园 艺 学 报 2014，41（4）：781－788 http: // www. ahs. ac. cn
Acta Horticulturae Sinica E-mail: yuanyixuebao@126.com

‘月月红’月季体细胞胚胎发生和植株再生研究

易 星[1]，陈已任[1,*]，胡博文[1]，陈彦斌[1]，李 青[1]，邓子牛[1]，熊兴耀[1,2,**]

（[1]湖南农业大学园艺园林学院，长沙 410128；[2]中国农业科学院蔬菜花卉研究所，北京 100081）

摘 要：以建立月季高频再生体系为目标，以‘月月红’月季叶片为外植体，探索了生长调节剂和光照条件对其体细胞胚胎发生及其植株再生的影响。结果表明：胚性愈伤组织在含 3.0 mg · L^{-1} 2,4-D + 0.5 mg · L^{-1} TDZ 的胚分化培养基上暗培养 12 周后转入胚成熟培养基，置于红光（光强约为 7.2 μmol · m^{-2} · s^{-1}）条件下培养，能产生较多具肥厚子叶且有高频再生潜力的体细胞胚。暗培养条件下主要产生无子叶的芽状胚。

关键词：月季；红光；体细胞胚胎发生；器官发生

中图分类号：S 685.12 **文献标志码：**A **文章编号：**0513-353X（2014）04-0781-08

Studies on Somatic Embryogenesis and Plant Regeneration in *Rosa chinensis* ‘Yueyuehong’

YI Xing[1]，CHEN Ji-ren[1,*]，HU Bo-wen[1]，CHEN Yan-bin[1]，LI Qing[1]，DENG Zi-niu[1]，and XIONG Xing-yao[1,2,**]

（[1]*College of Horticulture and Gardening，Hunan Agricultural University，Changsha* 410128，*China*；[2]*Institute of Vegetables and Flowers，Chinese Academy of Agricultural Sciences，Beijing* 100081，*China*）

Abstract：In order to establish a high-frequency regeneration system for rose，the crucial effects of light and plant growth regulators on somatic embryogenesis and plant regeneration in *Rosa chinensis* ‘Yueyuehong’ were investigated using leaf as explant. The results showed that after 12 weeks of callus induction on embryo proliferation medium supplemented with 3.0 mg · L^{-1} 2,4-D + 0.5 mg · L^{-1} TDZ in the dark and a subculture on embryo mature medium under red light（with an intensity of 7.2 μmol · m^{-2} · s^{-1}）treatment，somatic embryos with thick and expanded cotyledon（s），which had potential regenerating capability were mostly observed. While shoot-like embryos without cotyledon（s）were mostly observed in dark condition.

Key words：rose；red light；somatic embryogenesis；organogenesis

月季为蔷薇科（Rosaceae）蔷薇属（*Rosa* L.）多年生木本观赏植物。月季的再生较为困难，而且具有很强的基因型依赖性。有些月季品种的再生体系已有报道。如茶香月季、丰花月季等栽培品种可以经体细胞胚胎发生进行再生（de Wit et al.，1990；Noriega & Söndahl，1991；Kunitake et al.，

收稿日期：2013－12－20；**修回日期：**2014－03－24

基金项目：国家自然科学基金项目（31071826，31272208）；中国高校博士点基金项目（20104320120008）；中国博士后基金项目（20100471215，201104473）；湖南省研究生创新基金项目（CX2012B298，CX2013B295）；湖南省大学生创新基金项目（XCX13101）

* 共同第一作者

** 通信作者 Author for correspondence（E-mail：xiongxy@hunau.net）

1993；Firoozabady et al.，1994；Hsia & Korban，1996；Marchant et al.，1996；van der Salm et al.，1996；Kintzios et al.，1999；Sarasan et al.，2001；Castillon & Kamo，2002；Li et al.，2002；Kim et al.，2003；郭丽娟 等，2007；尤扬 等，2012）。也有报道杂种茶香月季（Hill，1967）、现代月季、多花蔷薇‘Thornless’等可以经过器官再生植株（Burger et al.，1990；Rout et al.，1992；Dubois & de Vries，1995；Rosu et al.，1995；van der Salm et al.，1996；Ibrahim & Debergh，2001；任桂芳 等，2004；孟令宁 等，2012）。郭艳超等（2008）报道香水月季通过类原球茎也可直接获得再生植株。此外，也有报道现代月季（Hsia & Korban，1996；Li et al.，2002；高莉萍和包满珠，2005）和玫瑰类月季 *R. rugosa*-type roses（Kim et al.，2009）可同时进行体细胞胚胎发生和器官发生。但是月季在什么条件下向体细胞胚胎或器官发生转化，影响其转化的关键因子有哪些，尚未见报道。

Chen 等（2006，2010，2013）建立了‘月月红’再生体系和基因转化体系，晏慧君等（2012）也初步报道了‘月月红’的愈伤组织诱导和植株再生。这些研究结果表明，‘月月红’也可以通过器官发生（Chen et al.，2006，2010）和体细胞胚胎发生（晏慧君 等，2012；Chen et al.，2013）两种途径再生植株。但影响‘月月红’进行体细胞胚胎发生或器官发生的关键条件或因子未曾阐述。本试验中通过‘月月红’体细胞胚胎发生条件优化研究，发现了介于体细胞胚和再生芽的中间类型——芽状胚，阐述了体细胞胚胎发生和器官发生之间的联系，以及体细胞胚胎发生和器官发生相互转化的关键因子。

1 材料与方法

1.1 愈伤组织的诱导

‘月月红’月季（*Rosa chinensis*‘Yueyuehong’）于 2007 年秋季采自北京林业大学苗圃。从当年生半木质化枝条上剪取饱满但未萌发的腋芽茎段，剪去叶片，清洗干净后用 0.1%升汞表面消毒 10 min，无菌水冲洗 3 ~ 5 次后，置于芽分化培养基（MS + 6-BA 1.0 mg · L^{-1} + NAA 0.05 mg · L^{-1} + GA_3 3.0 mg · L^{-1} + 0.6%琼脂）上培养。取无菌组培苗上叶片（叶长 0.5 ~ 0.8 cm，带约 1 mm 叶柄）作为后续试验的外植体。

叶片背面朝下置于含胚分化培养基（Chen et al.，2006）上培养。胚分化培养基为：SH（Schenk & Hildebrandt，1972）+ 3%糖 + L－脯氨酸 300 mg · L^{-1} + 0.4%琼脂糖 + 不同浓度的 2,4-D 和 TDZ 共设计 4 种组合：① 2,4-D 3.0 mg · L^{-1}；② TDZ 0.5 mg · L^{-1}；③ TDZ 2.5 mg · L^{-1}；④ 2,4-D 3.0 mg · L^{-1} + TDZ 0.5 mg · L^{-1}，pH 5.4。培养皿统一用 Parafilm 封好，并置于暗处培养。每个处理至少 30 个外植体，并重复 3 次。每 4 周更换 1 次新鲜培养基，并置于相同条件下培养。

1.2 胚性愈伤的保持与体胚发生

培养 12 周后，从 4 种胚分化培养基上选取一部分胚性愈伤转移到胚成熟培养基：SH + 2,4-D 1.0 mg · L^{-1} + TDZ 0.1 mg · L^{-1} + ABA 1.0 mg · L^{-1} + GA_3 3.0 mg · L^{-1} + 3%糖 + 0.4%琼脂糖，用于体胚的诱导。

另一部分胚性愈伤仍置于胚分化培养基上培养以保持其体胚发生的潜力。培养皿统一用 Parafilm 封好，并置于暗处培养。每个处理至少用 1 g 胚性愈伤组织，并重复 3 次。每 4 周更换 1 次新鲜培养基，并置于相同条件下培养。8 ~ 12 周左右观察愈伤和体胚发生情况。

培养 12 ~ 20 周可见球形胚松散型沙粒状愈伤组织。将在 2,4-D + TDZ 胚分化培养基上获得的带球形胚的沙粒状愈伤组织分成 3 组，每组约为 1 000 mg，分别置于暗处（暗培养用普通包装纸箱）、

红光（由 13W Mini Twister Energy Saver Red bulbs 供应，光强约为 7.2 μmol · m^{-2} · s^{-1}）和白光（由实验室白色荧光灯管提供，光强约为 27.0 μmol · m^{-2} · s^{-1}）处培养，约 12 周后统计胚胎发生情况并拍照。

1.3　体细胞胚的后期发育及植株再生

为获得从体胚再生出的完整植株，将各种类型的体胚在子叶刚刚展开时从愈伤组织上剥离下来，置于芽分化培养基上，培养温度（25 ± 2）℃，白光光照 16 h/黑暗 8 h，进一步转入温室炼苗移栽。对不同类型胚的再生进行分别统计，于 12 周左右计算再生比例。将暗培养或红光培养产生的芽状胚分成两类：已分叉型和未分叉型，转到白光（光强约为 27.0 μmol · m^{-2} · s^{-1}）条件下培养，观察其继续生长分化情况。

2　结果与分析

2.1　愈伤组织形成和体胚发生受 2,4-D 和 TDZ 的影响

前期研究发现，在只含 2,4-D 的培养基上，‘月月红’叶片主要产生白色硬质和褐色沙质愈伤组织。本试验中采用‘月月红’月季叶片为材料在不同的 2,4-D + TDZ 组合培养基上培养。结果表明，培养 12 周后产生的愈伤组织主要分化成两种类型：白色硬质愈伤组织和半透明水渍状愈伤组织（图 1，A、B）。只有半透明水渍状愈伤组织在继代过程中可以产生球形胚（图 1，C、D）。

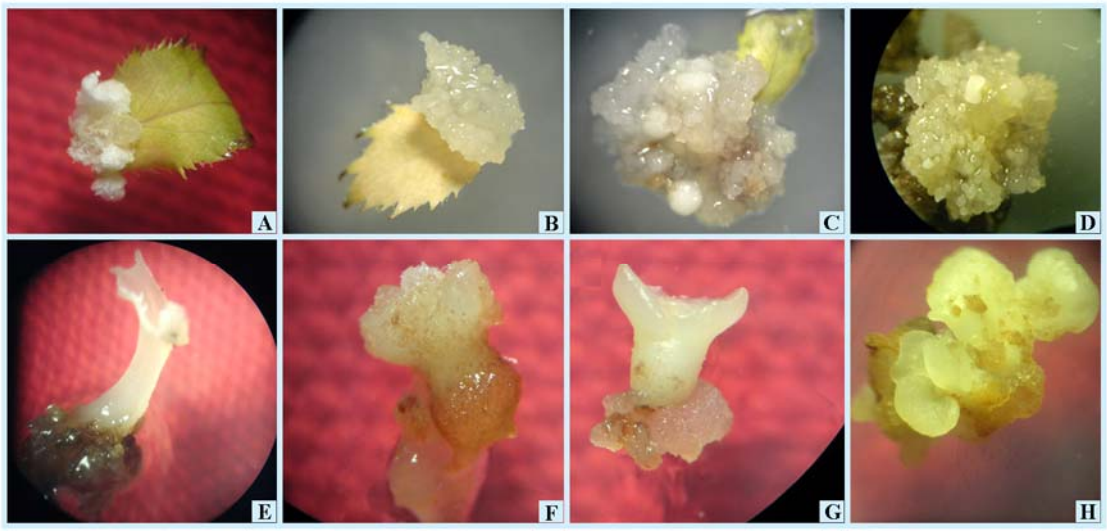

图 1　‘月月红’月季受 2,4-D 和 TDZ 诱导的愈伤组织和畸形胚

A：2,4-D 3.0 mg · L^{-1}，白色硬质愈伤组织；B：TDZ 0.1 mg · L^{-1}，半透明水渍状愈伤组织；C、D：2,4-D 3.0 mg · L^{-1} + TDZ 0.5 mg · L^{-1} 球形胚（C：培养 12 周，D：培养 20 周）；E、F：TDZ（0.5 mg · L^{-1} 或 2.5 mg · L^{-1}），‘木耳’状畸形胚或畸形芽；G、H：TDZ 2.5 mg · L^{-1}，畸形胚继续分化愈伤组织（H 形似“灵芝”，容易在继代后褐化死亡）。

Fig. 1　Callus and abnormal embryo styles induced by 2,4-D and TDZ in *R. chinensis*‘Yueyuehong’

A：Hard，white callus induced by 2,4-D 3.0 mg · L^{-1}；B：Semi-transparent，watery callus induced by TDZ 0.1 mg · L^{-1}；C，D：Globular primary embryos induced by 2,4-D 3.0 mg · L^{-1} and TDZ 0.5 mg · L^{-1}（C：After 12-week；D：20-week culture period）；E，F：The abnormal ‘wood ear’-like embryos were differentiated gradually by TDZ（0.5 mg · L^{-1} or 2.5 mg · L^{-1}）；G，H：The abnormal embryos were continue to differentiated callus by TDZ 2.5 mg · L^{-1}（H：Appeared ‘Ganoderma’-like，browned and died in following cultures）.

在 2,4-D 3.0 mg · L^{-1} + TDZ 0.5 mg · L^{-1} 的组合培养基上最先产生球形胚（图 1，C），并且在该组合培养基上继续培养，愈伤组织会保持半透明水渍状特性，同时不断长出新的球形胚（图 1，D）。

在只含 TDZ（0.5 mg · L^{-1} 或 2.5 mg · L^{-1}）的培养基上容易最先长出体胚，但多数畸形，叶片呈“木耳”状或“灵芝”状（图 1，E ~ H），在 TDZ 浓度较高时（2.5 mg · L^{-1}），畸形胚会逐渐变成半透明水渍状，在随后的继代培养基中褐化死亡（图 1，G、H）。

2.2 光照对月季体胚分化的影响

带球形胚的愈伤组织在培养 12 周后不断分化出体细胞胚，但形态上有明显差异，主要表现为 4 种类型：无子叶的纤细芽、有 1 片伸展子叶、有 2 片伸展子叶的胚和有 3 片以上或丛生的不正常子叶。在不同光照条件下，体胚分化类型有明显差异。不同类型的胚在黑暗、红光、白光 3 种培养条件下都会产生，但比例明显不一样（图 2）。黑暗条件下主要产生无子叶芽状胚；红光和白光条件下主要产生有 1 片子叶和有 2 片子叶的正常体胚，红光条件下产生的正常子叶胚比例最高。说明 3 种条件下，红光最适宜‘月月红’子叶胚的形成。

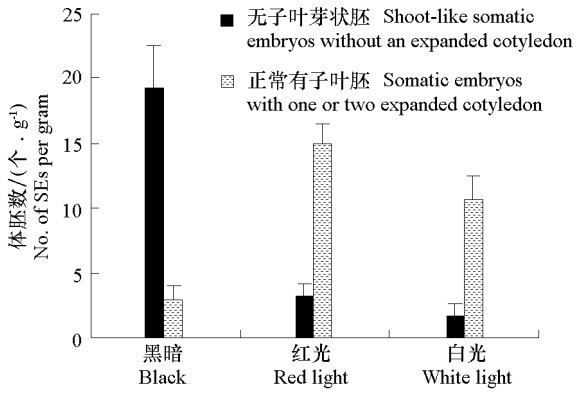

图 2 不同光处理对‘月月红’月季愈伤组织分化体胚的影响

Fig. 2 Effects of light treatments on somatic embryos differentiation of callus in *R. chinensis*‘Yueyuehong’

2.3 光照对体胚形态发育的影响

在不同光照条件下，体细胞胚的形态随着培养时间的增加表现出明显差异。在暗培养条件下，体胚主要以无子叶芽状胚形态存在（图 3，A）；在红光条件下，主要以带有宽厚伸展的 1 片或 2 片子叶胚形态存在（图 3，B）；在白光条件下，胚性愈伤会逐渐硬化，并长出叶绿素，呈浅绿色，体胚多数为带有 1 片宽薄型子叶的胚，少数为 2 片子叶胚（图 3，C）。

将无子叶芽状胚（图 3，D）从暗处转移到光照条件下（红光或白光），其中一些可以在长下胚轴顶端分化出小子叶（图 3，E ~ H），但是那些已经在顶端形成分叉了的（图 3，I）就不会再分化出子叶，而是长出真叶或不分化出正常叶片（图 3，J）。

2.4 不同类型体胚的再生植株

月季体胚再生成正常植株的频率比较低。本研究中发现，不同类型的体胚再生频率相差很大：有 2 片子叶的体胚再生频率最高，达到 45%左右；无子叶芽状胚和只有 1 片子叶的体胚的再生频率低，分别为 22%和 15%；畸形体胚再生频率低于 5%。

本试验中选取的是子叶刚刚展开的体胚，因为前期研究发现，若体胚子叶完成展开、向外翻卷甚至芽点所在位置形成可见愈伤，则这类体胚会继续分化出大量愈伤，甚至子叶也会变成愈伤组织，很难再生出植株。这可能是因为在 2,4-D 的培养基上滞留的时间太长。

在前 4 周，体胚主要表现为子叶膨大，并逐渐转绿，在这一过程中芽尖也逐渐形成并逐渐显现（图 4，0、14、28 d）；在 5 ~ 7 周，子叶会停止膨大，芽尖迅速伸长，长出茎和叶，下胚轴也伸长，长出根（图 4，49 d、63 d）；在 12 周左右能形成小植株，小植株的基部可以看到退化的子叶（图 4，84 d）；16 周即可转移到生根培养基上生根；20 周可以炼苗；若温室培养条件适宜，再过 10 ~ 12 周可以开花。

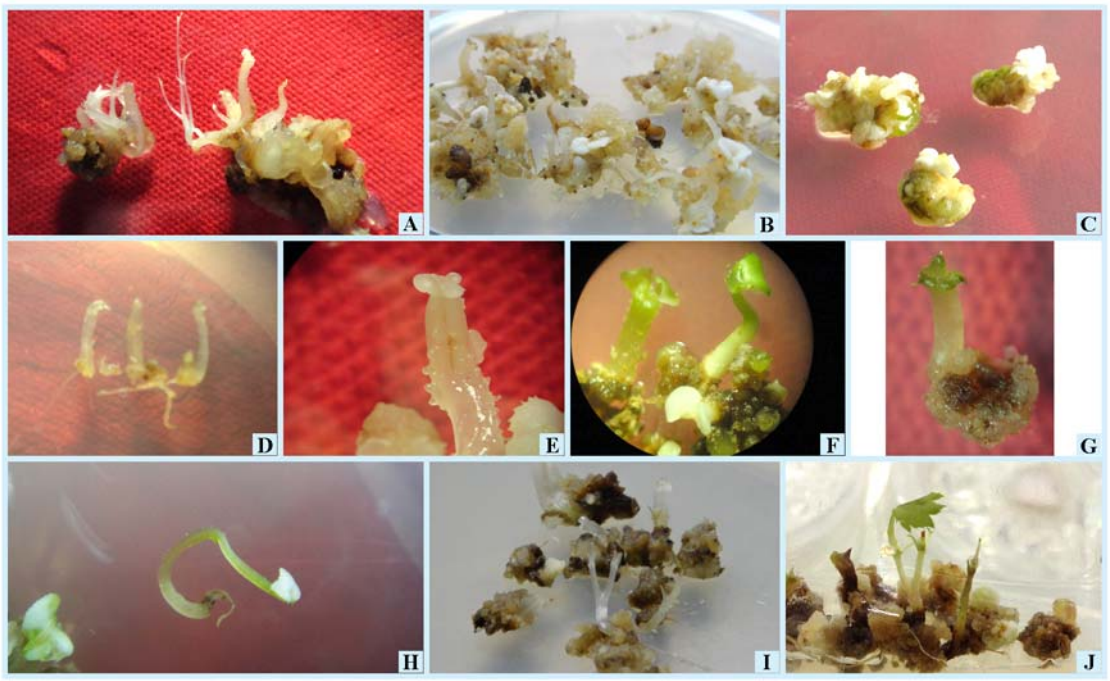

图 3　不同光处理条件下‘月月红’月季体胚形态变化

A：暗培养；B：红光处理；C：白光处理；D：暗培养下产生的芽状胚；E：芽状胚从暗处转移到红光下产生小型子叶；F～H：芽状胚从暗处转移到白光条件下产生小型子叶；I：暗培养条件下产生的有分叉的芽状胚；J：有分叉芽状胚在转到光照条件后只分化出真叶，不分化出子叶。

Fig. 3　Morphological changes of SEs in *R. chinensis*‘Yueyuehong’under different light treatments

A：In the dark；B：Under red light；C：Under white light；D：Shoots generated in the dark；E：Transferred from the dark to red light，cotyledons generated；F－H：Transferred from the dark to white light conditions；I：Generated in the dark with ramification；J：Could not generate cotyledons when transferred to light conditions.

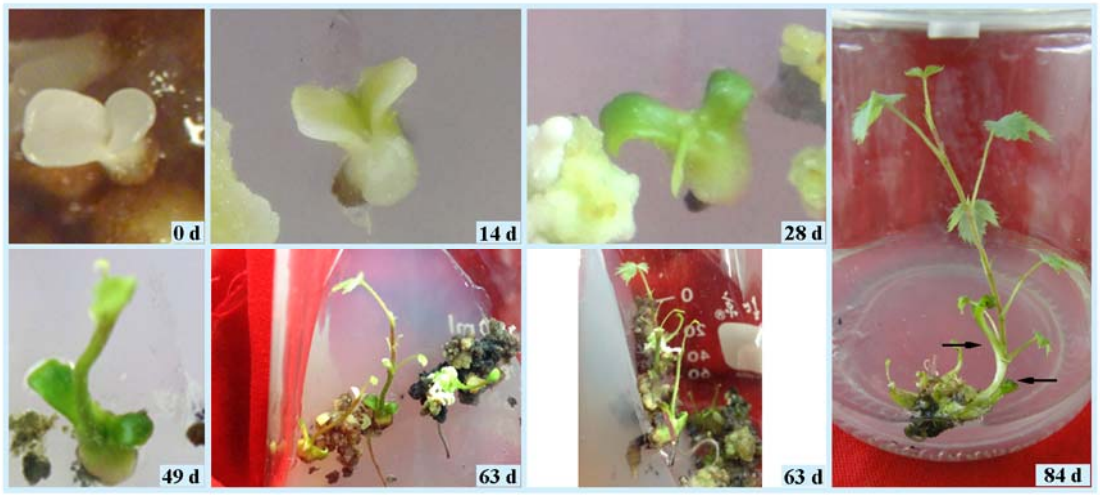

图 4　‘月月红’月季体胚再生过程

箭头所指为体胚最初的子叶。

Fig. 4　Regeneration of somatic embryos in *R. chinensis*‘Yueyuehong’

Arrows indicate the original cotyledons.

3 讨论

目前，体细胞胚胎发生和器官发生被定义为植株再生的两种不同途径。体细胞胚胎发生是指单细胞或一群细胞被诱导，不断再生非合子胚，并萌发形成完整植株的过程。器官发生是指从单个细胞或多个细胞诱导茎或根（器官）分化的发育过程。一般情况下，看到芽长出来就会定义为“器官发生”，看到有宽厚的子叶长出来就会定义为“体细胞胚胎发生”。但是本研究发现芽状体在从愈伤组织上剥离后能看到两极结构（根和芽），其本质是胚，或叫芽状胚。在红光处理条件下，芽状胚和子叶胚都能形成。因此，对‘月月红’再生途径是“器官发生”还是“体细胞胚胎发生”途径的界定持不同观点。前期研究表明，用‘月月红’幼叶为外植体诱导出愈伤后可分化出芽，因此被定义为“器官发生（Organogenesis）”（Chen et al.，2006；2010）。Meira（1999）对两项发生途径进行了界定，体细胞胚胎具有两极性（bipolar），即同时具有根和芽两极；器官发生具单极性，只分化出根或芽，即体细胞胚胎的发生的鉴别标准应为发生后是否具有两极性，而非是否具有子叶。因而在本试验中获得的体细胞胚具有两种类型，一种为子叶胚，另一种为经严格定义后的芽状胚。经研究结果推断芽状胚是体细胞胚的一种特殊类型，它是因光照不足导致无法形成子叶，而下胚轴伸长后使其形态像芽。

本研究结果还表明，‘月月红’体细胞胚发生类型与光照有着非常密切的关系。黑暗条件多产生无子叶芽状胚，红光和白光条件下多产生子叶胚。芽状胚在黑暗条件下形成后，若转移到红光或白光条件下后，也能部分分化出带有长下胚轴的小片子叶。光照条件对植株再生的影响已有报道。红光对体胚发育的影响尤为突出，可以使温柏（D’Onofrio et al.，1998）、胡萝卜（Michler & Lineberger 1987）以及多种松树（Merkle et al.，2005）体胚发生频率显著增加。红光对愈伤组织诱导芽也有促进作用，可以促进玛咖（王亚丽 等，2007）、甘蔗（梁钾贤和陈彪，2006）愈伤组织诱导芽和小苍兰根芽（车生泉 等，1997）的分化。徐根娣等（1995）的研究表明，持续光照下，蓝光对旱芹体细胞胚发生最有利，其次是白光和黄光，红光作用最弱。光质是植物生长发育过程中具有广泛调节作用的环境因子，可能通过对细胞分化的调控继而影响体细胞胚胎发生（刁丰秋 等，2000）。同时光强也可影响体细胞胚胎发生，高强度白光和蓝光能抑体细胞胚发生，而红光、绿光与黑暗利于胚状体的发生（Michler & Linerger，1987）。本研究中‘月月红’月季在红光（光强约为 7.2 μmol · m^{-2} · s^{-1}）条件下能产生高频再生潜力的体胚，与黑暗条件下产生芽状胚不同。但是关于光质如何调控月季细胞分化、对月季体细胞胚发生所起的作用及机理还有待进一步深入研究。

References

Burger D W，Liu L，Zary K W，Lee C I. 1990. Organogenesis and plant regeneration from immature embryos of *Rosa hybrida* L. Plant Cell，Tiss Org Cult，21：147－152.

Castillon J，Kamo K. 2002. Maturation and conversion of somatic embryos of three genetically diverse rose cultivars. HortScience，37：973－977.

Che Sheng-quan，Sheng Yue-ying，Qin Wen-ying. 1997. Effects of light quality on *Freesia vitro* shoot tip culture. Acta Horticulturae Sinica，24 (3)：269－273. (in Chinese)

车生泉，盛月英，秦文英. 1997. 光质对小苍兰茎尖试管培养的影响. 园艺学报，24 (3)：269－273.

Chen J R，Liu R，Wang H F. 2006. Plant regeneration of transgenic China rose（*Rosa chinesis* Jacq.）from organogenic callus. For Stud China，8：92－97.

Chen J R，Lü J J，Liu R，Xiong X Y，Guo L B，Wang H F. 2010. *DREB1C* from *Medicago truncatula* enhances freezing tolerance in transgenic *M. truncatula* and China rose（*Rosa chinensis* Jacq.）. Plant Growth Regul，60：199－211.

Chen J R，Wu L，Hu B W，Yi X，Liu R，Deng Z N，Xiong X Y. 2013. The influence of plant growth regulators and light quality on somatic

embryogenesis in China rose（*Rosa chinensis* Jacq.）. J Plant Growth Regul，DOI 10.1007/s00344-013-9371-3.

de Wit J C，Esendam H F，Honkanen J J，Tuominen U. 1990. Somatic embryogenesis and regeneration of flowering plants in rose. Plant Cell Reports，9：456－458.

Diao Feng-qiu，Huang Mei-juan，Wu Nai-hu. 2000. Molecular regulation of higher plant embryogenesis. Acta Botanica Sinica，42 (4)：331－340. (in Chinese)

刁丰秋，黄美娟，吴乃虎. 2000. 高等植物胚胎发生的分子调控. 植物学报，42 (4)：331－340.

D'Onofrio C，Morini S，Bellocchi G. 1998. Effect of light quality on somatic embryogenesis of quince leaves. Plant Cell Tiss Org Cult，53：91－98.

Dubois L A M，de Vries D P. 1995. Preliminary report on the direct regeneration of adventitious buds on leaf explants of *in vitro* grown glass house rose cultivars. Gartenbauwissenschaft，60：249－253.

Firoozabady E，Moy Y，Courtney-Gutterson N，Robinson K. 1994. Regeneration of transgenic rose（*Rosa hybrida*）plants from embryogenic tissue. Biotechnology，12：609－613.

Gao Li-ping，Bao Man-zhu. 2005. Callus induction and plant regeneration of *Rosa hybrida*‘Samantha’. Acta Horticulturae Sinica，32 (3)：534－536. (in Chinese)

高莉萍，包满珠. 2005. 月季‘萨蔓莎’愈伤组织的诱导及植株再生. 园艺学报，32 (3)：534－536.

Guo Li-juan，Liu Hui-chao，Jing Shu-fang，Jia Qing-wen. 2007. Study on somatic embtyogenesis and plant regeneration in *Rosa chinensis*. Liaoning Agriculture Sciences，(6)：1－3. (in Chinese)

郭丽娟，刘会超，荆书芳，贾庆文. 2007. 月季体胚诱导和植株再生的研究. 辽宁农业科学，(6)：1－3.

Guo Yan-chao，Zhang Qian，Tian Chuan-wei，Chen Ju，Zhao Liang-jun. 2008. Regeneration of *Rosa odorata* via protocorm-like-bodies. Journal of China Agricultural University，13 (5)：29－34. (in Chinese)

郭艳超，张　倩，田传卫，陈　菊，赵梁军. 2008. 香水月季类原球茎（PLBs）途径再生植株的研究. 中国农业大学学报，13 (5)：29－34.

Hill G P . 1967. Morphogenesis of shoot primordia in cultured stem tissue of a garden rose. Nature，216：596－597.

Hsia C N，Korban S S. 1996. Organogenesis and somatic embryogenesis in callus cultures of *Rosa hybrida* and *Rosa chinensis* Minima. Plant Cell Tiss Org Cult，44：1－6.

Ibrahim R，Debergh P C. 2001. Factors controlling high efficiency adventitious bud formation and plant regeneration from *in vitro* leaf explant of roses（*Rosa hybrida* L.）. Sci Horti，88：41－57.

Kim S W，Oh M J，Liu J R. 2009. Somatic embryogenesis and plant regeneration in zygotic embryo explant cultures of *Rugosa* rose. Plant Biotechnol Rep，3：199－203.

Kim S W，Oh S C，Liu J R. 2003. Control of direct and indirect somatic embryogenesis by exogenous growth regulators in immature zygotic embryo cultures of rose. Plant Cell，Tiss Org Cult，74：61－66.

Kintzios S，Manos C，Makri O. 1999. Somatic embryogenesis from mature leaves of rose（*Rosa* sp.）. Plant Cell Rep，18：467－472.

Kunitake H，Imamizo H，Mii H. 1993. Somatic embryogenesis and plant regeneration from immature seed-derived calli of *Rugosa* rose（*Rosa rugosa* Thurb.）. Plant Sci，90：187－194.

Li X Q，Krasnyanski S F，Korban S S. 2002. Somatic embryogenesis，secondary somatic embryogenesis，and shoot organgenesis in *Rosa*. J Plant Physiol，159：313－319.

Liang Jia-xian，Chen Biao. 2006. Effects of light quality on sugarcane callus seedings. China Sugar Science，(3)：9－11. (in Chinese)

梁钾贤，陈　彪. 2006. 光质对甘蔗愈伤组织分化苗的影响. 中国糖料科学，(3)：9－11.

Marchant R，Davey M R，Lucas J A，Power J B. 1996. Somatic embryogenesis and plant regenration in Floribunda rose（*Rosa hybrida* L.）cvs. Trumpeter and Glad Tidings. Plant Sci，120：95－105.

Meira Z I V. 1999. Developmental and structural patterns of *in vitro* plants//Soh W Y，Bhojwani S S. Morphogenesis in plant tissue cultures. Dordrecht：Kluwer Academic Publishers：235－240.

Meng Ling-ning，Yan Hui-jun，Zhang Hao，Jian Hong-ying，Zhou Ning-ning，Tang Kai-xue. 2012. Prelimary establishment of the regeneration system of *Rosa odorata* var. *gigantean*. Journal of Yunnan Agricultural University，27 (6)：870－874. (in Chinese)

孟令宁，晏慧君，张　颢，蹇洪英，周宁宁，唐开学. 2012. 大花香水月季再生体系的初步建立. 云南农业大学学报，27 (6)：870－874.

Merkle S A，Montello P M，Xia X，Upchurch B L，Smith D R. 2005. Light quality treatments enhance somatic seedling production in three southern

pine species. Tree Physiol，26：187－194.

Michler C H，Lineberger R D. 1987. Effects of light on somatic embryo development and abscisic levels in carrot suspension cultures. Plant Cell Tiss Org Cult，11：189－207.

Noriega C，Söndahl M R. 1991. Somatic embryogenesis in hybrid tea roses. Biotechnol，9：991－993.

Ren Gui-fang，Wang Jian-hong，Feng Hui，Li Yi，Li Yan，Shi Xue-bo. 2004. Establishment of plant regeneration from leaves explants of *Rosa hybrida*. Acta Horticulturae Sinica，34 (1)：533－536. (in Chinese)

任桂芳，王建红，冯 慧，李 毅，李 燕，施雪波. 2004. 现代月季（*Rosa hybrida*）叶片植株再生体系的建立. 园艺学报，34 (1)：533－536.

Rosu A，Skirvin R M，Bein A，Norton M A，Kushad M，Otterbacher A G. 1995. The development of putative adventitious shoots from a chimeral thornless rose（*Rosa multiflora* Thurb. ex J Murr.）*in vitro*. J Hort Sci，70：901－907.

Rout G R，Samantaray S，Das P. 1992. Chloropromazine induced *in vitro* bud break in *Rosa hybrida* cv. Landora. Orissa J Horticult，20：8－16.

Sarasan V，Roberts A V，Rout G R. 2001. Methyl laurate and 6-benzyl-adenine promote the germination of somatic embryos of a hybrid rose. Plant Cell Rep，20：183－186.

Schenk R U，Hildebrandt A C. 1972. Medium and techniques for induction and growth of monocotyledonous and dicotyledonous plantcell cultures. Can J Bot，50：199－204.

van der Salm T P M，van der Toorn C J G，Hanischten C H，Dons H J M. 1996. Somatic embryogenesis and shoot regeneration fromexcised adventitious roots of the root stock *Rosa hybrida* cv. Money Way. Plant Cell Rep，15：522－526.

Wang Ya-li，Wang Xiao-dong，Zhao Bing，Wang Yu-chun. 2007. Effects of light quality on maca callus growth，differentiation. Process Engineering，(4)：11－13. (in Chinese)

王亚丽，王晓东，赵 兵，王玉春. 2007. 光质对玛咖愈伤组织生长、分化的影响. 过程工程学报，(4)：11－13.

Xu Gen-di，Li Yao，Jia Lin. 1995. Change of biochemical activity during embryonic callus in celery induced by hormone. Acta Agriculturae Zhejiangensis，(3)：23. (in Chinese)

徐根娣，李 瑶，贾 林. 1995. 激素对旱芹胚性愈伤组织形成过程中生化变化的影响. 浙江农业学报，(3)：23.

Yan Hui-jun，Zhang Hao，Jian Hong-ying，Wang Qi-gang，Qiu Xian-qin，Zhang Ting，Tang Kai-xue. 2012. Preliminary study on callus induction and plant regeneration of *Rosa chinensis*‘Slater’s Crimson China’. Southwest China Journal of Agriculture Scienses，25 (1)：247－251. (in Chinese)

晏慧君，张 颢，蹇洪英，王其刚，邱显钦，张 婷，唐开学. 2012. 月季‘月月红’（*Rosa chinensis*‘Slater’s Crimson China’）愈伤组织诱导及植株再生初报. 西南农业学报，25 (1)：247－251.

You Yang，Jin Dian-sheng. 2012. Prelimitary study on somatic embryo induction in *Rosa chinensis*. Hubei Agricultural Sciences，51 (10)：2028－2031. (in Chinese)

尤 扬，金典生. 2012. 月季‘黄和平’体细胞胚诱导的初步研究. 湖北农业科学，51 (10)：2028－2031.