## 仙客来体细胞胚发生和发育过程中淀粉粒的动 态变化

于文胜1,姜 伟1,龚雪琴2,罗珍珍1,解晓旭1,由翠荣2,\*

(1烟台市园林管理处,山东烟台 264000; 2烟台大学生命科学学院,山东烟台 264005)

摘 要:以仙客来(Cyclamen persicum Mill.)开花植株的新生叶片为外植体,诱导筛选胚性愈伤组织,并使其进一步发育成体细胞胚。组织切片观察结果表明:胚性愈伤组织由胚性和非胚性细胞组成,胚性细胞多以胚性细胞团的形式存在,胚性细胞团起源于诱导的胚性决定细胞。体细胞胚起源于单个胚性细胞,经多细胞原胚、球形胚、心形胚和鱼雷胚等时期发育成完整植株。在体细胞胚的发生发育过程中,淀粉粒出现 4 次积累高峰,分别为胚性细胞、球形胚、早期鱼雷胚和成熟胚发育成完整的小植株时期,淀粉代谢与体细胞胚发生、发育及小植株的形态建成密切相关。

关键词: 仙客来; 体细胞胚; 诱导的胚性决定细胞; 淀粉粒

中图分类号: S 682.2+62

文献标志码: A

文章编号: 0513-353X (2013) 08-1527-08

# Dynamic Changes of Starch Granules During Somatic Embryogenesis and Development in *Cyclamen persicum*

YU Wen-sheng<sup>1</sup>, JIANG Wei<sup>1</sup>, GONG Xue-qin<sup>2</sup>, LUO Zhen-zhen<sup>1</sup>, XIE Xiao-xu<sup>1</sup>, and YOU Cui-rong<sup>2,\*</sup> (<sup>1</sup>Garden Management Department of Yantai, Yantai, Shandong 264000, China; <sup>2</sup>College of Life Science, Yantai University, Yantai, Shandong 264005, China)

Abstract: Embryogenic calluses were induced and filtrated from young leaf explants in flowering *Cyclamen persicum* plant, and somatic embryos were formed. Histological observation revealed that embryogenic calluses were comprised of embryogenic and non-embryogenic cells, and that embryogenic cells mostly existed in embryogenic aggregates. Embryogenic aggregates derived from induced embryogenic determined cells. Somatic embryogenesis originated from a single embryogenic cell. Somatic embryo grew into a complete plantlet after passing through proembryos, globular, heart- and torpedo-shaped stages. During somatic embryogenesis and development, four peaks of starch granules appeared, respectively at the stage of embryogenic cells, globular embryos, early torpedo-shaped embryos and complete plantlets from mature embryos. Starch metabolism was closely related to somatic embryogenesis, development and plantlet regeneration.

**Key words:** Cyclamen persicum; somatic embryo; induced embryogenic determined cell; starch granule

**收稿日期:** 2013 - 04 - 12; **修回日期:** 2013 - 07 - 29

**基金项目:** 烟台市科技发展计划项目(2011045); 山东省科技发展计划项目(2007GG20002019)

<sup>\*</sup> 通信作者 Author for correspondence (E-mail: ycrytu@163.com)

仙客来(*Cyclamen persicum* Mill.)属块茎类球根花卉,具有重要经济价值(Takamura et al., 1995; Winkelmann et al., 1998; 由翠荣, 2009)。

传统的种子繁殖无法保持优良性状的遗传稳定性(Schwenkel, 2001),因此离体培养条件下的快繁体系的研究有着重要的应用价值(孙华彩等, 2012; 吴健等, 2012; 张正海等, 2012)。淀粉与形态建成有密切的关系,直接或间接地影响胚胎发生(范昌发等, 2000; 张月等, 2007; 邢世岩等, 2010)。目前已经发现淀粉的积累与植物体胚发生潜能的实现是密切相关的,具胚胎潜在发生能力的细胞中都有淀粉的积累(汪丽虹等, 1996; 邢更生等, 1998)。另外,在体胚发生、发育的重要转折时期都会有淀粉和多糖的积累高峰出现,起到为新的发育阶段提供物质与能量的作用(何丽君和齐冰杰, 2002)。

关于仙客来体胚发生过程中的组织细胞学研究国内外有少量报道。Wicart 等(1984)首次诱导获得了仙客来的胚样结构,并通过组织细胞学观察发现此结构与愈伤组织没有维管结构的联系;Ruffoni 等(2000)简单观察报道了脂类物质、淀粉和酚类物质在仙客来体胚的某个发育时期出现积累。

本研究中以仙客来大花品种'葡萄酒红火焰纹'为材料,在成功诱导、筛选胚性愈伤组织并使 其再生获得完整植株的基础上,通过石蜡包埋切片和细胞组织化学分析方法,系统研究了其体细胞 胚发生、发育及植株再生过程中的细胞组织结构和淀粉粒的动态变化,以揭示淀粉粒的代谢与仙客 来体细胞胚发生发育的相互关系,为研究仙客来体细胞胚的发生发育机制及其在未来产业化的应用 提供一定的理论参考。

### 1 材料与方法

#### 1.1 愈伤组织、体细胞胚诱导及植株再生

2009 年 12 月采用从山东省莱州市仙客来研究所购买的仙客来(*Cyclamen persicum* Mill.)大花品种'葡萄酒红火焰纹'('Wine Red Flame')已开花植株的新生叶片为外植体。

按照由翠荣等(2008)的方法,在烟台大学植物细胞工程实验室成功诱导筛选胚性愈伤组织。由于其松散程度高,体胚发育时将其在1/2MS 无植物生长调节剂的基本培养基上尽量分散成单层细胞培养,诱导体细胞胚的形成。

30 d 后同配方继代培养,促使植株再生。

#### 1.2 愈伤组织的细胞形态学观察

分别将筛选获得的微棕红色松脆胚性愈伤组织、非胚性愈伤组织以及胚性愈伤组织无激素培养 5~10 d 的培养物随机取样 3~5 块,用镊子分散后悬浮于液体培养基中。愈伤组织的取量要保证细胞在悬浮培养基中能形成单层细胞,倒置显微镜下观察照相。

#### 1.3 体细胞胚发育及植株再生过程中细胞淀粉粒的动态变化

选取胚性愈伤组织、1/2MS 无激素培养基上发育 14 d 左右的胚性愈伤组织、球形胚、心形胚、 鱼雷胚及再生小植株为试验材料(由于愈伤组织松散且发育各时期体细胞胚较小,不宜直接进行石 蜡包埋切片),先用 1%的琼脂包埋,包埋温度 50 ℃左右,待其凝固后切成琼脂小块(周燕 等, 2004), 固定于 FAA 固定液中,按常规石蜡法切片,PAS 反应和铁矾—苏木精染色(胡适宜, 1994),OLYMPUS 数码显微镜观察并拍照。

## 2 结果与分析

#### 2.1 胚性细胞团和体细胞胚的起源

观察多次继代增殖培养的胚性愈伤组织的细胞学特征发现,胚性愈伤组织由胚性和非胚性细胞组成,而胚性细胞多以胚性细胞团的形式存在。进一步观察发现微棕红色松脆愈伤组织(图 1, A)中除含有胚性细胞团外,还有一定数量的诱导的胚性决定细胞,其体积约是胚性细胞的 2 倍,细胞质异常丰富,富含大量淀粉颗粒,以单独或成团的方式存在(图 1, B)。跟踪观察发现这些细胞可通过持续分裂的方式形成含有几个或十几个胚性细胞的胚性细胞团,而包含有几十个胚性细胞的胚性细胞团则可能来源于成团存在的几个诱导的胚性决定细胞(图 1, C)。胚性细胞中胞质异常丰富,且含有大量淀粉颗粒(图 1, D)。

观察胚性愈伤组织 1/2MS 无激素培养 7~10 d 的培养物发现,胚性细胞团中的胚性细胞发育明显不同步,不同发育时期的体细胞原胚(即二细胞、四细胞、八细胞和多细胞原胚)同时出现在同一胚性细胞团中(图 1,E、F);培养 14 d 后,单层平铺的愈伤组织上陆续发育形成体细胞胚;其发生多以多发生、成簇出现,有时一簇可发生 10 个以上的胚状体(图 1,G)。因此推断仙客来体细胞胚的发育主要是单细胞起源。

#### 2.2 仙客来体细胞胚发生、发育过程中淀粉粒的动态变化

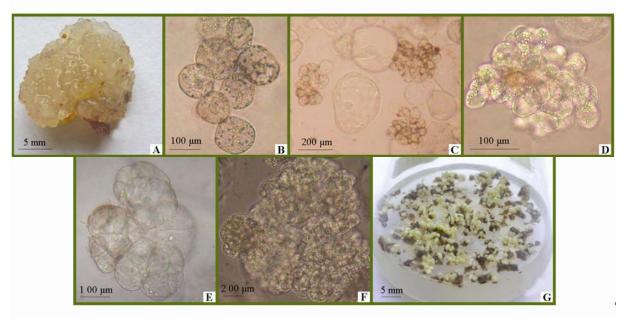
通过 PAS 染色结果发现,胚性愈伤组织中的胚性细胞和非胚性细胞间有明显不同。非胚性细胞体积明显大于胚性细胞,细胞核小,未观察到淀粉粒;而胚性细胞内淀粉粒丰富,大多分散于胞质中,有时也绕核排列,为淀粉积累的第一个高峰期(图 2,A)。胚性细胞团中的胚性细胞发育明显表现为不同步化,每个胚性细胞经持续分裂可形成二细胞、四细胞原胚,进一步证明体细胞胚由单细胞起源;二、四细胞原胚期淀粉粒明显开始减少,到多细胞原胚期基本被耗尽(图 2,B、C)。发育至球形胚期,可以明显观察到中央为密集的分裂旺盛的分生组织细胞,核大、体积小、胞质浓厚,几乎不含淀粉粒,即体细胞胚的生长中心,是体胚发育两极分化的生长点(图 2,D)。生长点周围的细胞可观察到丰富的淀粉粒的积累,主要集中于中央生长点外至表皮细胞下层之间的多层薄壁细胞内,淀粉颗粒大,分布不均匀,且淀粉粒体积和数量沿细胞由外向内明显呈递减的趋势(图 2,E),推测外层薄壁细胞中淀粉的积累可为生长点细胞的快速分裂提供物质和能量,球形胚期为淀粉粒积累的第 2 个高峰期。

球形胚进一步发育至心形胚(图 2, F)。心形胚期细胞内的淀粉粒被大量消耗,仅观察到生长点周围的少数几层薄壁细胞内有少量小颗粒的淀粉粒出现(图 2, H)。心形胚期已经明显出现胚状体两极性的分化,即可观察到根生长点和芽生长点的出现(图 2, G)。

淀粉粒积累的第3次高峰期出现在早期鱼雷胚期,此时的胚状体明显出现拉长,细而尖的一端为芽端,粗而钝圆的一端为根端(图 2, I)。除生长点外,大多数的细胞内有淀粉粒的出现,数量多、颗粒大(图 2, J)。随着鱼雷胚的进一步发育成熟,形态学上的两极性更加清晰(图 2, K),体胚中央已有输导组织的分化(图 2, L),此时的淀粉粒被进一步消耗,只在维管束、根、芽生长点周围的少数薄壁细胞中有小颗粒的淀粉粒出现,数量也明显减少(图 2, M)。

30 d 体细胞胚出现了明显的器官分化,块茎进一步膨大、顶端不定芽伸长以及块茎末端根的发生,此时的体胚已经再生为完整的小植株。PAS 染色观察块茎下端有多处密集的生长中心,为根的生长点;植株顶端已出现新梢的分化,新梢顶端出现旺盛分裂的细胞组成的生长中心,即芽的生长点;植株中央观察到分化明显的"V"形输导组织,上部与新梢连通,下部连通至块茎(图 2, N)。

此时的淀粉粒出现第 4 次的积累高峰,主要分布于块茎部位的维管束周围多层薄壁细胞及根、芽生长点周围的薄壁细胞内,数量多、颗粒大(图 2, O),为小植株进一步萌发和生长提供物质和能量的基础。



#### 图 1 体细胞胚发生的形态学观察

A: 微棕红色松脆愈伤组织; B: 以细胞团形式存在的诱导的胚性决定细胞; C: 胚性愈伤组织中的胚性细胞团和非胚性细胞; D: 富含淀粉颗粒的胚性细胞团; E: 不同发育时期的体细胞原胚; F: 胚性细胞不同步发育,示不同发育时期的体细胞原胚;

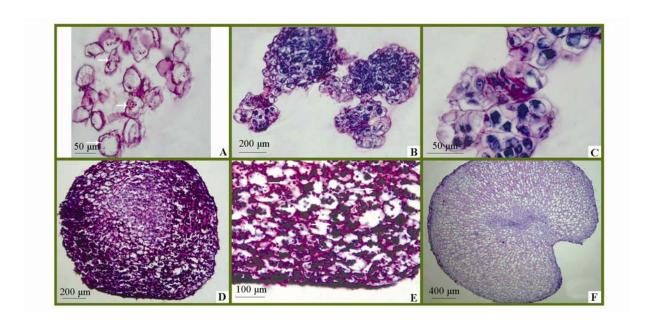
G: 成簇出现的体细胞胚。

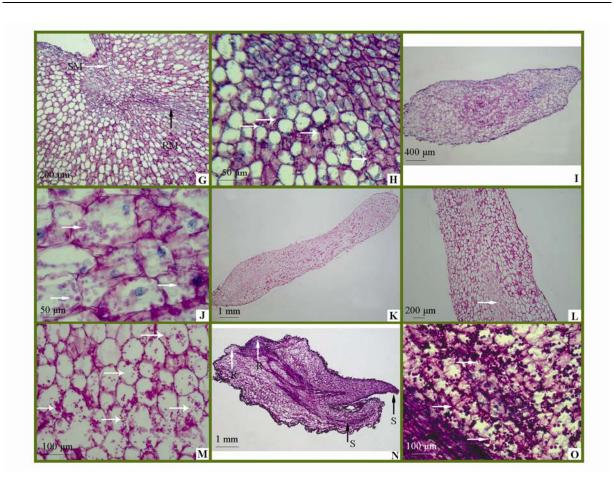
#### Fig. 1 Morphological observation during somatic embryogenesis

A: Slightly red-brownish and friable callus; B: Induced embryogenic determined cells in groups; C: Embryogenic aggregates and non-embryogenic cells in embryogenic callus; D: Embryogenic aggregates containing abundant starch granules; E: Proembryos at various developmental stages;

F: Asynchronous development of embryogenic cells, showing proembryos at various developmental stages;

G: Clusters of somatic embryos.





#### 图 2 体细胞胚发生发育过程中淀粉粒的动态变化

A: 富含淀粉粒(↑)的胚性细胞团; B: 不同发育时期的原胚团; C: 淀粉颗粒已经开始消减的二、四、八细胞原胚; D: 球形胚; E: 球形胚期生长中心周围的薄壁细胞, 示淀粉粒(↑)的大量积累; F: 心形胚; G: 心形胚期根生长点(RM)和芽生长点(SM)的分化; H: 心形胚期生长点周围的薄壁细胞, 示淀粉粒的消耗; I: 早期鱼雷胚; J: 早期鱼雷胚生长点周围的薄壁细胞, 示淀粉粒(↑)的积累; K: 鱼雷胚期; L: 鱼雷胚期维管束(↑)的分化; M: 鱼雷胚维管束周围的薄壁细胞, 示少量淀粉粒(↑); N: 再生小植株, 示根(R)和芽(S)的分化; O: 再生小植株块茎中的维管束周围的薄壁细胞, 示大量淀粉粒(↑)的积累。

#### Fig. 2 Dynamic changes of starch granules during the development of somatic embryos and plant regeneration

A: Embryogenic cells, showing starch granule accumulation; B: Proembryogenic mass at various developmental stages; C: Two-, four- and eight-cell proembryos, showing starch granule consumption; D: Globular embryo; E: Parenchyma cells around the meristems of globular embryo, showing abundant starch granule accumulation; F: Heart-shaped embryo; G: Differentiation of root meristems (RM) and shoot meristems (SM) in heart-shaped embryos; H: Parenchyma cells around the meristems in heart-shaped embryo, showing starch granule consumption; I: Early torpedo-shaped embryo; J: Parenchyma cells around the meristems in the early torpedo embryo, showing starch granule accumulation; K: Torpedo-shaped embryo; L: Differentiation of vascular bundles in the torpedo-shaped embryo; M: Parenchyma cells around vascular bundles of the torpedo-shaped embryo, showing starch granule accumulation; N: Regenerated plantlet, showing root

(R) and shoot (S) differentiation; O: Parenchyma cells around the vascular bundle in the tuber of regenerated plantlet, showing abundant starch granule accumulation.

## 3 讨论

#### 3.1 胚性细胞的起源

以叶片为外植体诱导产生体细胞胚的发生过程属于体细胞胚的间接发生方式,外植体需 3~4

次的继代培养才能够完全脱分化形成胚性愈伤组织。愈伤组织松散程度高,尽管采用了 1%琼脂固定的方法,传统石蜡包埋切片也很难观察到完整的组织切片,因此很难观察到胚性细胞在外植体的起源部位。

通过对胚性愈伤组织的活体细胞观察发现,胚性细胞均以胚性细胞团的形式存在。Winkelmann 等(1998)也曾报道了在悬浮培养体系中胚性细胞团的存在,但对胚性细胞团的起源没有给出说明。本研究中根据对活体细胞的动态观察,在微棕红色松脆胚性愈伤组织中发现诱导的胚性决定细胞的存在,其体积比胚性细胞团中的胚性细胞大约 2 倍,进一步观察结果显示,胚性细胞团主要由诱导的胚性决定细胞快速分裂增殖而来。

#### 3.2 体细胞胚发生、发育和植株再生过程中的淀粉粒的变化

本研究中系统地观察了仙客来体细胞胚的发生、发育和植株再生过程中的淀粉积累和降解与体细胞胚形态发生的相关性。诱导的胚性决定细胞和胚性细胞团期均出现大量淀粉粒的积累,为淀粉积累的第1个高峰期。非胚性细胞尽管也可以快速分裂增殖,但自始至终都未观察到有淀粉粒的出现。无论单子叶还是双子叶植物,胚性细胞中都有淀粉的积累(Ribas et al., 2000; 刘华英等, 2004; 周燕等, 2004),胚性细胞中淀粉的积累在植物的体细胞胚发生过程中是一种普遍存在的现象,因此有研究者认为胚性细胞中淀粉粒的累积可能是胚性全能性获得的先决性条件,为启动胚性细胞的分裂、促进体细胞胚的萌发而作的物质和能量的准备(张健等, 2005)。

仙客来体细胞胚第 2 次累积高峰出现在球形胚期,淀粉粒以聚集的形式存在,颗粒大、数量多,而心形胚期淀粉粒明显被消耗。但不同植物种类球形胚期淀粉代谢情况有一定的差异性,周燕等(2004)、林荣双等(2000)和汪丽虹等(1996)分别在胡萝卜、花生、石刁柏和党参等物种的体细胞胚发生中观察到淀粉粒在球形胚期的大量积累,而 Karim 等(2006)在黄檗的体细胞胚发生中观察到 3、4 细胞原胚期大量的淀粉粒的积累,而球形胚和心形胚期没有观察到淀粉粒的积累。

淀粉粒的第 3 个积累高峰期为早期鱼雷胚期,随着鱼雷胚的成熟而快速减少。成熟胚发育成完整的小植株时,第 4 个淀粉积累期出现,为植株的进一步生长发育提供能量和物质基础。Cangahuala-Inocente等(2004)报道了费约果(Feijoa sellowiana)的球形胚和早期鱼雷胚中很少有淀粉粒的积累,淀粉粒的大量合成发生在鱼雷胚和子叶胚期,淀粉与体细胞胚进一步再生植株密切相关。

尽管淀粉的代谢在不同的植物物种间的体细胞胚发生和发育过程中显示了一定的差异性,但是淀粉在离体培养条件下对形态发生和植株转化的表达起到了至关重要的作用(Jordy, 2004)。

#### References

Cangahuala-Inocente G C, Steiner N, Santos M, Guerra M P. 2004. Morphohistological analysis and histochemistry of *Feijoa sellowiana* somatic embryogenesis. Protoplasma, 224: 33 - 40.

Fan Chang-fa, Guo Xiao-cai, Jia Jing-fen, Niu Tian-tang. 2000. Relationship of starch metabolism and determination of morphogenetic pathway of plant cells cultured *in vitro*. Acta Agriculturae-Boreali Sinica, 15: 52 - 57. (in Chinese)

范昌发,郭骁才,贾敬芬,牛天堂. 2000. 植物细胞中淀粉代谢与离体形态发生途径决定的关系. 华北农学报,15:52-57.

He Li-jun, Qi Bing-jie. 2002. Study on dynamics of cytohistological starch accumulation during somatic embryogenesis of *Tetraena mongolica* Maxim. Inner Mongolia Prataculture, 14 (3): 39 - 41. (in Chinese)

何丽君,齐冰杰. 2002. 四合木体细胞胚胎发生中细胞组织学的淀粉积累动态的研究. 内蒙古草业, 14 (3): 39-41.

Hu Shi-yi. 1994. Method of preparation of slides for simultaneous demonstrations of starch grains, proteins and lipoid bodies in plant tissues. Chinese Bulletin of Botany, 11: 49 - 51. (in Chinese)

胡适宜. 1994. 植物胚胎学实验方法(七)——同时显示胚中贮藏的淀粉粒、蛋白质和脂类的永久制片法. 植物学通报, 11: 49-51.

- Jordy M N. 2004. Seasonal variation of organogenetic activity and reserves allocation in the shoot apex of *Pinus pinaster* Ait. Ann Bot, 93: 25 37.
- Karim M Z, Yokota S, Azad M A K, Eizawa J, Ishiguri F, Iizuka K, Yahara S, Yoshizawa N. 2006. Relationship between starch accumulation and organ development at the different growth stages of callus in Kihada (*Phellodendron amurense* Rupr.). Plant Biotechnology, 23: 239 245.
- Lin Rong-shuang, Wang Qing-hua, Liang Li-kun, Zheng Qiu-sheng, Xiao Xian-hua. 2000. Study on dynamics of starch metabolic process during somatic embryogenesis of peanut (*Arachis hypogaea* L.). Journal of Yantai University: Natural Science and Engineering, 13 (3): 226 229. (in Chinese)
  - 林荣双,王庆华,梁丽琨,郑秋生,肖显华. 2000. 花生体细胞胚发生发育过程中淀粉代谢的动态变化. 烟台大学学报: 自然科学与工程版,13(3): 226-229.
- Liu Hua-ying, Xiao Lang-tao, Lu Xu-dong, Wu Shun. 2004. Studies on histocytology of somatic embryogenesis in *Citrus sinensis* cv. Valencia. Journal of Fruit Science, 21 (4): 311 314. (in Chinese)
  - 刘华英, 萧浪涛, 鲁旭东, 吴 顺. 2004. 柑橘体细胞胚发生的组织细胞学研究. 果树学报, 21 (4): 311-314.
- Ribas L L F, Guerra M P, Zanette F, Kulchetscki L. 2000. Somatic embryogenesis in *Aspidosperma polyneuron* Mull. Arg.//Jain S M, Gupta P K, Newton R J. Somatic embryogenesis in woody plants. Dordrecht, Boston, London: Kluwer Academic Publishers: 509 537.
- Ruffoni B, Semeria L, Profumo P. 2000. *Cyclamen persicum* Mill. somatic embryos developed in suspension cultures: Histological analysis and conversion to plant. Acta Hortic, 520: 83 90.
- Schwenkel H G. 2001. Introduction: Botany, economic importance, cultivars, micropropagation of *C. persicum*//Schwenkel H G. Reproduction of *Cyclamen persicum* Mill. through somatic embryogenesis using suspension culture systems. Brussels: European Communities: 3 7.
- Sun Hua-cai, Zhao Lan-yong, Zhang Ling, Ding Yi-ming. 2012. Studies of semi vitro culture of hybridized *Rosa rugosa* style. Acta Horticulturae Sinica, 39 (6): 1183 1190. (in Chinese)
  - 孙华彩, 赵兰勇, 张 玲, 丁一鸣. 2012. 玫瑰杂交花柱半离体培养研究. 园艺学报, 39 (6): 1183 1190.
- Takamura T, Miyajima I, Matsuo E. 1995. Somatic embryogenesis of *Cyclamen periscum* Mill. 'Anneke' from aseptic seedlings. Plant Cell Rep, 15: 22 25
- Wang Li-hong, Wang Xing, Cui Kai-rong, Jiao Cheng-jin, Wang Ya-fu. 1996. Starch metabolism during somatic embryogenesis of *Asparagus officinalis* and *Codonopsis pilosula*. Chinese Bulletin of Botany, 13: 41 45. (in Chinese)
  - 汪丽虹,王 星,崔凯荣,焦成瑾,王亚馥. 1996. 石刁柏及党参体细胞胚发生中的淀粉代谢动态. 植物学通报,13:41-45.
- Wicart G, Mouras A, Lutz A. 1984. Histological study of organogenesis and embryogenesis in Cyclamen persicum. Protoplasma, 119: 159 167.
- Winkelmann T, Hohe A, Schwenkel H G. 1998. Establishing embryogenic suspension cultures in *Cyclamen persicum* 'Purple Flamed'. Advances in Hort Sci, 12: 25 30.
- Wu Jian, Wang Hong-chang, Luo Xian, Zhong Xiong-hui, Gao Ming-wei, Wu Ze, Yi Ming-fang. 2012. Morphological and histological observation of somatic embryogenesis in *Gladiolus hybridus*. Acta Horticulturae Sinica, 39 (12): 2413 2420. (in Chinese)
  - 吴 健,王鸿昌,罗 弦,钟雄辉,高明伟,吴 泽,义鸣放. 2012. 唐菖蒲体细胞胚起源、发育的形态与组织细胞学观察. 园艺学报,39 (12): 2413-2420.
- Xing Geng-sheng, Cui Kai-rong, Dai Ruo-lan, Li Shan, Shan Lun. 1998. A study on quantitative trends of starch during embryogenesis of wheat somatic cell. Journal of Lanzhou University: Natural Sciences, 34: 128 132. (in Chinese)
  - 邢更生,崔凯荣,戴若兰,李 杉,山 仑. 1998.小麦胚性细胞发生中淀粉代谢动态的量化研究. 兰州大学学报: 自然科学版, 34: 128-132.
- Xing Shi-yan, Li Shi-mei, Han Chen-jing, Zhang Fang, Tang Hai-xia. 2010. Comparison on starch characters in endosperm of *Ginkgo biloba* var. *epiphylla* Mak. and its systematic significance. Acta Horticulturae Sinica, 37 (3): 345 354. (in Chinese)
  - 邢世岩,李士美,韩晨静,张 芳,唐海霞. 2010. 叶籽银杏胚乳淀粉特性及其系统学意义. 园艺学报,37(3): 345-354.
- You Cui-rong. 2009. Somatic embryogenesis and development of *Cyclamen persicum* Mill. and expression pattern of SERK gene during embryogenic acquisition[Ph. D. Dissertation]. Qingdao: Ocean University of China. (in Chinese)
  - 由翠荣. 2009. 仙客来体细胞胚胎发生、发育及 SERK 基因在体细胞胚性转化过程的表达特性[博士论文]. 青岛:中国海洋大学.
- 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 Jian, Lü Liu-xin, Huang Chun-mei, Zhang Zhi-ping. 2005. Study on dynamics of starch metabolic process during the development of somatic embryogenesis of citrus. Journal of Luoyang Normal University, 5: 104 - 106. (in Chinese)

张 健, 吕柳新, 黄春梅, 张志萍. 2005. 柑桔体细胞胚的发生及其发育过程中淀粉粒动态研究. 洛阳师范学院学报, 5: 104-106.

Zhang Yue, Sun Hong-mei, Shen Xiang-qun, Chen Wei-zhi. 2007. Changes in ultra-structure of starch granule in the middle scales of *Lilium davidii* var. *unicolor* during the bulb development and storage at low temperature. Acta Horticulturae Sinica, 34 (3): 699 – 704. (in Chinese)

张 月,孙红梅,沈向群,陈伟之. 2007. 百合鳞茎发育和低温贮藏过程中淀粉粒亚显微结构的变化. 园艺学报,34(3):699-704.

Zhang Zheng-hai, Mao Sheng-li, Wang Li-hao, Zhang Bao-xi. 2012. *In vitro* haploid production and application to pepper breeding. Acta Horticulturae Sinica, 39 (9): 1715 - 1726. (in Chinese)

张正海,毛胜利,王立浩,张宝玺. 2012. 辣椒单倍体离体诱导及育种应用. 园艺学报, 39 (9): 1715-1726.

Zhou Yan, Gao Shu-min, Li Feng-lan. 2004. Changes in histochemistry and protein pattern during somatic embryogenesis of carrot. Plant Physiology Communications, 40 (2): 181 - 183. (in Chinese)

周 燕,高述民,李凤兰. 2004. 胡萝卜体细胞胚胎发生中的细胞组织化学和蛋白质组成变化. 植物生理学通讯,40(2):181-183.

征订

## 欢迎订阅 2014 年《作物学报》

《作物学报》是中国科学技术协会主管、中国作物学会和中国农业科学院作物科学研究所共同主办、科学出版社出版的有关作物科学的学术期刊。前身可追溯到 1919 年创办的《中华农学会丛刊》。主要刊载农作物遗传育种、耕作栽培、生理生化、种质资源以及与作物生产有关的生物技术、生物数学等学科具基础理论或实践应用性的原始研究论文、专题评述和研究简报等。办刊宗旨是报道本领域最新研究动态和成果,为繁荣我国作物科学研究、促进国内外学术交流、加速中国农业现代化建设服务。读者对象是从事农作物科学研究的科技工作者、大专院校师生和具有同等水平的专业人士。

《作物学报》从 1999 年起连续 12 年获"国家自然科学基金重点学术期刊专项基金"的资助。2006—2013 年连续 8 年获"中国科协精品科技期刊工程项目 (B类)"资助。从 2002 年起连续 11 年被中国科技信息研究所授予"百种中国杰出学术期刊"称号。2013 年被新闻出版广电总局评为"百强科技期刊", 2011 年获"第二届中国出版政府奖期刊奖提名奖", 2005 年获"第三届国家期刊奖提名奖"。2008 和 2011 年被中国科学技术信息研究所授予"中国精品科技期刊"称号。2009 年被中国期刊协会和中国出版科学研究所授予"新中国 60 年有影响力的期刊"称号。据北京大学图书馆编著的《中文核心期刊要目总览》(2004、2008 和 2011 年版)登载,《作物学报》被列在"农学、农作物类核心期刊表"的首位。

《作物学报》为月刊, 定价 50 元/册, 全年 600 元。可通过全国各地邮局订阅,刊号: ISSN 0496-3490, CN 11-1809/S,邮发代号: 82-336。也可向编辑部直接订购。

地址: 北京市海淀区中关村南大街 12 号,中国农业科学院作物科学研究所《作物学报》编辑部(邮编 100081) 电话: 010-82108548; 传真: 010-82105793; 网址: http://zwxb.chinacrops.org/

E-mail: zwxb301@caas.cn; xbzw@chinajournal.net.cn