

# 小麦幼胚离体培养的不定芽分化及体细胞胚胎发生特性分析

楚宗丽<sup>1</sup>,唐明明<sup>1</sup>,孙红双<sup>1</sup>,陈锋<sup>2</sup>,张天海<sup>1</sup>,  
王付娟<sup>1</sup>,李淑梅<sup>1</sup>,曹永润<sup>1</sup>,李亮杰<sup>1</sup>

(1. 信阳农林学院,河南信阳 464000; 2. 河南农业大学农学院/省部共建小麦玉米作物学国家重点实验室/  
河南省粮食作物协同创新中心,河南郑州 450002)

**摘要:**为了揭示小麦幼胚离体再生过程中的特征变化,以周麦18、郑麦004等8个小麦品种的幼胚为材料,进行愈伤组织的诱导和再分化培养,观察和分析了小麦幼胚离体培养过程中胚性愈伤组织的形成、体细胞胚胎发生及器官发生过程中的组织结构及形态特征变化。结果表明,胚性愈伤的再分化可分为直接成芽、先叶后芽及芽叶混生3种类型。3种分化类型的器官发生表现:直接成芽型随着芽的生长幼叶逐渐展开;先叶后芽型在幼叶边缘、叶片之间组织长出新叶片、不定芽及不定根;芽叶混生型同时具有前两者的特点,且多种器官同时发生。体细胞胚胎发生分为三个阶段:胚胎发育早期、分化成芽和分化发育成器官,三个发育阶段的体胚会同时存在同一组织中。生长后期,直接成芽型较其它两种方式芽苗生长整齐一致,且与芽叶混生型两者都与分化率正相关。

**关键词:**普通小麦;幼胚培养;胚性愈伤;体胚形成;器官形成

中图分类号:S512.1;S330

文献标识码:A

文章编号:1009-1041(2025)08-1025-08

## Characteristics Analysis of Adventitious Buds Differentiation and Somatic Embryogenesis of the Immature Culture in Wheat

CHU Zongli<sup>1</sup>, TANG Mingming<sup>1</sup>, SUN Hongshuang<sup>1</sup>, CHEN Feng<sup>2</sup>, ZHANG Tinhai<sup>1</sup>,  
WANG Fujuan<sup>1</sup>, LI Shumei<sup>1</sup>, CAO Yongrun<sup>1</sup>, LI Liangjie<sup>1</sup>

(1. Xinyang Agriculture and Forestry University, Xinyang, Henan 464000, China; 2. Agronomy College, Henan Agricultural University/National Key Laboratory of Wheat and Maize Crop Science in Henan Province, Zhengzhou, Henan 450002, China)

**Abstract:** To reveal the characteristics changes during the *in vitro* regeneration of wheat immature embryos, this study used immature embryos from eight wheat varieties, including Zhoumai 18 and Zhengmai 004, as materials to induce callus formation and conduct redifferentiation culture. The structural and morphological changes during the formation of embryogenic callus, somatic embryogenesis, and organogenesis in the *in vitro* culture of wheat immature embryos were observed and analyzed. The results showed that the redifferentiation of embryogenic callus can be divided into three types: direct bud formation, leaf-before-bud, and mixed bud-leaf growth. The organogenesis of these three differentiation types manifested as follows: in the direct bud formation type, young leaves gradually unfolded as the buds grew; For the leaf-before-bud type, new leaves, adventitious buds, and adventitious roots emerged from the edges of young leaves or the tissue between leaves; the mixed bud-leaf type exhibited characteristics of both the former types, with multiple organs developing simultaneously. Somatic embryogenesis was divided into three stages: early embryonic development, differ-

收稿日期:2024-10-14

修回日期:2025-03-20

基金项目:河南省科技攻关项目(242102111165, 242102110250);省部共建小麦玉米作物学国家重点实验室开放课题(30501010)

第一作者 E-mail:chuz10000@126.com(楚宗丽)

通讯作者 E-mail:1211108925@qq.com(李亮杰)

entiation into buds, and differentiation into organs, with somatic embryos at all three developmental stages coexisting in the same tissue. In the later growth stages, the direct bud formation type showed more uniform and consistent seedling growth compared to the other two types, and both the direct bud formation and mixed bud-leaf types were positively correlated with the differentiation rate.

**Keywords:** *Triticum aestivum*; Immature embryo culture; Embryonic callus; Somatic embryogenesis; Organogenesis

小麦是世界上重要的粮食作物之一,建立高频稳定的再生体系是小麦遗传转化的技术基础。小麦离体再生常用的外植体主要包括幼胚、成熟胚、花药、原生质体、小孢子等<sup>[1-4]</sup>,小麦幼胚由于不易污染、再生率高,是理想的外植体。研究表明,小麦离体再生受基因型、激素配比、幼胚胚龄<sup>[4-10]</sup>及环境条件的影响<sup>[11]</sup>。为了提高小麦组织培养的再生率,已在适宜基因型的筛选、适宜胚龄、最适外源激素的种类和浓度等方面进行了很多探索和研究<sup>[12-13]</sup>。

在小麦幼胚培养中,首先经诱导培养脱分化形成愈伤组织,愈伤组织再分化的形态发生方式分为体细胞胚胎发生和器官发生<sup>[12-13]</sup>。愈伤组织分为胚性愈伤和非胚性愈伤组织,胚性愈伤组织是体细胞胚胎形成的基础,胚性愈伤组织和体细胞胚的形成是小麦再生成功的关键<sup>[14-15]</sup>。

关于胚性愈伤组织和体胚形成的研究在玉米<sup>[16]</sup>、大豆<sup>[17]</sup>、棉花<sup>[18]</sup>、芍药<sup>[19]</sup>等多种植物中已有报道。研究人员从基因、转录因子<sup>[20]</sup>、miRNA<sup>[21-22]</sup>、调控途径<sup>[23]</sup>等多个角度对胚性愈伤组织和体细胞胚形成的分子机理进行了分析。对于小麦胚性愈伤组织形成过程中的组织结构<sup>[24-26]</sup>也进行了一定的研究。目前,对小麦胚性愈伤和体细胞胚发育的研究还鲜见报道,深入观察和分析小麦再生特性,对提高小麦再生效率具有积极的意义。本研究对不同小麦品种幼胚分化阶段的发育特征进行了观察,了解小麦胚性愈伤组织的分化、体胚发育和器官形成的特点,为探索提高小麦再生效率的有效途径提供参考。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

小麦品种周麦 18、郑麦 004、郑麦 369、豫农 901、苏麦 3 号、郑麦 168、扬麦 13 和扬麦 33 在信阳农林学院试验基地种植,分别于 2021 和 2022 年 4 月观察开花时间,以穗中部开花为标准,挂

牌记录开花日期,在花后 12~18 d 剥取幼胚进行培养。

### 1.2 培 养 基

培养基配方参考前期研究结果<sup>[27-28]</sup>。

诱导培养基:MS+2.0 mg·L<sup>-1</sup> 2, 4-D + 0.5 mg·L<sup>-1</sup> ABA;

分化培养基:MS+2.0 mg·L<sup>-1</sup> KT + 0.5 mg·L<sup>-1</sup> NAA;

以上培养基含有 30 g·L<sup>-1</sup> 蔗糖,5.6 g·L<sup>-1</sup> 琼脂,pH 5.8。

### 1.3 外植体消毒与接种

在花后 12~18 d 取供试品种的主穗,剥取籽粒在自来水下冲洗干净。然后用 75% 酒精灭菌 30 s,15% 次氯酸钠灭菌 8 min,无菌水冲洗 4~5 次,在铺有滤纸的培养皿中剥出幼胚,盾片朝上接种在诱导培养基,每瓶接种 5 枚,每个处理接种 10 瓶,3 个重复。以上操作均在超净工作台进行。

### 1.4 诱导培养与分化培养

将接种在诱导培养基的小麦幼胚,在 20~22 °C 条件下进行黑暗培养,20 d 后统计诱导出的胚性愈伤组织数。然后将胚性愈伤组织切块,转接到分化培养基,在 20~22 °C 条件下,12 h·d<sup>-1</sup> 光照、相对湿度 60%~70% 培养 20 d,统计接种胚性愈伤组织数和分化愈伤组织数。

### 1.5 观察记录与统计

接种后,观察诱导和分化组织发育情况,从培养第 5 天开始,每隔 3~5 d 进行观察和拍照。根据接种幼胚数、获得胚性愈伤组织数、接种胚性愈伤组织数和分化愈伤组织数,计算胚性愈伤组织诱导率和分化率。

胚性愈伤组织诱导率=胚性愈伤组织数/接种幼胚数×100%

胚性愈伤组织分化率=发生分化的愈伤组织数/接种愈伤组织数×100%。

用 SPSS 26 对参试小麦品种(系)的愈伤组织诱导率和分化率进行差异显著性和相关性分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 愈伤组织早期分化类型与特点

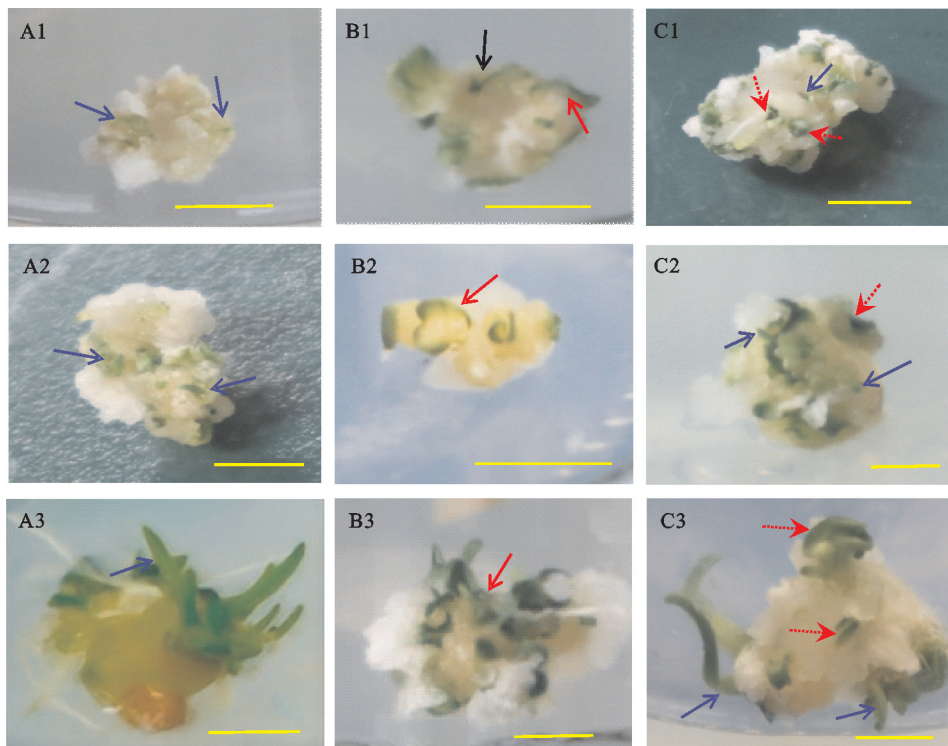
黑暗条件下幼胚诱导培养 3 d 后,盾片开始膨大,6 d 开始脱分化,后逐渐产生颗粒状愈伤组织,15~20 d 形成具有分化能力的胚性愈伤组织。转接到分化培养基上在光照条件下进行培养,一周后观察到胚性愈伤组织开始分化。首先是组织表面有绿色点状或斑块出现,这些点状或斑块后期发育差异明显。根据愈伤组织分化的表型特征,将其分为直接成芽、先叶后芽和芽叶混生 3 种分化类型(图 1)。

**直接成芽型:**胚性愈伤直接分化成芽。分化特点是黄绿色胚性愈伤组织上长出分散黄绿色小点(图 1A1, 蓝色箭头),黄绿色点逐渐生长,长成

芽状组织(图 1A2),小芽逐渐生长,伸长为正常芽(图 1A3)。

**先叶后芽型:**胚性愈伤分化成片状组织,发育成叶。分化特点是致密胚性愈伤组织上出现条状深绿色组织(图 1B1, 红色箭头),绿色面积逐渐扩大,长成片状绿色组织(图 1B2),并逐渐生长成为叶片组织(图 1B3)。

**芽叶混生型:**芽和叶混和生长。分化特点是致密愈伤组织上(图 1C1)长出点状(蓝色箭头)和块状绿色组织(红色箭头),随着生长发育,点状绿色组织(图 1C2)长成为芽(蓝色箭头),块状绿色组织长成片状组织(红色箭头),两种组织(图 1C3)进一步分别长成为芽(蓝色箭头)和叶片(红色箭头)。



A: 直接成芽型(周麦 18); B: 先叶后芽型(郑麦 369); C: 芽叶混生型(郑麦 004); 1: 胚性愈伤组织初分化; 2: 胚性愈伤组织分化成不同器官; 3: 胚性愈伤组织分化成不同器官并进一步生长; 蓝色箭头表示芽, 红色箭头表示叶; 标尺=1 cm。

A: Direct bud formation type(Zhoumai 18); B: Leaf-before-blue type(Zhengmai 369); C: Mixed bud-leaf growth type(Zhengmai 004); 1: Embryogenic callus differentiation primary; 2: Embryogenic callus differentiated into different organs; 3: The growth of organs from embryogenic callus; Blue arrows show buds, red arrows show leaves; Bars=1 cm.

图 1 小麦愈伤组织不同分化类型生长发育过程

Fig. 1 Development of three differentiation types of wheat embryogenic callus

### 2.2 不同分化类型的器官发生特点

分化后的组织继续生长,发育成为芽、叶或根等器官,3 种分化类型后期表现不同的生长发育

特征(图 2)。

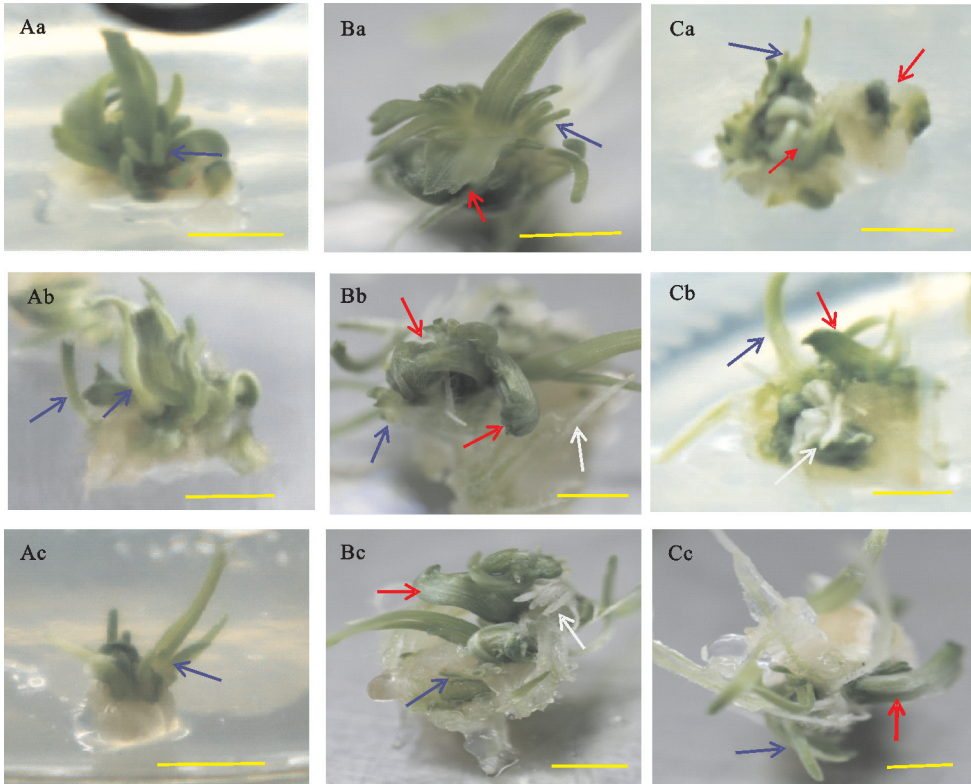
**直接成芽型,**分化的芽逐渐增大,初分化而成的芽(图 2Aa, 蓝色箭头),叶片不断展开(图 2Ab

和图 2Ac,蓝色箭头)。

先叶后芽型,片状组织逐渐生长成叶片后,在叶片基部边缘、叶片与叶片之间的组织上长出新的叶片(图 2B,红色箭头)和不定芽(图 2B,蓝色箭头),而后有不定根发生(图 2B,白色箭头)。

芽叶混生型,生长分化状态活跃,芽继续发育

至叶片不断展开(同直接成芽型,图 2Ca 和图 2Cb);片状组织发育成叶片,并在器官基部或器官之间的组织上长出新的叶片和不定芽、不定根(同先叶后芽型,图 2Cc,红色箭头表示叶片,蓝色箭头表示不定芽),表现多种器官同时发生,整个组织的形态表现为不规则。



A:直接成芽型(豫农 901);B:先叶后芽型(郑麦 369);C:芽叶混生型(郑麦 004);蓝色箭头表示分化成芽,红色箭头表示分化成叶,白色箭头表示分化成根;标尺=1 cm。

A: Direct bud formation type(Yunong 901); B: Leaf-before-blue type(Zhengmai 369); C: Mixed bud-leaf growth type(Zhengmai 004); Blue arrows show buds, red arrows show leaves, white arrows show roots; Bars=1 cm.

图 2 小麦胚性愈伤组织不同分化类型的器官发生特点

Fig. 2 Organogenesis of the three differentiation types of embryogenic callus in wheat

### 2.3 体细胞胚胎的发育与分化

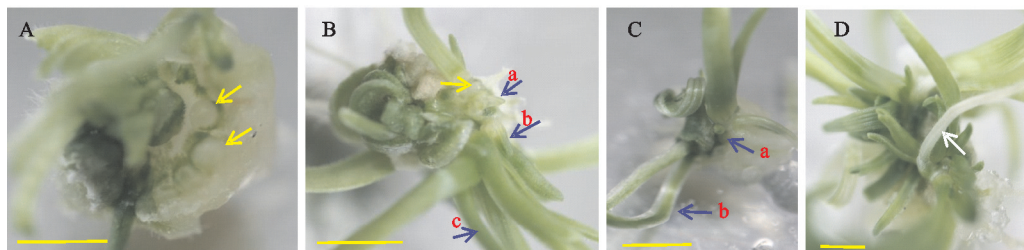
#### 2.3.1 直接成芽型体胚发育与分化

分化后的胚性愈伤组织继续生长发育,有体细胞胚胎(体胚)出现。在直接成芽型的组织中,体胚处于不同的分化和发育时期,包括新形成体胚(胚胎发育早期,图 3A、图 3B,黄色箭头)、体胚分化成芽,并逐渐转绿(图 3B,蓝色箭头 a、b;图 3C,蓝色箭头)、分化的体胚发育成具有叶片的芽(发育成器官)(图 3B,蓝色箭头 c;图 3C),表明一团组织中体胚发育时期不一致。早期发生的体胚已经发育成器官,不定芽之间仍有新的体胚不断形成,进一步分化发育成更多的不定芽(图 3B、图 3C)和不定根(图 3D)。

#### 2.3.2 芽叶混生和先叶后芽型体胚发育与分化

在芽叶混生型和先叶后芽型的组织中,体胚发育和分化仍由三个时期组成,包括胚胎发育早期(图 4A、图 4B,黄色箭头)、分化成芽或绿点(图 4A、图 4B,蓝色箭头)和分化发育成器官(图 4A、图 4B,红色箭头、白色箭头)。

芽叶混生型(图 4A)和先叶后芽型(图 4B)的组织分化后随着发育,在器官之间未分化的组织上,形成发育大小不同的体胚(图 4A、图 4B,黄色箭头),组织中可见分化成芽(图 4A,蓝色箭头)和绿点(图 4B,蓝色箭头),芽和绿点进一步发育成不同器官(叶,图 4A、图 4B,红色箭头;不定根,图 4A、图 4B,白色箭头)。

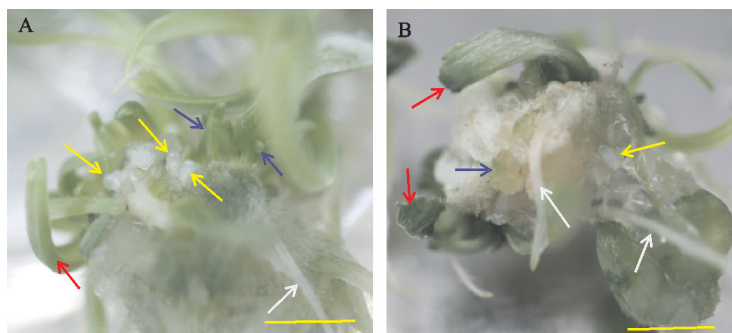


黄色箭头表示体胚,蓝色箭头表示芽,白色箭头表示根;标尺=1 mm。

Yellow arrows show somatic embryo, blue arrows show buds, white arrows show roots; Bars=1 mm.

图 3 直接成芽型体胚发育与分化(周麦 18)

Fig. 3 Development and differentiation of somatic embryo of direct bud formation type(Zhoumai 18)



A: 芽叶混生型(郑麦 004);B: 先叶后芽型(扬麦 33);黄色箭头表示体胚,蓝色箭头表芽或绿点,红色箭头表示叶,白色箭头表示根;标尺=1 mm。

A: Mixed bud-leaf growth type(Zhengmai 004); B: Leaf-before-bud type(Yangmai 33); Yellow arrows show somatic embryo, blue arrows show buds or green point, red arrows show leaves, white arrows show roots; Bars=1 mm.

图 4 芽叶混生和先分化成叶型体胚发育与分化

Fig. 4 Development and differentiation of somatic embryo of leaf-before-bud and mixed bud-leaf growth types

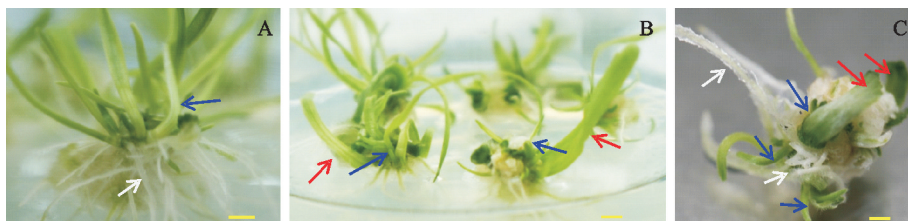
### 2.4 不同分化类型后期长势

直接成芽型,芽后期生长发育状态和长势一致,并有新的不定根发生(图 5A)。芽叶混生型,在同一块愈伤组织中各器官的发育阶段差别较大,表现为在丛生不定芽中,叶、发育中的芽及生长分化中的体胚几种类型同时存在(图 5B)。先叶后芽型,后期生长表现为在叶的周围有叶或不定芽及不定根生长,成为一团有叶、芽和根组成的

不规则组织(图 5C)。

### 2.5 不同品种胚性愈伤诱导分化能力及分化类型的差异

小麦幼胚培养再生能力与基因型相关,8 个品种中,胚性愈伤诱导率为 42.65%~77.24%,其中周麦 18 最高,为 77.24%,豫农 901 次之,为 70.04%;扬麦 13 和苏麦 3 号最低,分别为 42.65%和 47.28%(表 1)。



A: 直接成芽型(周麦 18);B: 芽叶混生型(郑麦 004);C: 先叶后芽型(郑麦 369);蓝色箭头为芽,红色箭头为叶,白色箭头为根;标尺=1 mm。

A: Direct bud formation(Zhoumai 18); B: Mixed bud-leaf growth(Zhengmai 004); C: Leaf-before-bud(Zhengmai 369); Blue arrow show buds, red arrows show leaves, white arrow show roots; Bars=1 mm.

图 5 不同分化类型后期长势

Fig. 5 Growth of three differentiation types

分化培养中,8个品种的分化率范围为54.23%~80.25%,其中郑麦004和周麦18较高,分别为80.25%和79.62%,扬麦13和扬麦33较低,分别为54.59%和54.23%(表1),综合胚性愈伤组织诱导率和分化率来看,其中3个品种周麦18、郑麦004、豫农901再生能力较高。

不同品种中3种分化类型的分布表现为:周麦18和郑麦004直接成芽型占比较高,而先叶后芽型在扬麦33、扬麦13中占比较高,芽叶混生型以郑麦004和豫农901占比较高(图6A)。相关分析表明,3种分化类型和分化率相关,其中直接成芽、芽叶混生型与分化率呈正相关,先叶后芽型和分化率呈负相关(图6B)。

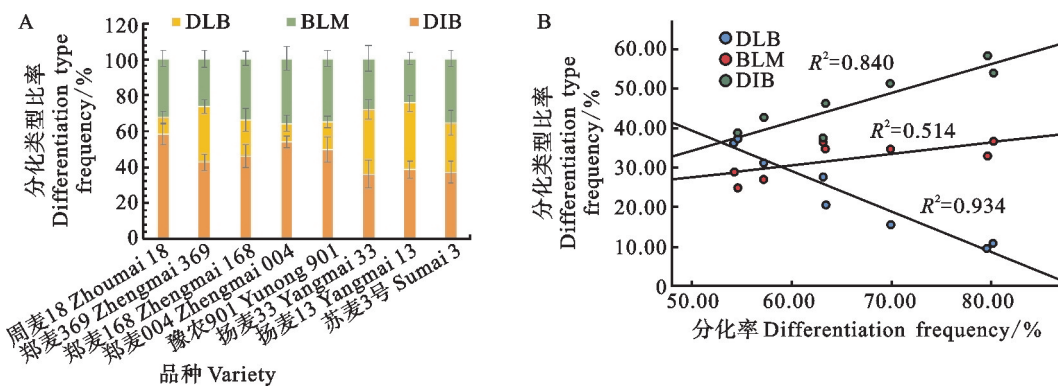
表1 不同品种对小麦幼胚胚性愈伤诱导率和分化率的影响

Table 1 Effect of different varieties on embryogenic callus(EC) induction and differentiation in the culture of immature embryo in wheat

品种 Variety	接种幼胚数 No. of immature embryo cultured	胚性愈伤数 No. of EC induced	诱导率 EC induction frequency/%	接种愈伤数 No. of EC cultured	分化愈伤数 No. of EC differentiation	分化率 EC differentiation frequency/%
周麦18 Zhoumai 18	268	203	75.75±2.89a	211	168	79.62±4.35a
郑麦369 Zhengmai 369	247	158	63.97±4.36c	215	123	57.21±3.21c
郑麦168 Zhengmai 168	232	132	55.90±3.17d	235	149	63.40±5.29bc
郑麦004 Zhengmai 004	263	172	65.40±2.69bc	238	191	80.25±4.55a
豫农901 Yunong 901	247	173	70.04±5.08b	223	156	69.96±4.09b
扬麦33 Yangmai 33	255	152	59.61±2.09cd	201	109	54.23±3.78c
扬麦13 Yangmai 13	204	87	42.65±3.49e	207	113	54.59±1.86c
苏麦3号 Sumai 3	239	113	47.28±4.78e	171	108	63.16±2.51bc

同列小写字母表示0.05水平显著差异。

Different letters in the same row mean significant differences at 0.05 level.



A:8个品种中不同分化类型的比例;B:不同分化类型的占比与分化率的关系;DLB:先叶后芽型;BLM:芽叶混生型;DIB:直接成芽型。

A: The frequency of three differentiation types in 8 varieties; B: The relation of three differentiation type frequency to differentiation frequency; DLB: Leaf-before-bud type; BLM: Mixed bud-leaf growth type; DIB: Direct bud formation type.

图6 不同分化类型占比及其与分化率的关系

Fig. 6 Frequency of different differentiation types and the relation to differentiation frequency

### 3 讨论

小麦再生困难,愈伤组织的形成和分化受基

因型的影响。在本研究中,对8个小麦品种的幼胚进行诱导和分化培养,根据胚性愈伤组织的分化特点将分化类型分为直接成芽型、先叶后芽型

和芽叶混生型3种。不同分化类型在8个品种中的分布占比不同,所以认为幼胚分化类型和基因型相关。愈伤组织的形成和分化还受幼胚胚龄的影响<sup>[7,29]</sup>。前期对豫农201的幼胚培养研究表明,花后10~20 d不同胚龄的幼胚,胚性愈伤组织诱导和分化能力不同,10 d胚龄诱导率低,但诱导出的愈伤组织分化能力强,胚性愈伤组织诱导率和分化率分别是21.53%和92.06%,花后18 d,愈伤组织诱导和分化能力都减弱<sup>[28]</sup>。在杏的幼胚子叶再生研究中,诱导出簇状不定芽、具有不定芽点的叶片和伸长的不定芽3种类型,花后35~60 d不同胚龄的幼胚子叶,诱导不定芽所需激素的最适浓度不同,低胚龄的幼胚子叶需要低浓度的TDZ,较大胚龄的幼胚子叶需要高浓度的TDZ。同时,经4℃处理后,不定芽伸长,花后55~60 d的幼胚子叶不定芽诱导率升高<sup>[30]</sup>。这说明不同发育时期,植物幼胚的生理状态不同,分化特点和分化能力有差异,胁迫处理也会影响分化的发生。

在本研究中,不同基因型的小麦幼胚在花后10~16 d取样,发育进程有差异,取样后材料的短时间低温存放,也会影响到幼胚的生理状态。在诱导和分化培养前,对幼胚的发育进程和生理指标含量的确定,将有助于增加对小麦幼胚分化类型与小麦基因型、胚龄及生理状态之间关系的理解,因此认为,小麦幼胚的分化类型,除了和基因型有关,还受胚龄大小和幼胚生理状态的影响,具体关系仍需进一步试验探索。

梁虹等<sup>[24]</sup>研究小麦幼胚体细胞无性系及其继代过程的微观结构发现,胚性无性系发生能力强的小麦具有较好的细胞组织形式,胚性无性系发生能力弱的小麦体细胞组织形式较差。本研究表明,直接成芽型后期生长整齐,后两种类型中器官和体胚发育阶段差别较大。同时发现,对于3种分化类型,在分化率高的品种中主要是直接成芽型,其次是芽叶混生型,先叶后芽型占比较低。相关分析表明,直接成芽型和芽叶混生型与分化率呈正相关,这两种类型更有利于胚性愈伤组织分化率的提高,以期在品种的已知诱导率基础上,结合胚龄大小和低温处理开展研究,提高直接成芽和芽叶混生型所占的比率,提高小麦再生效率。

愈伤组织再分化的形态发生方式分为体细胞胚胎发生和器官发生<sup>[2]</sup>。伍碧华等<sup>[31]</sup>认为小麦幼胚培养器官发育是以体细胞胚胎发生途径为主。植物体细胞胚胎的发育过程与合子胚相似,

具有不同发育阶段<sup>[32]</sup>,发生一般可分为胚性愈伤组织诱导期、体细胞胚胎诱导、早期发育、成熟和萌发成苗5个阶段<sup>[2]</sup>。本研究在3种分化类型的组织中,观察到不同发育大小的体胚,在遗传转化研究中,有针对性的利用体胚进行遗传转化,将有助于通过提高小麦的再生效率进而提高小麦的遗传转化效率。

#### 参考文献:

- [1]李根英,黄承彦,隋新霞,等.小麦不同外植体的组织培养效果研究[J].麦类作物学报,2006,26(1):21.  
LI G Y, HUANG C Y, SUI X X, et al. Tissue culture efficiency of different explants from wheat [J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2006, 26(1): 21.
- [2]王蒂,陈劲枫.植物组织培养[M].第二版.北京:中国农业出版社,2014.  
WANG D, CHEN J F. *Plant tissue culture* [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2014.
- [3]NIELSEN N H, ANDERSEN S U, STOUGAARD J, et al. Chromosomal regions associated with their *in vitro* culture response of wheat (*Triticum aestivum* L.) microspores [J]. *Plant Breeding*, 2015, 134(3): 255.
- [4]陈俊男,邓志英,田纪春.小麦成熟胚组织培养体系优化及其影响因素的研究[J].麦类作物学报,2012,32(2):197.  
CHEN J N, DENG Z Y, TIAN J C. Optimization of regeneration culture system from mature embryos and its influencing factors [J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2012, 32(2): 197.
- [5]贾华岚,杜丽璞,胡琳,等.河南省新育成8个小麦品种(系)幼胚培养再生性能评价[J].植物遗传资源学报,2017,18(4):728.  
JIA H L, DU L P, HU L, et al. Evaluation of plant regeneration ability of immature embryos from eight new wheat varieties or lines developed in Henan Province [J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2017, 18(4): 728.
- [6]王丽,陈耀锋,张月琴,等.有机添加物对小麦成熟胚愈伤组织分化特性的影响[J].西北农业学报,2014,23(3):45.  
WANG L, CHEN Y F, ZHANG Y Q, et al. Effect of organic additives on differentiation of wheat mature embryo calluses [J]. *Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica*, 2014, 23(3): 45.
- [7]王新国,任江萍,李磊,等.不同培养基及激素配比对小麦幼胚离体培养的影响[J].麦类作物学报,2005,25(2):5.  
WANG X G, REN J P, LI L, et al. Effects of different media and hormone proportions on wheat embryos culture *in vitro* [J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2005, 25(2): 5.
- [8]吴一磊,孙清桐,路璐,等.氨基酸对小麦成熟胚愈伤组织诱导率的影响[J].麦类作物学报,2018,38(4):440.  
WU Y L, SUN Q X, LU L, et al. Effect of amino acids on callus induction rate of wheat mature embryo [J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2018, 38(4): 440.
- [9]王睿辉,陈耀锋,梁虹,等.胚龄和基因型对小麦幼胚体细胞胚性无性系的诱导[J].西北农林科技大学学报(自然科学版),2002,30(4):17.  
WANG R H, CHEN Y F, LIANG H, et al. Effect of age of immature embryos and genotypes of donor plant on the high frequency of somaclones induction in wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. *Journal of Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry (Natural Science Edition)*, 2002, 30

- (4):17.
- [10]张伟,尹米琦,赵佩,等.我国部分主推小麦品种组织培养再生能力评价[J].作物学报,2018,44(2):208.  
ZHANG W, YIN M Q, ZHAO P, et al. Regeneration capacity evaluation of some largely popularized wheat varieties in China [J]. *Acta Agronomica Sinica*, 2018, 44(2):208.
- [11]WANG X M, REN X, YIN G X, et al. Effects of environmental temperature on the regeneration frequency of the immature embryos of wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. *Journal of Integrative Agriculture*, 2014, 13(4):722.
- [12]赵永英,李翠香,苗红梅.影响小麦组织培养效率的重要因素研究[J].河南农业科学,2007,36(1):23.  
ZHAO Y Y, LI C X, MIAO H M. Important factors affecting wheat tissue culture efficiency [J]. *Journal of Henan Agricultural Sciences*, 2007, 36(1):23.
- [13]左静静,刘少翔,闫贵云,等.小麦幼胚组织培养研究进展[J].中国农学通报,2010,26(19):81.  
ZUO J J, LIU S X, YAN G Y, et al. Research advance in tissue culture of wheat immature embryo [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2010, 26(19):81.
- [14]赵元增,茹振钢,李淦.小麦幼胚胚性愈伤组织诱导和再分化研究[J].河南农业科学,2006,35(2):31.  
ZHAO Y Z, RU Z G, LI G. Studies on the induction and differentiation of embryogenic callus from wheat immature embryo [J]. *Journal of Henan Agricultural Sciences*, 2006, 35(2):31.
- [15]周迪,孙连发,陈立君.不同诱导培养基对小麦花药培养胚状体诱导率的影响[J].黑龙江农业科学,2012,(6):9.  
ZHOU D, SUN L F, CHEN L J. Effect of different media on the induction rate of embryoid in wheat anther culture [J]. *Heilongjiang Agricultural Sciences*, 2012, (6):9.
- [16]ALI F, AHSON M, SAEED N A, et al. Establishment and optimization of callus-to-plant regeneration system using mature and immature embryos of maize (*Zea mays*) [J]. *International Journal of Agriculture and Biology*, 2014, 16:111.
- [17]雷海英,武攀,贾彦琼,等.大豆体细胞胚胎发生再生体系的建立与优化[J].华北农学报,2012,27(3):29.  
LEI H Y, WU B, JIA Y Q, et al. Establishment and optimization of regeneration system from somatic embryogenesis in soybean [J]. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2012, 27(3):29.
- [18]YU Y, QIN W Q, LI Y, et al. Red light promotes cotton embryogenic callus formation by influencing endogenous hormones, polyamines and antioxidative enzyme activities [J]. *Plant Growth Regulation*, 2019, 87(2):187.
- [19]李艳敏,蒋卉,符真珠,等.芍药花药愈伤组织诱导及体细胞胚发生[J].植物学报,2021,56(4):443.  
LI Y M, JIANG H, FU Z Z, et al. Callus induction and somatic embryogenesis in anther culture of *Paeonia lactiflora* [J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 2021, 56(4):443.
- [20]YANG X Y, ZHANG X L. Regulation of somatic embryogenesis in higher plants [J]. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 2010, 29(1):36.
- [21]江舟.玉米幼胚胚性愈伤组织诱导过程中重要 miRNA 及靶基因的功能研究 [D].雅安:四川农业大学,2013.  
JIANG Z. Study on the function of important miRNA and target gene in the process of embryogenic callus induction of maize immature embryos [D]. Yaan: Sichuan Agricultural University, 2013.
- [22]CHÁVEZ-HERNÁNDEZ E C, ALEJANDRI-RAMÍREZ N D, JUÁREZ-GONZÁLEZ V T, et al. Maize miRNA and target regulation in response to hormone depletion and light exposure during somatic embryogenesis [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2015, 6:555.
- [23]YANG Z R, LI C F, WANG Y, et al. GhAGL15s, preferentially expressed during somatic embryogenesis, promote embryogenic callus formation in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) [J]. *Molecular Genetics and Genomics*, 2014, 289(5):873.
- [24]梁虹,陈耀锋,王睿辉,等.小麦幼胚体细胞无性系及其继代过程的微观结构观察[J].西北农林科技大学学报(自然科学版),2005,33(9):53.  
LIANG H, CHEN Y F, WANG R H, et al. Microscopic observation on somatic clones from immature wheat embryos and on their changes during subcultures [J]. *Journal of Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry (Nat. Sci. Edi.)*, 2005, 33(9):53.
- [25]伍碧华,郑有良,骆建明.小麦组织培养体细胞胚胎的次生胚状体发生研究[J].西南农业学报,2005,18(4):373.  
WU B H, ZHENG Y L, LUO J M. Secondary somatic embryo production from somatic embryo *in vitro* of bread wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2005, 18(4):373.
- [26]赵彦峰,贾冬冬.不同胚性愈伤率小麦胚发育过程生化和显微结构特征研究[J].安徽农业科学,2020,48(1):7.  
ZHAO Y F, JIA D D. Study on biochemical and microstructure characteristics of wheat embryos development with different embryonic callus capacity [J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2020, 48(1):7.
- [27]余桂荣,尹钧,郭天财,等.小麦幼胚培养基基因型的筛选[J].麦类作物学报,2003,23(2):14.  
YU G R, YIN J, GUO T C, et al. Selection of the optimum genotype for immature embryo culture of wheat [J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2003, 23(2):14.
- [28]楚宗丽.小麦胚性愈伤组织形成转录组学分析及相关 miRNAs 的调控机制研究 [D].郑州:河南农业大学,2016.  
CHU Z L. Transcriptome analysis of wheat embryogenic callus formation and study on the regulation mechanism of related miRNAs [D]. Zhengzhou: Henan Agricultural University, 2016.
- [29]SELDIMIROVA O A, KUDOYAROVA G R, KRUGLOVA N N, et al. Changes in distribution of zeatin and indole-3-acetic acid in cells during callus induction and organogenesis *in vitro* in immature embryo culture of wheat [J]. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 2016, 52(3):251.
- [30]楚宗丽,王力荣,朱更瑞,等.杏胚珠培养及幼胚子叶不定芽诱导研究[J].果树学报,2007,24(5):611.  
CHU Z L, WANG L R, ZHU G R, et al. Ovule culture and adventitious bud regeneration from immature cotyledons of apricot [J]. *Journal of Fruit Science*, 2007, 24(5):611.
- [31]伍碧华,郑有良,李桂江.小麦幼胚培养器官发育途径的组织形态学及量性分析[J].四川农业大学学报,2005,23(3):268.  
WU B H, ZHENG Y L, LI G J. Histomorphology and quantity analysis on ways of organs developed from immature embryo culture in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. *Journal of Sichuan Agricultural University*, 2005, 23(3):268.
- [32]林庆良,许莉萍,高世武,等.甘蔗胚性愈伤组织发生与发育的组织细胞学观察[J].热带作物学报,2010,31(8):1303.  
LIN Q L, XU L P, GAO S W, et al. Cytohistological examination of embryogenesis in sugarcane [J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2010, 31(8):1303.