0.2 mg · L^{-1} after 30 days；D：Friable yellow calluses after sub-culture on medium supplemented with 2,4-D 0.5 mg · L^{-1} and 6-BA 0.5 mg · L^{-1} for 2 months；E：The embryogenic callus multiplication；F：The calluses including early somatic embryos；G：Asynchronous development of somatic embryos；H：Plantlets regeneration for 30 days on 1/2MS medium；I：Plantlets on 1/2MS medium for 60 days.

外植体培养 30 d，初代愈伤组织统计结果显示，2,4-D 结合 6-BA 处理松散愈伤组织诱导率为 83.3%，而单独使用 6-BA 处理形成致密愈伤组织诱导率为 63.3%，单独 TDZ 处理外植体直接分化形成不定芽而没有愈伤组织的形成，不定芽形成率可达 80.0%（表 1）。

将 2,4-D 结合 6-BA 处理诱导获得的松散愈伤组织及起始外植体组织块一起转入相同诱导培养基上，经过 30 d 暗培养，外植体上可产生大量淡黄色松脆愈伤组织（图 1，D）。而单独使用 6-BA 处理的愈伤组织质地致密，转入光下即分化形成不定芽。

表 1 不同植物生长调节剂对朱顶红小鳞茎初代愈伤组织的诱导

Table 1 The effect of plant growth regulators on callus induction

生长调节剂/（$mg \cdot L^{-1}$） Growth regulators			外植体数 Number of explants	愈伤组织诱导率/ % Callus formation rate	不定芽形成率/% Adventitious bud regeneration rate
2,4-D	6-BA	TDZ			
0.5	0.5	0	60	83.3 ± 1.35	25.0 ± 0.87
0	0.5	0	60	63.3 ± 2.02	13.3 ± 1.21
0	0	0.2	60	0	80.0 ± 2.12

注：基本培养基 1/2MS + 肌醇 100 $mg \cdot L^{-1}$ + 酪蛋白 100 $mg \cdot L^{-1}$ + 蔗糖 30 $g \cdot L^{-1}$ + 琼脂粉 5.5 $g \cdot L^{-1}$，pH 5.8。

Note：Basal medium 1/2MS + inositol 100 $mg \cdot L^{-1}$ + casein-hydrolysate 100 $mg \cdot L^{-1}$ + sucrose 30 $g \cdot L^{-1}$ + agar 5.5 $g \cdot L^{-1}$，pH 5.8.

2.2 胚性愈伤组织的筛选和增殖

将附加 2,4-D 和 6-BA 的培养基上诱导获得的米黄色松脆愈伤组织进一步继代培养，愈伤组织体积明显膨大并生长良好。经过 30 d 的培养，愈伤组织的生长量可增加 3 ~ 4 倍（图 1，E）。当继代培养时间超过 50 d，培养基内的 2,4-D 基本消耗殆尽，愈伤组织表面可观察到许多半透明状的早期体细胞胚的出现（图 1，F）。根据以前所研究的其它球根茎植物胚性愈伤组织的筛选鉴定标准（由翠荣 等，2008；龚雪琴 等，2008），认为 2,4-D 配合 6-BA 诱导获得的淡黄色松脆愈伤组织具有胚性，并在此培养基上可以大量增殖。

2.3 6-BA 对体细胞胚胎发育的影响

将胚性愈伤组织转接至含有不同浓度的 6-BA 和 NAA 的培养基上诱导体细胞胚胎发生、发育。经过 50 d 培养，愈伤组织上陆续形成大量肉眼可见的不同发育时期的胚状体，体细胞胚发育明显呈现不同步化的发育（图 1，G）。根据每块愈伤组织上体细胞胚发育的数量（< 10 个，10 ~ 20 个，> 20 个），分别统计不同浓度 6-BA 和 NAA 对体细胞胚发育的影响，结果（表 2）显示：6 个处理组的愈伤组织均能发育形成体细胞胚，但体细胞胚发育形成产量不同。不含任何植物生长调节剂的 1/2MS 培养基（F）上体细胞胚产生总量最少，其中发育形成大于 20 个体胚的愈伤组织在所有处理间是最低的，占 28%；而愈伤组织发育形成小于 10 个体胚明显高于添加 6-BA 处理组（A ~ E），愈伤组织发育形成 10 ~ 20 个体胚的比例与其余处理组无显著差异。添加 6-BA 在 2.5 $mg \cdot L^{-1}$（C，D）和 5.0 $mg \cdot L^{-1}$（A，B）4 个处理间愈伤组织形成体胚的能力在 3 个发育指标（< 10、10 ~ 20、> 20）上均无显著差异，发育形成大于 20 个体胚的愈伤组织占 52% ~ 55%，明显高于添加 0.5 $mg \cdot L^{-1}$ 6-BA 的处理组（E）和不含植物生长调节剂的处理组（F）。而且相同浓度 6-BA，附加不同浓度 NAA 的处理组间体细胞胚发育无显著差异。

表 2 6-BA 和 NAA 处理条件下体细胞胚的发育

Table 2 Development of somatic embryos on the medium with 6-BA and NAA

代号 Code	6-BA/ ($mg \cdot L^{-1}$)	NAA/ ($mg \cdot L^{-1}$)	体胚率/ % Percentage of somatic embryos		
			< 10	10 ~ 20	> 20
A	5.0	0.5	11.87±6.37b	34.78±12.43b	53.34±7.39a
B	5.0	0.1	13.74±13.24b	32.24±13.72b	54.02±25.30a
C	2.5	0.25	11.67±2.30b	35.71±12.37b	52.62±11.07a
D	2.5	0.05	9.05±12.89b	35.40±22.96b	55.56±10.18a
E	0.5	0.05	13.89±21.04b	49.92±19.86a	36.19±9.38b
F	0	0	31.67±8.96a	40.34±7.58ab	28.00±11.59c

注：基本培养基 1/2MS + 肌醇 100 $mg \cdot L^{-1}$ + 酪蛋白 100 $mg \cdot L^{-1}$ + 蔗糖 30 $g \cdot L^{-1}$+ 琼脂粉 5.5 $g \cdot L^{-1}$，pH 5.8。

Note：Basal medium 1/2MS + inositol 100 $mg \cdot L^{-1}$ + casein-hydrolysate 100 $mg \cdot L^{-1}$ + sucrose 30 $g \cdot L^{-1}$ + agar 5.5 $g \cdot L^{-1}$，pH 5.8.

2.4 试管小植株的再生

胚性愈伤组织在发育培养基上培养 50 d 后，将其转移到无植物生长调节剂的 1/2MS 培养基上，可持续不断地产生再生植株（图 1，H、I）。在生长 30 d 后随机选取 30 块胚胎团，分别统计植株高度 1.0 cm 以上的小植株的数量，其最大值为每块 80 株，最小值为每块 7 株，总数为 798 株，平均每块 8 mm × 8 mm 的愈伤组织经过 80 d 发育产生株高 1.0 cm 以上的植株 26.5 株。

3 讨论

综合植物体细胞胚胎诱导的研究结果，2,4-D 在诱导植物体细胞的脱分化和诱导胚性愈伤组织方面的作用不容置疑（Jimenez，2001；Thorpe，2007；何业华 等，2010）。在朱顶红的离体培养体系建立中，不同研究者在不同试验条件下对外植体启动和愈伤组织诱导的植物生长调节剂种类有不同的报道。张松等（2002）报道以朱顶红鳞茎基部鳞片为外植体诱导愈伤组织，NAA 的诱导效果优于 2,4-D。而 Mujib 等（2006）也认为 2,4-D 在诱导以鳞片为外植体形成愈伤组织上没有起到像在其它植物上同样的作用。但本试验结果表明 2,4-D 在初始诱导朱顶红小鳞茎组织的脱分化形成浅米黄色松脆胚性愈伤组织和胚性愈伤组织增殖继代中都起着关键的作用。试验结果差异性的原因可能是初培养采用的外植体不同所致，本试验中采用的是试管小鳞茎，而其他研究者多采用盆栽生长的鳞片。

细胞分裂素对于体细胞胚胎发生的作用有相反的结论，既有促进也可抑制体细胞胚发生，这主要取决于植物的种类及其基因型。本研究中发现，一定浓度的 6-BA（2.5 ~ 5.0 mg · L^{-1}）对朱顶红体细胞胚胎的发育和植株转化有显著的促进作用，且在相同 6-BA 的处理条件下，添加不同 NAA 的处理组间体细胞胚发育无显著差异。该结果与 Mujib 等（2006）建立的朱顶红直接体细胞胚发生体系及蝴蝶兰、油棕等体细胞胚发生的报道结果相一致（Aberlenc-Bertossi et al.，1999；Gow et al.，2010），因此认为 6-BA 是促进朱顶红胚性愈伤组织发育形成体细胞胚的关键因素。

以离体无性繁殖为目的组织培养技术，其高效率的增殖途径和可操作性很重要。高等植物的体细胞胚胎诱导技术最突出的优势在于可利用胚性愈伤组织悬浮培养技术进行大规模的增殖培养和人工种子制备，因此被广泛应用于多种经济植物的无性快繁体系的建立（Aberlenc-Bertossi et al.，1999；由翠荣 等，2008；Gow et al.，2010）。

目前朱顶红的体细胞胚胎发生体系国内外尽管有少量相关研究报道，但主要研究了利用不同朱顶红外植体直接诱导体细胞胚的发生（Huang et al.，2005；Mujib et al.，1998，2006）。直接发生途径中的体细胞胚发生通常只能发生 1 次，因此相对降低了其产率而不能满足产业化生产的需求。本试验中利用试管小鳞片为外植体，通过添加适量浓度的 2,4-D 和 6-BA，经初代愈伤组织的诱导和继代增殖培养的筛选，成功筛选获得可持续稳定增殖的松脆淡米黄色胚性愈伤组织。该胚性愈伤组织在附加一定浓度的 6-BA（2.5 ~ 5.0 mg · L^{-1}）的培养基上可进一步发育成体细胞胚，经 80 d 的发育生长，平均每块 8 mm × 8 mm 的愈伤组织可产生 1.0 cm 以上植株 26.5 株。邵素娟等（2008）报道了利用朱顶红试管小鳞茎 4 分切割进行增殖的技术路线，其继代增殖倍数可达到 4.64，Agnieszka 等（2005）报道了利用小球茎在液体培养条件下 4 周内可达到 6.3 ~ 6.5 倍增殖系数，但他们建立的离体无性繁殖体系均属器官发生途径，而本试验中建立的体系为高效率的体细胞胚胎发生。同时，该体系中筛选获得的松脆胚性愈伤组织增殖快，且在液体培养基中容易分散，因此可用于胚性细胞悬浮培养，通过液体大规模培养增殖从而获得更大量的体细胞胚胎，为进一步研究朱顶红液体悬浮增殖提供了良好的试验材料，具有产业化应用的价值。

References

Aberlenc-Bertossi F，Noirot M，Duval Y. 1999. BA enhances the germination of oil palm somatic embryos derived from embryogenic suspension cultures. Plant Cell，Tissue and Organ Culture，56：53－57.

Agnieszka I，Winkelmann T，Richartz S，Witomska1 M，Serek M. 2005. *In vitro* propagation of *Hippeastrum* × *chmielii* Chm.－influence of flurprimidol and the culture in solid or liquid medium and in temporary immersion systems. Plant Cell，Tissue and Organ Culture，83 (3)：339－346.

Gong Xue-qin，Qu Fu-ning，You Cui-rong，Sun Wan-ting，Wang Meng. 2008. Establishment of callus induction system from leaves in *Zantedeschia*. Journal of Yantai University：Natural Science and Engineering Edition，21 (3)：221－225. (in Chinese)

龚雪琴，曲复宁，由翠荣，孙婉婷，王　萌. 2008. 彩色马蹄莲叶片愈伤组织培养体系的建立. 烟台大学学报：自然科学与工程版，21 (3)：221－225.

Gow W P，Chen J T，Chang W C. 2010. Enhancement of direct somatic embryogenesis and plantlet growth from leaf explants of *Phalaenopsis* by adjusting culture period and explant length. Acta Physiol Plant，32：621－627.

He Ye-hua，Fang Shao-qiu，Ma Jun，Hu Zhong-yi，Lu Min，Peng Bing. 2010. Histocytology observation on the somatic embryogenesis in *Ananas comosus* callus. Acta Horticulturae Sinica，37 (5)：689－696. (in Chinese)

何业华，方少秋，马　均，胡中沂，卢　敏，彭　兵. 2010. 菠萝愈伤组织中体细胞胚起源过程的组织细胞学观察. 园艺学报，37 (5)：689－696.

Huang C L，Chang K C，Okubo H. 2005. *In vitro* morphogenesis from ovaries of *Hippeastrum* × *hybridum*. J Fac Agr Kyushu Univ，50 (1)：19－25.

Jimenez V M. 2001. Regulation of *in vitro* somatic embryogenesis with emphasis on the role of endogenous hormones. R Bras Veg，13 (2)：196－223.

Liu Qun-long，Duan Guo-feng，Zhou Lan. 2007. Establishment of *in vitro* bulb bud induction and regeneration system of *Amaryllis vittata*. Acta Bot Boreal Occident Sin，27 (12) ：2551－2554. (in Chinese)

刘群龙，段国峰，周　兰. 2007. 朱顶红鳞茎芽诱导及植株再生体系的建立. 西北植物学报，27 (12)：2551－2554.

Ma Yuan-yuan，Wu Sha-sha，Jiao Xue-hui，Lü Ying-min. 2010. Study on cultivation and application of *Amaryllis*. Greenhouse & Horticulture，(8)：55－61. (in Chinese)

马媛媛，吴沙沙，焦雪辉，吕英民. 2010. 朱顶红的栽培与应用. 温室园艺，(8)：55－61.

Mujib A，Bandyopadhyay S，Jana B K，Ghosh P D. 1998. Direct somatic embryogenesis and *in vitro* plant regeneration in *Hippeastrum vittatum*. Plant Tissue Cul，8 (1)：19－25.

Mujib A，Banerjee S，Ghosh P D. 2006. Origin，development and structure of somatic embryo in selected bulbous ornamentals：BAP as inducer. Plant Cell Monographs，2：15－24.

Shao Su-juan，Shi Yi-min. 2008. *In vitro* micro-propagation from *Hippeastrum*'s little aseptic bulb and its effecting factors. Journal of Shanghai Jiao Tong University：Agricultural Science，26 (1)：5－8. (in Chinese)

邵素娟，史益敏. 2008. 朱顶红小鳞茎切割繁殖及其影响因素. 上海交通大学学报：农业科学版，26 (1)：5－8.

Sun Hong-mei，Song Li-nang. 2010. Study on bulb adventitious bud induction of *Hippeastrum vittatum*. Chinese Agricultural Science Bulletin，26 (14)：247－250. (in Chinese)

孙红梅，宋利娜. 2010. 大花朱顶红鳞茎不定芽的诱导. 中国农学通报，26 (14)：247－250.

Thorpe T. 2007. History of plant tissue culture. Molecular Biotechnology，37 (2)：169－180.

You Cui-rong，Fan Ting-jun，Qu Fu-ning，Bian Fu-hua，Liang Li-kun，Gong Xue-qin. 2008. Somatic embryogenesis and study on histology and cytology in *Cyclamen persicum* Mill. Journal of Sichuan University：National Science Edition，45 (6)：1477－1484. (in Chinese)

由翠荣，樊廷俊，曲复宁，卞福花，梁丽琨，龚雪琴. 2008. 仙客来（*Cyclamen persicum* Mill.）体细胞胚的发生及组织细胞学的研究. 四川大学学报：自然科学版，45 (6)：1477－1484.

Zhang Song，Da Ke-dong，Cao Chen-xing，Jiang Lu-yan，Zhu Rui-fu，Wu Lu-ping. 2002. Rapid micropropagation system via *in vitro* culture in *Amaryllis vittata* and its embryogenesis. Acta Horticulturae Sinica，29 (3)：285－287. (in Chinese)

张　松，达克东，曹辰兴，姜璐琰，朱瑞芙，吴禄平. 2002. 朱顶红离体培养快速繁殖体系及胚状体发生. 园艺学报，29 (3)：285－287.

Zhang Ya-ling，Zhang Yan-long，Yuan Ya-ling. 2006. The influence of 6-BA and NAA on the propagation through tissue culture of amaryllis（*Hippeastrum hibridum*）. Shaanxi Forest Science and Technology，(1)：7－9. (in Chinese)

张亚玲，张延龙，原雅玲. 2006. 6-BA 和 NAA 对朱顶红组织培养的影响. 陕西林业科技，(1)：7－9.