

橡胶树体细胞胚发生研究综述

师万源^{1,2}, 桂明春^{1,2}, 李玲^{1,2}, 缪佳^{1,2}, 孙小龙^{1,2*}

(1. 云南省天然橡胶可持续利用研究重点实验室, 云南景洪 666100;
2. 云南省热带作物科学研究所, 云南景洪 666100)

[摘要]体细胞胚发生是橡胶树离体再生的主要方式, 文章从橡胶树体细胞胚发生研究概况及影响体细胞胚发生的因素、提高体细胞胚发生成功率等方面系统总结了国内外关于橡胶树体细胞胚发生的研究现状, 以期建立高效、稳定的橡胶树离体扩繁体系, 推动规模化健康种苗生产提供参考。

[关键词]巴西橡胶树; 体细胞胚发生; 离体再生

中图分类号: S794.101 文献标识码: A 文章编号: 1672-450X(2026)02-0101-08

Review of Somatic Embryogenesis in *Hevea brasiliensis*

SHI Wanyuan^{1,2}, GUI Mingchun^{1,2}, LI Ling^{1,2}, MIAO Jia^{1,2}, SUN Xiaolong^{1,2*}

1. Yunnan Key Laboratory of Sustainable Utilization Research on Rubber Tree, Jinghong 666100, China;

2. Yunnan Institute of Tropical Crops, Jinghong 6661000, China

Abstract: Somatic embryogenesis is the main method of *in vitro* regeneration of rubber trees. This article systematically summarizes the current research status of somatic embryogenesis in *Hevea brasiliensis* at home and abroad from aspects such as overview of research on somatic embryogenesis in *Hevea brasiliensis*, factors affecting somatic embryogenesis, and improving the success rate of somatic embryogenesis. At the same time, in light of the current technical difficulties and industrial demands, a forward-looking discussion is conducted on establishing an efficient and stable *in vitro* expansion system for *Hevea brasiliensis*, with the aim of providing theoretical basis and practical reference for breaking through the technical barriers of rapid propagation of varieties and promoting the production of large-scale healthy seedlings.

Key words: *Hevea brasiliensis*; somatic embryogenesis; propagation *in vitro*

巴西橡胶树 (*Hevea brasiliensis*) 为大戟科 (Euphorbiaceae) 多年生落叶异花授粉乔木, 由其产出的天然橡胶是我国重要的战略物资和工业原料, 随着国内需求的增长, 提高天然橡胶的自给率迫在眉睫^[1]。目前, 嫁接是橡胶树种苗繁殖主要方法之一, 但砧木基因型的差异易影响接穗苗的生长及日后产胶量^[2]。组织培养可较好地保留供体植株优势, 与常规育种相比, 具有遗传品质高、繁殖速度快、繁殖系数大、培育周期短等特点, 能够在较短时间内生产大批量优质苗木^[3]。

植物组织离体培养主要通过器官发生和体细

胞胚发生两种途径进行, 体细胞胚发生是橡胶树组织培养的主要途径。1952年, Bouyouchou^[4]利用幼嫩茎段首次开展橡胶树组织培养研究, 但结果不理想。1966—1975年, Chua^[5]、Wilson等^[6]也相继开展了橡胶树组培试验, 分别利用胚芽组织和幼苗茎段成功培育出再生植株, 并发现再生植株的生长量和乳胶产量优于传统育苗方式生产的植株。花药^[7]和内珠被^[8]是最早被应用于橡胶树体细胞胚发生的外植体, 后续通过不断深入研究, 以橡胶树根^[9]和叶片^[10]、腋芽^[11]等为外植体均得到再生植株, 且在次生体细胞胚发生技术方

收稿日期: 2025-09-17

基金项目: 云南省热带作物科学研究所热带作物科技创新专项资金(689-3)

作者简介: 师万源(1995—), 男, 研究实习员, 硕士, 研究方向为橡胶树种苗繁育及组织培养。E-mail: 877595031@qq.com

*通信作者: 孙小龙(1977—), 男, 副研究员, 硕士, 研究方向为橡胶树种苗繁育及组织培养。E-mail: longlonghong@tom.com

面也取得了一定的进展^[12]。但体细胞胚诱导率、植株再生频率较低,生产成本较高,成为体细胞胚苗工厂化生产的瓶颈。本文对橡胶树体细胞胚发生的研究概况、主要影响因素和改进措施进行综述,以期对橡胶树体细胞胚发生的进一步研究提供参考。

1 橡胶树体细胞胚发生研究概况

目前橡胶树体细胞胚发生主要有花药培养、内珠被培养及后续衍生出的次生体胚再生。此外,基于叶片、未受粉胚珠、根、茎尖、腋芽的培养,易碎胚性愈伤组织诱导,悬浮细胞培养、原生质体培养也陆续受到研究者的关注。

1.1 花药培养

20世纪70年代至今,各国科学家对橡胶树花药培养进行了全面且深入的研究。1977年,中科院首次利用花药培育出再生植株^[13],王泽云等^[14]随后也通过花药体细胞胚发生途径获得完整植株并首次移栽成活。1984年,王泽云等^[15]发现采用花药培养时体细胞胚发生率及再生植株成苗率过低。法国学者Carron等^[16]在后续研究中也得出相似的结论。随着研究的深入,花药培养技术取得新的突破。梁国平等^[17]从多个橡胶品系的花药离体培养中筛选出的胚状体诱导率高达76.83%、成苗率16.90%、移栽成活率56.80%的橡胶品种云研73-477。谭德冠等^[18]系统探究了橡胶树花药体细胞胚的发育过程,并对其进行阶段划分,同时优化了培养条件,该研究将体细胞胚发育过程分为球形胚—一心形胚—鱼雷胚—子叶胚。李玲等^[19]以经过花药离体培养后发育成熟的子叶型体细胞胚为材料,发现活性炭的量对橡胶树体细胞胚植株的伸长和侧根的形成影响较大,当活性炭质量浓度为1.0 g/L时,生成的侧根数最多,成苗率最高,达到69.44%,移栽前进行短期的室外炼苗可提高体细胞胚植株的移栽成活率。

1.2 内珠被培养

内珠被与花药一样具有体细胞胚发生能力,内珠被培养可有效解决以花药为外植体的季节限制,也是继花药培养后进行橡胶树组织培养的

又一重要途径^[20]。法国学者于1982年开始对橡胶树内珠被培养进行研究,直至1992年,Carron等^[21]在多个橡胶树品种中使用内珠被成功诱导出体细胞胚并建立再生体系,内珠被的胚性愈伤组织诱导率在60%~100%,经过体细胞胚再生的植株频率可达30%。1999年,Lardet等^[22]利用内珠被培养获得的子叶型体细胞胚与合子胚进行再生植株诱导,结果显示两者诱导再生植株的能力均为50%~60%,几乎一致。2014年,戴雪梅等^[23]研究发现,以内珠被为起始外植体获取的原生质体在产量与活力、分裂与生长两方面均显著优于以花药为外植体的,但在体细胞胚发生与植株再生阶段内珠被起源原生质体的体细胞胚无法正常萌发成完整植株。Tisarum等^[24]在2018年以内珠被诱导体细胞胚,探究CO₂浓度对不同基因型橡胶树体胚发生能力的影响,发现体细胞胚质量与CO₂浓度呈负相关,且不同基因型对CO₂浓度的响应不同。

1.3 次生体胚再生

次生体胚再生指从已有体细胞胚上再生新体细胞胚的现象,具有可循环增殖,无需反复采集外植体,繁殖效率高的特点^[25]。2002年,Asokan等^[26]首次对橡胶树次生体胚技术进行报道,利用内珠被子叶型初生胚继代培养诱导次生胚,发现在培养基中加入4mg/L 2,4-D+5%的蔗糖有利于内珠被体细胞胚发生的循环。2015年,李玲等^[27]发现随着继代培养次数增加,次生体细胞胚成熟度会下降,若不进行适当的成熟处理,会导致植株再生率降低。2024年,田雯等^[28]发现使用5.0~15.0 mg/L AgNO₃处理次生体胚21 d,其褐化程度明显较轻,且高浓度AgNO₃对子叶型胚状体个数影响显著,但长时间高浓度处理易增加体细胞胚畸形率。

1.4 其他培养方式

1.4.1 基于叶片、未受粉胚珠、根、茎尖、腋芽的培养

2006年,Kala等^[10]首次利用再生植株的幼嫩叶片形成次生体细胞胚。2009年,Kala等^[29]以温室内芽接苗叶片为外植体开展橡胶树体细胞胚

发生的研究,结果显示:180 d内可诱导出易碎胚性愈伤组织,诱导率为38.30%,添加AgNO₃可将胚性愈伤组织诱导率提高至43.30%,并获得体细胞胚和再生植株。欧阳超^[30]在2014年尝试用橡胶树叶片为外植体获取再生植株,但结果并未成功,只能诱导出愈伤组织。

未授粉胚珠、根系、茎尖、腋芽的离体培养难度很大。上世纪80至90年代,我国学者对多个橡胶树品种的未授粉胚珠进行大量培养以探究其再生植株的能力,但结果均不理想^[31-33],所以2008年吴煜等^[34]提出了未授粉胚珠的体细胞胚发生率远低于花药的观点。Zhou等^[35]选用试管苗根系做外植体,60 d后可形成易碎胚性愈伤组织,再经过体细胞胚发生成功获得再生植株。但时至今日,利用橡胶树大田苗根系为外植体诱导出再生植株的还未见报道。1975年,Paranjothy等^[36]率先用橡胶树无菌实生苗茎尖为外植体诱导不定芽,但仅获得少量愈伤组织。CH等^[37]在研究橡胶树组培苗的茎尖诱导分化不定芽时发现,添加TDZ有利于诱导茎尖形成不定芽,但同时也会抑制不定芽扩张和伸长。

与茎尖相比,采用腋芽作为外植体诱导的丛生芽在质量和生长速度方面更具优势,但二者在获取再生植株方面均不理想。Meadanha等^[38]采用橡胶树腋芽为外植体,通过优化培养基配方诱导出愈伤组织和幼根,但最终未获得再生植株。随后,2015年谭德冠等^[39]报道,通过腋芽经愈伤分化和体细胞胚诱导成功获取再生植株,但文中并未提及详细的再生过程。直到2023年,王泰桦^[11]以经过次生体细胞胚循环增殖获得的橡胶树‘热研917’无菌体细胞胚苗茎段的腋芽为外植体,通过诱导愈伤组织—诱导胚性愈伤组织—诱导体细胞胚,最终成功获得再生植株。

1.4.2 悬浮细胞培养、原生质体培养及易碎胚性愈伤组织诱导

悬浮细胞培养和原生质体培养均需预先培养出愈伤组织。悬浮细胞培养由Wilson等^[40]提出,最初的研究只能诱导出胚状体,不能获得体细胞胚和再生植株。但随着研究的深入,刘桂珍等^[41]在培养基中加入2,4-D、KT与2%甘油,直接使悬

浮培养基中的悬浮细胞分化出体细胞胚,在获得体细胞胚的同时还诱导出再生植株。2019年,栾林莉等^[42]利用花药胚性愈伤组织成功建立了胚性愈伤组织增殖的悬浮培养体系,并获得再生植株。1980年,Rohani等^[43]首次通过橡胶树花药愈伤组织悬浮细胞分离的原生质体分化出新的愈伤组织。虽然后续橡胶树原生质体培养的相关研究较多,但大部分仍然停留在原生质体分化愈伤组织阶段^[30]。直到2000年,Sushamakumari等^[44]才报道采用橡胶树原生质体培养获得再生植株。到2013年,戴雪梅等^[45]又以橡胶树热研8-79花药愈伤组织建立胚性细胞悬浮体系,通过优化原生质体培养条件,最终实现植株再生。

易碎胚性愈伤组织疏松易碎,能长期继代培养。20世纪80年代,法国农业研究国际合作中心最先对橡胶树易碎胚性愈伤组织的诱导和体细胞胚发生开展研究。1993年,Montoro等^[46]通过优化培养基中Ca²⁺浓度与植物激素含量,成功从橡胶树PB260与GT1两个品种的幼嫩种子内珠被中诱导出易碎胚性愈伤组织。1997年,Etienne等^[47]研究发现,通过长期继代培养并优化培养基配方,可使1 g鲜重的易碎胚性愈伤组织产生355个体细胞胚,将体细胞胚发生率提高至35%。2010年,李哲等^[48]从橡胶树热研88-13品种的内珠被易碎胚性愈伤组织诱导出16 000多个体细胞胚,但最终仅获得115株再生植株。

2 影响体细胞胚发生的因素

2.1 外植体种类

在橡胶树组织培养中,外植体的选择是诱导愈伤组织形成,体细胞胚发生、分化与成熟,再生植株形成的关键性因素。理论上,橡胶树根系、茎尖、腋芽等幼嫩组织,及种子、花药、子房等生殖器官,均具脱分化形成胚性细胞并再生成植株的潜力。然而,在实际研究中大部分还是采用花药和内珠被作为外植体,虽然花药和内珠被易受季节的限制而无法实现全年培养,但二者均可高效诱导胚性愈伤组织和体细胞胚发生,这是其他外植体不具备的。虽然也有部分研究者采用幼嫩茎段腋芽、茎尖、叶片、根系作为外植体,但大

部分研究还停留在胚状体诱导阶段^[11]。未授粉胚珠与子房培养操作繁复、培养困难,且体细胞胚发生率极低;悬浮细胞及原生质体培养需以胚性愈伤组织的成功建立为前提,只有少部分能够实现植株再生^[44]。

2.2 基础培养基

2.2.1 培养基类型和添加物

在橡胶树组织培养时,培养基的种类和状态能够影响愈伤组织的形成和体细胞胚发生。MS培养基因无机盐浓度高、缓冲性强、元素配比均衡且微量元素丰富,可高效诱导愈伤组织形成^[49],常用于花药、腋芽、无菌苗叶片的愈伤组织诱导和体细胞胚分化,长期继代易导致胚性丧失,需添加5 mg/L AgNO₃维持活力,但长期使用易产生畸形胚^[50];在MS培养基中添加0.5 mg/L 油菜素内酯(BR)对易碎胚性愈伤预处理20~30 d,体细胞胚发生率提高40%^[51]。MH培养基缓冲性强,可促进细胞壁的生长,常用于橡胶树内珠被的培养,在MH培养基中添加11 mmol/L CaCl₂增加Ca²⁺浓度,可有效降低内珠被褐化,愈伤诱导率可达86%以上,较MS培养基提高20%^[52]。

蔗糖浓度和Phytigel(植物凝胶)能够影响培养基的渗透压,而渗透压对胚状体形成及植株再生有重要作用。当蔗糖浓度为60~90 g/L,在愈伤组织诱导阶段可促进胚性细胞分化,但在体细胞胚发生阶段需将浓度调至40 g/L以降低抑制^[53]。Phytigel浓度为2.2 g/L有利于愈伤组织增殖,浓度为5.0 g/L可增强体细胞胚分化阶段的稳定性^[11]。在植株再生阶段添加活性炭0.2~1.0 g/L和BR 0.01~0.10 mg/L可吸附酚类物质,降低褐化,也可使植株再生率提高至69%以上,且茎粗增长显著^[54]。

2.2.2 植物生长调节剂

在橡胶树体细胞胚发生过程中,植物生长调节剂发挥着关键作用,例如2,4-D、6-BA、NAA、KT、ABA、GA₃、TDZ等对体细胞胚发生的不同阶段起着不同的作用,尽管彼此间具有相对的专一性,但在调节植物生长的过程中又具有重叠性和互补性^[55]。在胚性愈伤组织诱导阶段,Sushamak-

umai等^[44]认为,在培养基中加入1.0 mg/L 2,4-D+0.5 mg/L KT+0.5 mg/L NAA,橡胶树花药愈伤组织诱导率最高,适量浓度的2,4-D不仅能诱导愈伤组织形成,还可促进部分愈伤组织转变为胚性愈伤组织。在胚性维持阶段,以加入生长素为主,可添加低浓度的细胞分裂素作为辅助。梁国平等^[56]发现,在培养基中加入KT、NAA、2,4-D各1.0 mg/L,经过8次继代培养仍有增殖能力。胚分化阶段应去除生长素,调整细胞分裂素浓度,加入少量脱落酸,以提高体细胞胚产量,增加体细胞胚成熟率。戴雪梅等^[50]在对热研7-33-97花药愈伤组织进行长期继代时发现,去除培养基中2,4-D并添加0.5 mg/L ABA,可使体细胞胚产量提高2.3倍。在体细胞胚成熟阶段,ABA具有促进成熟、诱导脱水耐性、抑制早熟萌发的作用。李季等^[57]研究发现,含5 mg/L ABA的培养基可使早熟萌发率从45%降至8%。在体细胞胚萌发和成苗阶段则需要去除ABA解除萌发抑制。周权男等^[9]研究发现,0.1~0.5 mg/L GA₃可促进胚根和下胚轴的发育,提高萌发率。

2.3 培养方式

目前对橡胶树进行体细胞胚诱导的方式主要有3种:固体培养、液体悬浮培养和间歇浸没式培养,不同体细胞胚发生阶段对培养方式和条件要求不同。倪燕妹^[58]认为,橡胶树胚性悬浮细胞增殖继代阶段宜选用液体悬浮培养,胚性愈伤细胞系在短期内增长率较快,显著高于固体培养和间歇浸没式培养。李淑雅^[59]认为固体培养更适合体细胞胚分化早中期,与其他两种培养方式相比,固体培养提高了培养材料的透气性,缓解了细胞系的氧化胁迫,从而提高了体细胞胚分化能力。固体培养不仅增加体细胞胚分化数量,还可在形成初生胚的基础上再分化出次生胚。李淑雅等^[60]研究发现,在橡胶树胚性细胞团体细胞胚成熟与萌发阶段,使用自动间歇浸没式生物反应器(RITA)进行间歇浸没式培养比固体培养更理想,其体细胞胚成熟率为75.8%,体细胞胚成苗率达74.2%,比固体培养高44%。

2.4 基因型差异

橡胶树体细胞胚发生具有高度的基因型依

赖, 目前仅有热研 7-33-97、热研 917、PB260 等几种基因型的橡胶树能够通过体细胞胚发生途径形成再生植株并用于大规模繁殖^[61]。1998 年, Carron 等^[16]对 18 个橡胶树品种内表皮的体细胞胚发生能力进行了分析, 发现 PB217、PB260、PB280、PB310、PR107 和 RRIM600 具有较高的体细胞胚诱导率, 胚性愈伤组织诱导率范围在 36% ~ 51%。2015 年, 管艳等^[62]以花药为材料, 分析对比 6 个橡胶树品种的愈伤组织诱导、分化能力及植株再生率, 结果表明: 愈伤组织诱导率最高的品种是 RRII105 (93.33%), 云研 77-4 最低; 体细胞胚分化能力最强的是云研 73-477 (76%), 云研 73-46 无体细胞胚分化; 热垦 525 的植株再生率最高 (75.38%), 而云研 73-46 和云研 77-4 无再生植株。由此可见, 不同基因型橡胶树花药在体细胞胚发生各阶段的表现也不相同。2022 年, 顾晓川等^[63]分析不同巴西橡胶树品种对花药体细胞胚发生的影响, 从 32 个主栽品种中收集花药进行组织培养, 结果表明: 子代体细胞胚发生能力与亲本来源紧密相关, 当亲本双方 (如 GT1、天任 31-45、93-114 和 RRIM513 等) 的体细胞胚诱导率较低时, 杂交后代 (如云研 77-2、云研 77-4、云研 73-46、保亭 1-285、湛试 32713 和热研 217) 的诱导率也较低; 但当亲本中的一方 (如 PB86、RRIM600、热研 88-13 和海垦 1) 具有较高的体细胞胚发生能力时, 子代 F₁ 杂交种 (如大丰 95、海垦 2、热研 917、热研 7-33-97、热研 879、热研 188、徐育 3 和徐育 141-2) 的体细胞胚发生能力也较高。

3 提高体细胞胚发生的措施

体细胞胚发生率低是制约橡胶树大规模离体繁育的重要问题, 橡胶树体细胞胚发生不仅与外植体成熟度和自身基因型有关, 还与外界因素密切相关。部分学者对提高橡胶树体细胞胚发生率的技术手段进行了研究。

第一, 外植体优化与预处理。李明星等^[64]研究发现, 橡胶树 GT1 花药愈伤组织诱导率 (86.67%) 大于内种皮和子叶的, 更适合做外植体。谭德冠等^[65]从菌株 ITBB2-31 发酵液中鉴定出活性物质 A, 并对花药进行预处理, 发现可使体

细胞胚发生率增加 3 ~ 4 倍, 植株再生率增加 5 倍, 但目前此项成果仅在专利中报道, 未见相关研究类文献。

第二, 优化培养基及激素配比。顾晓川等^[63]采用改良 MS 培养基+2,4-D (0.2 ~ 2.0 mg/L)+细胞分裂素 (KT/Zeatin 0.2 ~ 2.0 mg/L)+吡氯胺 (Picloram 0.2 ~ 2 mg/L) 组合, 配合椰子水 (40 ~ 90 mL/L), 显著提升胚性愈伤组织诱导率。彭素娜等^[51]在橡胶树体细胞胚分化阶段, 用 0.5 ~ 1.0 mg/L BR+60 ~ 90 g/L 蔗糖预处理易碎愈伤组织 20 ~ 30 d, 体细胞胚发生率比无 BR 处理的提升 3 倍以上。除此以外, 添加 AgNO₃ (2.5 ~ 15.0 mg/L) 可抑制乙烯, 降低褐化率, 减少活性氧, 增加次生胚活力。谭德冠等^[18]研究显示, 当加入 1 mg/L 稀土溶液 (REE, 含 La³⁺、Nd³⁺、Ce³⁺等), 胚状体个数可由 28 个增加至 37.67 个。

第三, 建立胚性悬浮细胞系与长期继代培养。戴雪梅等^[66]构建 II 型悬浮细胞系 (改良 MS+2,4-D 2 mg/L+AgNO₃ 2 mg/L+水解酪蛋白 0.4 g/L+天冬酰胺 0.2 g/L+椰子水 7%+蔗糖 45 g/L), 筛选出鲜黄色颗粒状胚性愈伤 (直径 0.05 ~ 0.10 mm), 再经低密度启动悬浮培养, 体细胞胚发生率可达 100%; 长期继代培养时, 去除固体培养基中的 2,4-D, 添加 ABA (0.1 mg/L) 和水解酪蛋白 (0.5 g/L), 2 a 后体细胞胚发生率仍达 60%。黄天带等^[67]研究发现, 花药愈伤组织在经过一次继代培养后, 分化出的胚状体个数是未继代培养的 4.29 倍。说明继代培养可提高体细胞胚发生能力。

第四, 改善培养环境。谭德冠等^[18]发现将胚状体先暗培养 60 d 后再转移至弱光照条件 (500 lx) 下培养 10 ~ 15 d, 植株再生率可从 15% 提高至 55%。王梦澳等^[68]发现, 发育 21 d 的花药愈伤组织在 15 °C 保存 15 d, 子叶胚数量提高 27.18%, 供应时间延长 60 ~ 95 d, 极大缓解了橡胶树花期短导致外植体来源不足的问题。

4 小结

橡胶树组织培养可促进橡胶树的快速繁殖, 提高繁殖效率以及用于大规模商业化生产, 此项技术的研究可追溯到上世纪 60 年代。随着科技

的进步和研究不断深入,从最初的花药培养、内珠被培养发展到叶片培养、根系培养,从传统的固体培养发展到效率更高的悬浮细胞培养、间歇浸没式培养(TIS)等多个方式,体细胞胚发生率也不断提高。

橡胶树育种通过常规手段需要30 a以上才能培育出一个优良稳定品种,所需时间长,耗费大量精力,采用离体繁殖幼态微型芽条则可以大大缩短培育周期,增殖速度相较于大田育苗也可提高数倍。在未来研究中,可尝试收集产量高、性状稳定品系的花药或内珠被作为外植体,培育微型幼态芽条,并尝试与抗逆性强的实生苗进行芽接,既可保留母本的高产,又有砧木的抗逆性,这也可能成为将来培育出高产、抗逆、速生橡胶种苗的新方法之一。此外,从植物生理机制、遗传因子、生长繁殖等多方面着手,提高橡胶树体细胞胚发生能力和植株再生率,进而构建一个高效的橡胶树组织培养体系,在培育生长快、抗逆性强、产胶量高的橡胶树再生植株方面具有现实意义。

参考文献:

- [1] 孙永帅,田维敏,翟德利,等. 我国橡胶树育种的技术瓶颈与创新建议[J]. 中国科学院院刊,2024,39(1):191-197.
- [2] NAYANAKANTHA NMC,田郎. 橡胶的组织培养:过去、现状及未来的展望[J]. 世界热带农业信息,2010(10):1-5.
- [3] 谭德冠,孙雪飘,张家明. 巴西橡胶树的组织培养[J]. 植物生理学通讯,2005,41(5):674-678.
- [4] BOUYCHOU JG. La culture *in vitro* des tissus d' *Hevea brasiliensis* [J]. Archives des Cultures Tropicales - Rubber Cultivation Special,1952(2):50-53.
- [5] CHUA SE. Studies on Tissue culture of *Hevea brasiliensis*: Role of osmotic concentration, carbohydrate and pH value in induction of callus growth in plumule tissue from rubber seedling [J]. Journal of Rubber Research,1966(5):272-276.
- [6] WILSON HM, STREET HE. The growth, anatomy and morphogenetic potential of callus and cell suspension cultures of *Hevea brasiliensis* [J]. Physiologia Plantarum,1975(36):399-402.
- [7] 王泽云,曾宪松,陈传琴,等. 离体花药诱导巴西橡胶植株[J]. 热作科技通讯,1978(5):1-7,19.
- [8] CARRON MP, ENJALRIC F. Somatic embryogenesis from inner integument of the seed of *Hevea brasiliensis* [J]. Comptes Rendus De L Academie Bulgare Des Sciences,1985,300(111):653-658.
- [9] 周权男,李哲,孙爱花,等. 一种橡胶树试管苗无菌根体细胞胚发生植株再生方法:200810226001.2 [P]. 2011-12-28.
- [10] KALA RG, JAYASHREE PK, SUSHAMAKUMARI S, et al. In vitro regeneration of *Hevea brasiliensis* from leaf explants [C]//Proc. of ICAR National Symposium on Biotechnological Interentions for Improvement of Horticultural Crops: Issues and Strtegies. Thrissur: Kerala Agricultural University,2005:105-106.
- [11] 王泰桦. 橡胶树腋芽体细胞胚再生体系的建立及嫩叶愈伤组织诱导[D]. 海口:海南大学,2023.
- [12] HUA YW, HUANG TD, HUANG HS. Micropropagation of self-rooting juvenile clones by secondary somatic embryogenesis in *Hevea brasiliensis* [J]. Plant Breeding,2010,129(2):202-207.
- [13] 中国科学院遗传研究所,广东省农垦总局保亭热带作物研究所. 三叶橡胶(*Hevea brasiliensis*)花药育株成功(简讯)[J]. 遗传学报,1977,4(2):186.
- [14] 王泽云,曾宪松,陈传琴,等. 用离体花药诱导巴西橡胶植株的研究[J]. 热带作物学报,1980,1(1):16-26.
- [15] 王泽云,吴胡叶,曾宪松,等. 巴西橡胶花药胚的发生和花药植株起源的研究[J]. 热带作物学报,1984(1):9-13,112-113.
- [16] CARRON MP, LAREDT L, DEA BG. *Hevea brasiliensis* micropropagation by somatic embryogenesis [J]. Plantations Res Dev,1998(5):187-192.
- [17] 梁国平,肖三元. 橡胶树花药离体培养及完整植株的诱导[J]. 热带农业科技,2004,27(1):8-10,29.
- [18] 谭德冠,孙雪飘,付莉莉,等. 巴西橡胶树花药体胚发生类型及其培养条件的改良[J]. 热带作物学报,2011,32(7):1290-1295.
- [19] 李玲,邱彦芬,桂明春,等. 橡胶树体细胞胚成苗诱导及炼苗移栽对生长的影响[J]. 植物生理学报,2018,54(12):1797-1802.
- [20] 孙爱花,周权男,戴雪梅,等. 橡胶树体细胞胚发生的最新进展[J]. 热带农业工程,2013,37(5):5-10.
- [21] CARRON MP, DAUZAC J, EFIENNE H, et al. Biochemical and histological features of somatic embryogenesis in *Hevea brasiliensis* [J]. Indian Journal Natural Rubber Research,1992,5(1/2):7-17.
- [22] LARDET L, PIOMBO G, ORIOL F, et al. Relations be-

- tween biochemical characteristics and conversion ability in *Hevea brasiliensis* zygotic and somatic embryos [J]. Canadian Journal of Botany, 1999, 77(8): 1168-1177.
- [23] 戴雪梅, 黄天带, 李季, 等. 不同外植体对橡胶树原生质体分离和再生的影响 [J]. 分子植物育种, 2014, 12(6): 1259-1264.
- [24] TISARUM R, SAMPHUMPHUNG T, THEERAWITAYA C, et al. In vitro photoautotrophic acclimatization, direct transplantation and ex vitro adaptation of rubber tree (*Hevea brasiliensis*) [J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 2018, 133(2): 215-223.
- [25] RAEMAKERS CJM, JACOBSEN E, VISSER RGF. Secondary somatic embryogenesis and applications in plant breeding [J]. Euphytica, 1995, 81(1): 93-107.
- [26] ASOKAN MP, KUMARI JP, THOMAS V, et al. Influence of 2, 4-D and sucrose on repetitive embryogenesis in rubber (*Hevea brasiliensis* Muell. Arg. cv GT1) [J]. Journal of Tree Science, 2002, 21(1/2): 18-26.
- [27] 李玲, 桂明春, 管艳, 等. 激素对橡胶树次生体细胞胚成熟培养的影响 [J]. 中国农学通报, 2015, 31(31): 30-35.
- [28] 田雯, 张子愉, 徐正伟, 等. 硝酸银对橡胶树次生体胚发生的影响研究 [J]. 热带作物学报, 2025, 46(5): 1107-1115.
- [29] KALA RG, GIMISHA GC, KUMARI JP, et al. Somatic embryogenesis in leaf cultures of *Hevea brasiliensis* effect of source plant [J]. Natural Rubber Research, 2009, 22(1/2): 117-126.
- [30] 欧阳超. 橡胶品种热研 7-33-97 苗木叶片愈伤组织诱导及脱分化生理生化特性鉴定 [D]. 海口: 海南大学, 2014.
- [31] 郭高发, 贾学军, 陈伦兴. 离体胚珠诱导巴西橡胶植株 (简报) [J]. 遗传, 1982, 4(1): 27-28.
- [32] 陈正华, 许绪恩, 廖小群, 等. 三叶橡胶未授粉胚珠培养获得再生植株 [Z]. 中国科学院遗传研究所工作年报, 1984: 42.
- [33] 肖三元, 陈正华. 三叶橡胶未授粉子房、胚珠培养再生植株研究初报 [J]. 云南热作科技, 1994(3): 19-20.
- [34] 吴煜, 谭德冠, 张家明, 等. 橡胶树品种海垦 2 花药与未授粉胚珠愈伤组织诱导及胚胎发生能力的比较 [J]. 热带农业科学, 2008, 28(2): 1-4.
- [35] ZHOU QN, JIANG ZH, HUANG TD, et al. Plant regeneration via somatic embryogenesis from root explants of *Hevea brasiliensis* [J]. African Journal of Biotechnology, 2010, 9(48): 8168-8173.
- [36] PARANJOTHY K, GHADIMATHI H. Morphogenesis in callus cultures of *Hevea brasiliensis* [J]. Proceeding of the National Plant Tissue Culture Symposium, 1975, 19-25
- [37] CH NM, JAMNAH AR. Induction of shoots and roots from vegetative tissue culture of *Hevea brasiliensis* RRIM 2020 [J]. Journal of Tropical Plant Physiology, 2014, 6: 1-9.
- [38] MENDANHA LBA, 田郎. 巴西橡胶树的离体微繁殖 [J]. 世界热带农业信息, 2011(9): 1-3.
- [39] 谭德冠, 张家明, 安瓦·堪彭乔等. 一种橡胶树体细胞胚胎发生和植株再生的方法: CN104823850B [P]. 2017-03-15.
- [40] WILSON HM, EISA MZ, IRWIN SWB. The effects of agitated liquid medium on in vitro culture of *Hevea brasiliensis* [J]. Physiologia Plantarum, 1976, 36: 399-402.
- [41] 刘桂珍, 陈正华. 巴西橡胶悬浮细胞培养胚胎发生与植株再生 [J]. 热带作物学报, 1999(4): 1-5.
- [42] 栾林莉, 宋玉凤, 侯辛辛, 等. 巴西橡胶树体胚性愈伤组织悬浮系的建立和植株再生 [J]. 分子植物育种, 2019, 17(8): 2614-2621.
- [43] ROHANI O, PARANJOTHY K. Isolation of *Hevea brasiliensis* protoplasts [J]. Journal of the Rubber Research Institute of Malaysia, 1980, 28: 61-66.
- [44] SUSHAMAKUMARI S, SOBHS S, REKHA K, et al. Influence of growth regulators and sucrose on somatic embryogenesis and plant regeneration from immature inflorescence of *Hevea brasiliensis* [J]. Journal of Rubber Research, 2000, 13(2): 19-29.
- [45] 戴雪梅, 李哲, 华玉伟, 等. 橡胶树热研 8-79 原生质体培养再生植株 [J]. 南方农业学报, 2013, 44(12): 2040-2045.
- [46] MONTORO P, ETIENNE H, MICHAUX-FERRIÈRE N, et al. Callus friability and somatic embryogenesis in *Hevea brasiliensis* [J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 1993, 33(3): 331-338.
- [47] ETIENNE H, LARTAUD M, CARRON MP, et al. Use of calcium to optimize long-term proliferation of friable calluses and plant regeneration in *Hevea brasiliensis* (Müll. Arg.) [J]. Journal of Experimental Botany, 1997b, 48(306): 129-137.
- [48] 李哲, 孙爱花, 黄天带, 等. 橡胶树品种热研 88-13 易碎胚性愈伤组织的诱导及其植株再生 [J]. 热带作物学报, 2010, 31(12): 2166-2173.
- [49] 王慧英. 影响植物愈伤组织形成的因素研究 [J]. 聊城大学学报(自然科学版), 2010, 23(2): 51-53.
- [50] 戴雪梅, 黄天带, 李季, 等. AgNO₃对橡胶树花药愈伤组

- 织形态及体胚发生的影响[J]. 广西植物, 2016, 36(12):1426-1431.
- [51] 彭素娜, 李倩茹, 黄天带, 等. 一种运用油菜素内酯促进橡胶树体胚发生的方法: 202310689862.9[P]. 2024-03-22.
- [52] 孙爱花, 黄天带, 周权男, 等. 不同因素对橡胶树内珠被愈伤组织诱导和体细胞胚发生的影响[J]. 中国农学通报, 2012, 28(25):15-19.
- [53] 顾晓川, 彭素娜, 华玉伟, 等. 一种用于橡胶树的胚性愈伤组织诱导培养基、诱导橡胶树体细胞胚发生的方法和应用: 202110347031.4[P]. 2022-04-15.
- [54] 彭素娜, 邓玉婷, 黄天带, 等. 一种提高橡胶树体胚植株再生效率和质量的方法: 202311207384.X[P]. 2024-02-06.
- [55] BAI Y, QU R. Factors influencing tissue culture responses of mature seeds and immature embryos in turf-type tall fescue[J]. Plant Breed, 2001, 120:239-242.
- [56] 梁国平, 黄凤翔, 管艳, 等. 橡胶树花药愈伤组织继代培养与胚状体发生能力研究[J]. 热带农业科技, 2011, 34(1):1-3.
- [57] 李季, 王秋润, 郭力鑫, 等. 早花相关基因 HbFT1 和 HbFT2 转化橡胶树的研究[J]. 热带作物学报, 2025, 46(3):515-523.
- [58] 倪燕妹. 橡胶树易碎胚性愈伤组织诱导、长期继代培养及其植株再生研究[D]. 海口:海南大学, 2010.
- [59] 李淑雅. 橡胶树体胚发生体系优化及成熟萌发过程转录组分析[D]. 海口:海南大学, 2022.
- [60] 李淑雅, 陈健妙, 张骐飞, 等. 三种培养方式对橡胶树花药胚性悬浮细胞团再生体系构建的影响[J]. 植物生理学报, 2022, 58(7):1236-1244.
- [61] WANG XY, GU XC, XU ZW, et al. Current achievements and future challenges of genotype-dependent somatic embryogenesis techniques in *Hevea brasiliensis*[J]. Forests, 2023, 14(9):1891-1908.
- [62] 管艳, 李玲, 梁国平, 等. 不同品种橡胶树花药愈伤组织诱导、分化及植株再生的比较[J]. 中国农学通报, 2015, 31(4):40-44.
- [63] 顾晓川, 彭素娜, 戴雪梅, 等. 不同基因型橡胶树花药体胚发生能力的差异分析[J]. 林业科学研究, 2022, 35(4):143-152.
- [64] 李明星, 白雪, 刘青霞, 等. 以花药为外植体探索橡胶树 GT1 的组织培养体系[J/OL]. 分子植物育种, 2024-10-30. <https://link.cnki.net/urlid/46.1068.S.20241029.1749.004>.
- [65] 谭德冠, 郭志凯, 付莉莉, 等. 1株促进橡胶树体细胞胚胎发生的橡胶树内生菌的活性成分研究[Z]. 海口:中国热带农业科学院热带生物技术研究所, 2021-11-15.
- [66] 戴雪梅, 彭素娜, 成镜, 等. 橡胶树热垦 525 胚性悬浮细胞系的建立及其胚性能力的维持[J]. 热带作物学报, 2024, 45(7):1385-1392.
- [67] 黄天带, 戴雪梅, 周权男, 等. 通过继代培养提高橡胶树体胚诱导频率的研究[J]. 热带作物学报, 2012, 33(10):1829-1834.
- [68] 王梦澳, 李娜, 吴日智, 等. 橡胶树不同发育时期花药愈伤生长发育对低温的响应[J]. 热带作物学报, 2024, 45(9):1877-1885.