

DOI:10.12403/j.1001-1498.20230311

日本落叶松胚状体干化处理对萌发的影响

孙海涛^{1,2}, 杨玲¹, 齐力旺², 李万峰^{2*}

(1. 林木遗传育种全国重点实验室 东北林业大学林学院, 黑龙江 哈尔滨 150040; 2. 林木遗传育种全国重点实验室 国家林业和草原局林木培育重点实验室 中国林业科学研究院林业研究所, 北京 100091)

摘要: [目的] 提高日本落叶松胚状体的萌发能力, 优化日本落叶松良种繁育技术。[方法] 本研究根据子叶数量和胚轴形态, 对胚状体进行分类, 并分别统计其萌发率; 利用“滤纸容器法”对类型 I 胚状体进行干化处理, 统计其萌发情况。[结果] 胚状体分为 10 种类型。类型 I 胚状体萌发率为 4.48%, 其余类型胚状体难以萌发。干化处理 14 d 后, 类型 I 胚状体萌发率提高到 69.43%, 且具有干化响应的胚状体更易萌发。[结论] 本研究表明日本落叶松胚状体干化处理后萌发率明显提高, 为该物种良种繁育提供依据。

关键词: 日本落叶松; 胚状体; 萌发; 干化; 体细胞胚胎

中图分类号: S722; S791.223

文献标识码: A

文章编号: 1001-1498(2024)02-0090-06

日本落叶松 (*Larix kaempferi* (Lamb.) Carr.) 为松科 (*Pinaceae*) 落叶松属 (*Larix*) 乔木, 广泛分布于温带和寒温带等地区。它是我国重要的用材树种, 具有早期速生、病虫害少、轮伐期短、成林快、抗逆性强等特点。基于有性繁殖的落叶松传统育种存在优良性状难以保持、生长周期长等问题极大地限制着日本落叶松优异种质资源的大规模利用。和扦插、嫁接相比, 日本落叶松体细胞胚胎发生技术具有遗传稳定性强、繁殖系数高等优点, 已成为当前最有潜力的无性繁殖技术, 受到越来越多的关注^[1-6]。

体细胞胚胎发生 (Somatic embryogenesis) 是指体细胞经历脱分化并在体外形成类似胚胎的胚状体, 这一过程与合子胚的发育过程有许多相似之处^[7-8]。在 1987 年 von Aderkas 以杂种落叶松 (*L. ecidua* × *L. leptolepis*) 雌配子体为外植体诱导出胚性愈伤, 但未获得再生植株^[9]。Klimaszewska 以欧日杂种落叶松 (*Larix* × *eurolepis*) 未成熟种子为外植体, 成功培育出再生植株^[10]。此后体细胞胚胎发生技术在多种杂种落叶松^[11-12]、华北落叶松 (*L. gmelinii* var. *principis-rupprechtii* (Mayr) Pilger),

西伯利亚落叶松 (*L. sibirica* Ledeb.)^[13-14]、长白落叶松 (*L. olgensis* Henry)^[15-16] 和日本落叶松^[17-18] 等落叶松中都得以应用并取得一定的进展, 但依然存在一些问题亟待解决, 比如胚状体萌发率和成苗转化率低等, 这些问题限制了日本落叶松体胚发生技术的发展和應用。

在萌发培养前对胚状体进行干化处理是解决上述问题的一种可行的方法。干化处理可以将“形态成熟”的胚状体转化成“生理成熟”的胚状体, 从而促进萌发^[19-20]。这在云杉属 (*Picea*) 体细胞胚胎发生技术体系中得到很好的应用, 被认为是体细胞胚成功萌发的先决条件^[21-22], 但在日本落叶松体细胞胚胎发生技术体系中尚未见到过相关的研究和应用报道。

本研究以日本落叶松胚状体为材料, 观察并统计不同类别胚状体的萌发情况, 探究干化处理对日本落叶松胚状体萌发的影响, 旨在提高日本落叶松胚状体的萌发率, 促进日本落叶松高效稳定再生体系的建立, 为日本落叶松良种繁育和规模化应用提供技术支撑。

收稿日期: 2023-08-10 修回日期: 2024-01-04

基金项目: 国家自然科学基金面上项目“落叶松 miR171-LaSCL6 调控体胚发生的分子机理”(32271904)

* 通讯作者: 李万峰, 研究员, 主要从事落叶松遗传育种工作, E-mail: liwf@caf.ac.cn

1 材料与方法

1.1 植物材料与培养条件

本实验以日本落叶松 C6 细胞系为材料, 所用到的增殖培养基、成熟培养基和萌发培养基均参考齐力旺的方法^[23]。培养基 pH 为 5.8, 121 °C 高压灭菌后, 在无菌环境下分装备用。增殖培养和成熟培养在暗环境 (温度 22 °C) 下进行, 萌发培养先在暗环境下进行 3 d, 之后在光环境 (温度 24 ± 2 °C, 光照 14 h, 光照强度 1 000 lx) 下进行。

1.2 方法

1.2.1 胚状体形态分类 胚性愈伤组织成熟培养 45 d 后, 随机选取 100 个胚状体, 根据子叶数量和胚轴形态进行形态分类, 显微镜下观察、分类、拍照, 统计不同类别胚状体的发生频率。成熟培养共进行 4 次, 共分析 400 个胚状体。

1.2.2 胚状体萌发 重新选取 300 个胚状体进行分类与萌发培养。2 个月后统计其萌发情况。观察到子叶伸长、胚轴生长和胚根伸长, 分别用“√”标记, 反之, 用“×”标记, 培养条件同上。

1.2.3 干化处理对胚状体萌发和形态的影响 类型 I 胚状体采用“滤纸容器法”进行干化处理^[24]。处理时, 用镊子将胚状体平铺在有 3 层干滤纸 (70 mm) 的塑料培养皿 (90 mm × 20 mm) 中, 随后再将无盖的塑料培养皿放在装有 15 mL 去离子水的玻璃培养皿 (180 mm × 31 mm) 中; 玻璃培养皿用封口膜封口, 随后放置在光环境下 (温度 24 ± 2 °C, 光照 14 h, 光照强度 1 000 lx)。干滤纸、培养皿和去离子水在使用前进行高压灭菌。干化处理分别进行 0、7、14、21 和 28 d。每次处理

后取 180 个胚状体放入萌发培养基中, 每皿 60 个, 重复 3 次, 30 d 后统计其萌发情况。

1.2.4 数据处理 本实验以子叶和胚轴伸长、胚根长出作为胚状体萌发的标准。

$$y=(n/N)\times 100\%$$

式中: y 为胚状体萌发率, n 为萌发的胚状体数量, N 为参与萌发培养的胚状体数量。采用软件 IBM SPSS Statistics 19.0 进行方差分析。

2 结果与分析

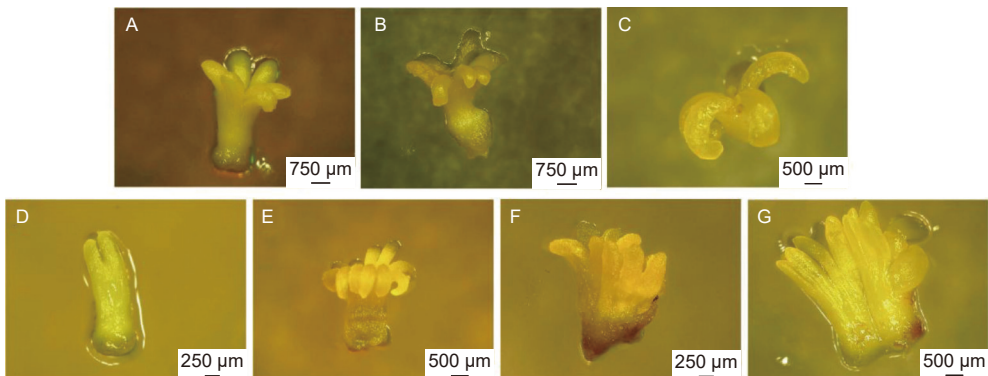
2.1 日本落叶松胚状体的形态和分类

日本落叶松 C6 胚性愈伤组织经过成熟培养后产生形态各异的胚状体。进一步观察和分析后, 胚状体可分为 10 种类型 (图 1、表 1), 其中类型 I 发生频率最高, 达到 56.75%; 类型 III、类型 VI 发生频率分别为 12.75%、13.25%, 仅次于类型 I; 其余类型的发生频率较低, 都不足 5%。

2.2 未干化处理的胚状体萌发情况统计分析

在萌发培养基上, 随机挑选的淡黄色胚状体先在暗环境下培养 3 d, 之后在光环境下培养。7 d 左右观察到胚状体发生膨大, 子叶变绿。12 d 左右子叶变成翠绿色、胚轴伸长。随后, 部分胚状体长出红色根尖 (图 2)。

类型 I 胚状体萌发培养 5 d 后, 子叶由黄变绿, 胚状体开始膨大; 10 d 后子叶变成翠绿色, 子叶和胚轴伸长, 基部产生微小的红色根尖 (图 2A), 萌发率为 4.48%。类型 X 的胚状体在萌发培养过程中会慢慢褐化死亡。其它 8 种类型的胚状体都表现出子叶伸长, 部分胚状体有胚轴生长, 但均未见胚



注: (A) 类型 I; (B) 类型 II; (C) 类型 III; (D) 类型 IV; (E) 类型 VII; (F) 类型 VIII; (G) 类型 X

Notes: (A) Type I; (B) Type II; (C) Type III; (D) Type IV; (E) Type VII; (F) Type VIII; (G) Type X

图 1 日本落叶松胚状体的形态和分类

Fig. 1 Morphology and classification of *Larix kaempferi* embryoids

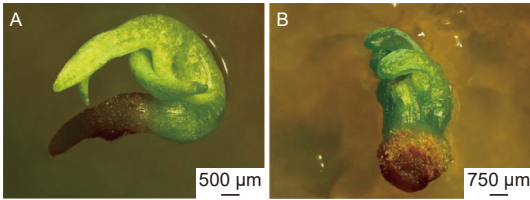
表 1 日本落叶松胚状体的形态和分类

Table 1 Morphology and classification of *Larix kaempferi* embryoids

分类 Classification	子叶数量 Number of cotyledon (NC)	胚轴形态 Hypocotyl shape	发生频率/% Frequency
I	$4 \leq NC \leq 10$	匀称	56.75
II	$4 \leq NC \leq 10$	无	4.75
III	$4 \leq NC \leq 10$	膨大	12.75
IV	$0 \leq NC < 4$	匀称	2.50
V	$0 \leq NC < 4$	无	1.25
VI	$0 \leq NC < 4$	膨大	13.25
VII	$NC > 10$	匀称	1.00
VIII	$NC > 10$	无	1.25
IX	$NC > 10$	膨大	2.75
X	—	—	3.75

注：“—”表示不能分析

Note: “—” indicates no analysis



注：(A) 类型 I 胚状体萌发；(B) 类型 III 胚状体萌发

Notes: (A) The germination of Type I embryoids; (B) The germination of Type III embryoids

图 2 不同类型日本落叶松胚状体的萌发情况

Fig. 2 Germination of different types of *Larix kaempferi* embryoids

根生长 (表 2, 图 2B)。

2.3 干化处理对胚状体萌发的影响

在萌发培养过程中, 仅类型 I 胚状体表现出完整的萌发性状, 因此用类型 I 胚状体进行干化处理。与未干化处理的胚状体相比, 干化处理 7、14、21 和 28 d 的胚状体萌发率均有增加, 其中干化处理 14 d 的胚状体萌发率最高, 达到 69.43% (表 3, 图 3), 说明干化处理可以显著促进胚状体萌发。

2.4 胚状体对干化处理的响应

在干化处理过程中, 胚状体的颜色有两种变化, 一种是子叶、胚轴变绿, 胚根变红 (图 4A), 另一种是子叶、胚轴颜色无明显变化, 胚根微微变红 (图 4B、C)。参考粗枝云杉胚状体干化处理

表 2 日本落叶松胚状体的萌发情况

Table 2 Germination of *Larix kaempferi* embryoids

分类 Classification	子叶伸长 Cotyledon elongation	胚轴生长 Hypocotyl growth	胚根生长 Radicle growth
I	√	√	√
II	√	×	×
III	√	×	×
IV	√	√	×
V	√	×	×
VI	√	×	×
VII	√	√	×
VIII	√	×	×
IX	√	×	×
X	×	×	×

表 3 干化对日本落叶松胚状体萌发的影响

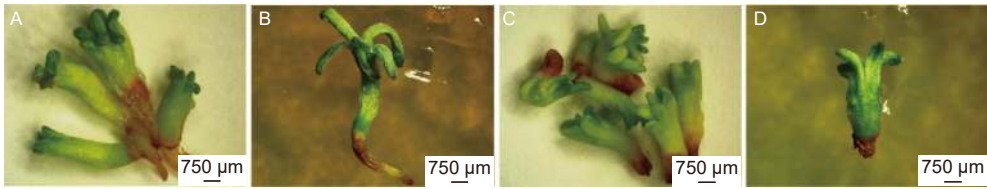
Table 3 Effect of desiccation on the germination of *Larix kaempferi* embryoids

干化天数 Desiccation time/d	萌发率 Germination rate/%
0	5.57 ± 0.98 d
7	25.00 ± 6.03 c
14	69.43 ± 12.61 a
21	38.90 ± 6.97 bc
28	48.87 ± 10.86 b

注: 不同字母表示 $P < 0.05$ 水平差异显著Note: Different letters indicate a significant difference at $P < 0.05$ level (LSD)

后的分类标准^[24], 将子叶和胚轴变绿、胚根变红的日本落叶松胚状体称为有干化响应的胚状体, 将另外一种胚状体称为无干化响应的胚状体。

进一步分析发现, 有干化响应的胚状体更易萌发。所有经过干化处理的 720 个胚状体中, 有干化响应的胚状体共有 649 个 (90.1%), 其中有 317 个 (48.8%) 萌发; 无干化响应的胚状体共有 71 个, 但仅有 11 个 (15.5%) 萌发。干化处理 14 d, 有干化响应的胚状体 162 个 (90%), 其中 122 个 (75.3%) 萌发, 而无干化响应的胚状体 18 个 (10%), 只有 3 个 (16.7%) 萌发 (表 4)。因此, 可以将干化响应作为挑选胚状体进行萌发培养的依据。

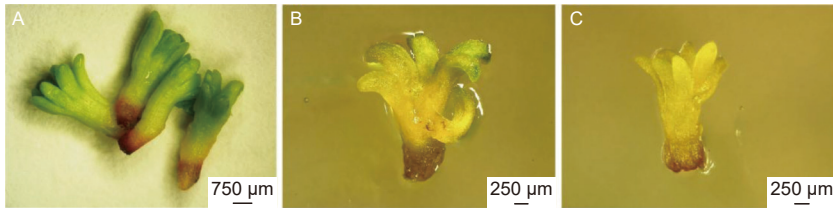


注: (A, B) 干化后萌发的胚状体; (C, D) 干化后未萌发的胚状体

Notes: (A, B) Germinated embryos after desiccation; (C, D) Embryoids that did not germinated after desiccation

图 3 干化对日本落叶松胚状体形态和萌发的影响

Fig. 3 Effects of desiccation on morphology and germination of *Larix kaempferi* embryos



注: (A) 有干化响应的胚状体; (B, C) 无干化响应的胚状体

Notes: (A) Embryoids with desiccation response; (B) Embryoids without desiccation response

图 4 日本落叶松胚状体的干化响应

Fig. 4 Desiccation response of *Larix kaempferi* embryos

表 4 干化响应与胚状体萌发

Table 4 Desiccation response and germination of somatic embryos

干化天数 Desiccation time/d	有干化响应的胚状体 Embryoids with desiccation response		无干化响应的胚状体 Embryoids without desiccation response	
	数量 Number	萌发数量 Germination number	数量 Number	萌发数量 Germination number
7	165	43	15	2
14	162	122	18	3
21	157	66	23	4
28	165	86	15	2

3 讨论

在日本落叶松体细胞胚胎发生过程中, 胚性愈伤组织经历增殖培养和成熟培养后会产生形态各异的胚状体, 这些胚状体的萌发能力存在差异。齐力旺^[23]在研究华北落叶松过程中发现, 子叶数量少、胚轴短的胚状体都难以萌发。李哲馨等对日本落叶松胚状体按照子叶数量进行了分类, 发现子叶数量多于或等于 4 个的胚状体的萌发率高于其它类别的胚状体^[25]。上述工作表明, 先对胚状体进行分类而后进行萌发培养有助于提高萌发率和工作效率。本研究首先按照子叶数量和胚轴形态对日本落叶松胚状体进行了更为细致的分类, 发现它们可以

分为 10 种类型; 随后进行了萌发培养, 发现仅有类型 I 胚状体可以萌发, 萌发率为 4.48%, 其余类型胚状体都难以萌发。以往对胚状体进行分类多以子叶数量为依据^[25-27], 本研究以子叶数量和胚轴形态作为分类的依据, 使分类标准更加细化与完善。

在萌发培养过程中, 仅部分类型 I 胚状体表现出完整的萌发性状, 子叶伸长、变绿, 胚轴伸长, 胚状体下端长出胚根, 而其余类型胚状体未长出胚根。推测部分类型 I 胚状体的根端发育相对完善, 而其它类型胚状体的根端发育异常。这些结果表明, 胚状体形态结构的完整性决定着它们是否可以萌发。研究结果也进一步说明在萌发培养前对胚状体进行形态分类, 有助于挑选出适宜进行萌发培养的胚状体。

胚状体“生理成熟”是萌发的关键前提, 而干化处理可以使胚状体达到生理成熟、促进其萌发^[19-20]。Jing 等在云杉研究中发现, 萌发率随着干化时间呈现上升趋势, 干化处理 14 d 萌发率最高^[28]。Maruyama 等在日本黑松 (*Pinus thunbergii* Parl.) 和日本赤松 (*P. densiflora* Siebold & Zucc.) 研究中同样发现, 干化处理可以显著提高萌发率^[29]。本研究发现, 未经干化处理的类型 I 胚状体萌发率为 5.57%, 而干化处理 14 d 后萌发率提高了 63.86%, 说明干化处理可以显著提高日本落叶松类型 I 胚状体的萌发率。由于未经干化处理的其余类型胚状体萌发培

养后未表现出完整的萌发性状, 本研究未对其进行干化处理。因此, 干化处理是否可以使这些胚状体达到生理成熟, 进而促进其萌发, 还需进一步确定。

即使是类型 I 胚状体, 在干化处理后也表现出不同的性状。其中子叶、胚轴变绿, 胚根变红的胚状体, 被称为有干化响应的胚状体; 子叶、胚轴颜色无明显变化, 胚根微微变红的胚状体, 被称为未有干化响应的胚状体。进一步研究发现, 具有干化响应的类型 I 胚状体比无干化响应的类型 I 胚状体更易萌发, 这与粗枝云杉胚状体 (*Picea asperata* Mast) 干化处理的研究结果一致^[24]。据此, 推测无干化响应的类型 I 胚状体根端发育不完善, 而具有干化响应的类型 I 胚状体根端发育相对完善。由此可知, 类型 I 胚状体内部结构也存在差异, 且这些差异可以通过干化响应表现出来。因此对类型 I 胚状体进行干化处理, 有助于进一步挑选更适宜进行萌发培养的胚状体。

4 结 论

基于上述研究结果, 建议挑选子叶数量多于 4、胚轴匀称的日本落叶松胚状体进行干化处理。干化处理 14 d 的胚状体萌发率提高了 63.86%, 且具有干化响应的胚状体更易萌发。研究结果有助于促进体细胞胚胎发生技术在日本落叶松遗传育种中的应用, 也为其它针叶树繁育技术的研发和完善提供参考。

参 考 文 献:

- [1] 赵 健, 李 旦, 张金凤. 华北落叶松成熟合子胚不定芽诱导及伸长研究[J]. 中国农学通报, 2014, 30 (16): 12-17.
- [2] 宋 跃, 甄 成, 张含国, 等. 长白落叶松胚性愈伤组织诱导及体细胞胚胎发生[J]. 林业科学, 2016, 52 (10): 45-54.
- [3] 高 芳, 陈士刚, 秦彩云, 等. 红皮云杉体胚发生体系优化和超低温保存技术研究[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2021, 45 (3): 100-108.
- [4] PULLMAN G S, NAMJOSHI K, ZHANG Y. Somatic embryogenesis in loblolly pine (*Pinus taeda* L.): improving culture initiation with abscisic acid and silver nitrate[J]. Plant Cell Reports, 2003, 22(2): 85-95.
- [5] GARCÍA-MENDIGUREN O, MONTALBÁN I A, GOICOA T, et al. Environmental conditions at the initial stages of *Pinus radiata* somatic embryogenesis affect the production of somatic embryos[J]. Trees, 2015, 30(3): 949-958.
- [6] PARK S Y, KLIMASZEWSKA K, PARK J Y, et al. Lodgepole pine: the first evidence of seed-based somatic embryogenesis and the expression of embryogenesis marker genes in shoot bud cultures of adult trees[J]. Tree Physiology, 2010, 30(11): 1469-1478.
- [7] 许智宏, 张宪省, 苏英华, 等. 植物细胞全能性和再生[J]. 中国科学: 生命科学, 2019, 49 (10): 1282-1300.
- [8] DODEMAN V L, DUCREUX G, KREIS M. Review Article: Zygotic embryogenesis versus somatic embryogenesis[J]. Journal of Experimental Botany, 1997, 48(313): 1493-1509.
- [9] ADERKAS P V, KLIMASZEWSKA K, BONGA J M. Diploid and haploid embryogenesis in *Larix leptolepis*, *L. decidua*, and their reciprocal hybrids[J]. Canadian Journal of Forest Research, 1990, 20(1): 9-14.
- [10] KLIMASZEWSKA K. Plantlet development from immature zygotic embryos of hybrid larch through somatic embryogenesis[J]. Plant Science, 1989, 63(1): 95-103.
- [11] LELU M A, BASTIEN C, KLIMASZEWSKA K, et al. An improved method for somatic plantlet production in hybrid larch (*Larix × leptoeuropaea*): Part 1. Somatic embryo maturation[J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 1994, 36(1): 107-115.
- [12] 王伟达, 李成浩, 杨静莉, 等. 杂种落叶松未成熟胚的体细胞胚发生和植株再生[J]. 林业科学, 2009, 45 (8): 34-38 + 183.
- [13] ZHAO J, WANG B B, WANG X Q, et al. iTRAQ-based comparative proteomic analysis of embryogenic and non-embryogenic tissues of Prince Rupprecht's larch (*Larix principis-rupprechtii* Mayr)[J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC), 2014, 120(2): 655-669.
- [14] TRETYAKOVA I N, ROGOZHIN E A, PAK M E, et al. Use of plant antimicrobial peptides in in vitro embryogenic cultures of *Larix sibirica*[J]. Biology Bulletin, 2020, 47(3): 225-236.
- [15] 刘建飞, 刘 炎, 刘克俭, 等. 长白落叶松体胚发生再生体系优化[J]. 植物学报, 2020, 55 (5): 605-612.
- [16] 刘威锋, 侯佳音, 蒋湘宁. 通过多种培养基优化长白落叶松体细胞胚再生[J]. 分子植物育种, 2021, 19 (15): 5083-5091.
- [17] Zhang L F, Fan Y R, Lan Q, et al. Expression of the *SPL*-like gene *LaSPL9* in Japanese larch (*Larix leptolepis*) is regulated by miR156 during somatic embryogenesis[J]. Trees, 2021, 35(5): 1727-1737.
- [18] 吴晓雪, 张艾婧, 盖 颖, 等. 外源激素对日本落叶松体细胞胚发生不同阶段的影响[J]. 林业科学, 2021, 57 (1): 30-39.
- [19] HOSOI Y, MARUYAMA T E. Plant regeneration from embryogenic tissue of *Pinus luchuensis* Mayr, an endemic species in Ryukyu Island, Japan[J]. Plant Biotechnology, 2012, 29(4): 401-406.
- [20] OLIVIER L, ANTHONI P, SOUHA B, et al. Late seed maturation: drying without dying[J]. Journal of experimental botany, 2017, 68(4): 827-841.
- [21] POND S E, ADERKAS P, BONGA J M. Improving tolerance of somatic embryos of *Picea glauca* to flash desiccation with a

- cold treatment (desiccation after cold acclimation)[J]. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant*, 2002, 38(4): 334-341.
- [22] HÖGBERG K A, EKBERG I, NORELL L, *et al.* Integration of somatic embryogenesis in a tree breeding programme: A case study with *Picea abies*[J]. *Revue Canadienne De Recherche Forestière*, 1998, 28(10): 1536-1545.
- [23] 齐力旺. 华北落叶松体细胞胚胎发生与遗传转化系统建立的研究[D]. 北京: 中国林业科学研究院, 2000.
- [24] 张建伟. 粗枝云杉体胚发生和萌发前的干化调控机制[D]. 北京: 中国林业科学研究院, 2014.
- [25] 李哲馨, 李万峰, 韩素英, 等. 落叶松体细胞胚萌发能力研究[J]. *林业科学研究*, 2017, 30(6): 999-1003.
- [26] 孔冬梅, 沈海龙. 植物组织培养中畸形胚的发生和控制[J]. *植物生理学通讯*, 2008, 44(5): 1018-1024.
- [27] 邝哲师, 周丽依, 马雪筠, 等. 荔枝组织培养中胚状体产生的类型及分析[J]. *果树科学*, 1996, 13(S1): 25-28.
- [28] Jing D L, Zhang J W, Xia Y, *et al.* Proteomic analysis of stress-related proteins and metabolic pathways in *Picea asperata* somatic embryos during partial desiccation[J]. *Plant Biotechnol J*, 2017, 15(1): 27-38.
- [29] MARUYAMA T E, HOSOI Y. Post-maturation treatment improves and synchronizes somatic embryo germination of three species of Japanese pines[J]. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 2012, 110(1): 45-52.

Effect of Desiccation on Germination of *Larix kaempferi* Embryoids

SUN Hai-tao^{1,2}, YANG Ling¹, QI Li-wang², LI Wan-feng²

(1. State Key Laboratory of Tree Genetics and Breeding, School of Forestry, Northeast Forestry University, Harbin 150040, Heilongjiang, China; 2. State Key Laboratory of Tree Genetics and Breeding, Key Laboratory of Tree Breeding and Cultivation of the National Forestry and Grassland Administration, Research Institute of Forestry, Chinese Academy of Forestry, Beijing 100091, China)

Abstract: [Objective] To improve the germination ability of *Larix kaempferi* embryoids and optimize the breeding technology of *Larix kaempferi*. [Method] In this study, we conducted classification on embryoids based on the number of cotyledon and the hypocotyl shape. Subsequently, their germination rates were recorded respectively. The germination rate of type I embryoids was evaluated after desiccation using “paper vessel method”. [Result] Type I embryoids exhibited an initial germination rate of 5%, while the remaining types did not show any germination. However, after drying for two weeks, the germination rate of type I embryoids significantly increased to 69.43%, and embryoids with desiccation response were more likely to germinate. [Conclusion] These results show that the germination rate of *Larix kaempferi* embryoids is significantly improved after desiccation, which provides insights into new strategies for improving seedling production for this species.

Keywords: *Larix kaempferi*; Embryoid; Germination; Desiccation; Somatic embryo

(责任编辑: 张 研)