

· 技术方法 ·

红宝石球花报春腋芽再生体系的建立

郑云凤, 张晓曼*, 刘晓

河北农业大学园林与旅游学院, 保定 071000

摘要 以红宝石球花报春(*Primula denticulata*)无菌苗腋芽为外植体, 通过对丛生芽诱导、增殖、生根、炼苗和移栽等技术进行研究, 筛选出各阶段的最佳培养基配方, 建立了红宝石球花报春的再生体系。结果表明, 适宜红宝石球花报春腋芽诱导不定芽的培养基为MS+1 mg·L⁻¹ NAA+0.1 mg·L⁻¹ 6-BA, 诱导率达73.33%; 适宜丛生芽增殖的培养基为MS+1 mg·L⁻¹ NAA+0.5 mg·L⁻¹ 6-BA, 增殖率达85.19%; 最佳生根培养基为1/2MS+0.2 mg·L⁻¹ NAA, 生根率达95.59%; 最佳移栽基质为草炭:珍珠岩=3:1 (v/v)的混合基质, 移栽成活率可达96.67%。

关键词 红宝石球花报春, 无菌苗腋芽, 丛生芽, 植株再生

郑云凤, 张晓曼, 刘晓 (2018). 红宝石球花报春腋芽再生体系的建立. 植物学报 53, 686–692.

红宝石球花报春(*Primula denticulata*)属报春花科(Primulaceae)报春花属球花报春组植物, 其为多年生草本, 花序伞形近头状, 粉红色花冠, 观赏性极强, 成片种植景观效果较好, 是一种极具园林开发价值的花卉, 在欧洲已广泛种植。但在自然生长条件下, 红宝石球花报春以种子繁殖为主, 种子寿命短, 隔年播种陈种, 多不发芽或发芽率低, 幼苗增殖速度慢且增值率和生长率低。

组织培养技术为观赏植物的品种改良和新品种繁育提供了新途径。目前, 21种报春花属植物组织培养研究已有报道。其中, 报道较多的有翠南报春(*P. sieboldii*) (李春玲等, 1992; Yamamoto et al., 1999; Furuya and Hosoki, 2005)、报春花(*P. malacoides*) (李彦舫等, 1992; 侯云屏和古志渊, 2001)、小报春(*P. forbesii*) (金晓霞等, 2005; 贾茵, 2010)、四季报春(*P. obconica*) (娄和林等, 1996; 张淑娟等, 2002; 宋建英等, 2007; 王莲辉等, 2010)、紫花雪山报春(*P. sinopurpurea*) (邓平平, 2008)、安徽羽叶报春(*P. merrilliana*) (查帅兵, 2006)和滇北球花报春(*P. denticulata* ssp. *sinodenticulata*) (解玮佳等, 2010)。然而, 关于利用红宝石球花报春外植体进行组织培养的研究尚未见报道。

对于一些比较珍贵且种子扩繁困难的材料, 以其腋芽为外植体, 通过腋芽的离体培养能在短时间内获得大量再生植株。报春花属植物中, 橘红灯台报春(*P. bulleyana*)、海仙花报春(*P. poissonii*)和霞红灯台报春(*P. beesiana*)均是利用腋芽进行组织培养且获得了再生植株(李翠娟, 2007)。此外, 另有专家以黄花九轮草(*P. veris*) (Morozowska and Wesołowska, 2004)和岩生报春(*P. saxatilis*) (赵妍等, 2010)的腋芽为外植体, 诱导出丛生芽, 之后进行生根培养, 从而诱导出再生植株。

本研究以红宝石球花报春的腋芽为外植体开展组织培养研究, 旨在建立适合红宝石球花报春腋芽不定芽诱导、不定芽增殖和生根培养的激素配方, 以获得稳定高效的组织培养快繁体系, 为红宝石球花报春的育苗和育种工作提供科学依据, 并为其进一步的遗传改良奠定基础。

1 植物材料

红宝石球花报春(*Primula denticulata* Cashmeriana Ruby)种子购自美国花卉公司, 于4℃冰箱保存。实验所用外植体为红宝石球花报春种子萌发获得的无菌

收稿日期: 2017-06-28; 接受日期: 2017-10-07

基金项目: 河北省教育厅重点项目(No.ZD2016132)和河北省林业厅科学技术研究项目(No.1402450)

* 通讯作者。E-mail: 173610925@qq.com

苗腋芽。

2 培养基成分与培养条件

2.1 不定芽的诱导

将红宝石球花报春种子用75%乙醇消毒15秒, 6% NaClO消毒6分钟后无菌播种, 待无菌苗长至株高6–8 cm, 浓绿叶片数达3–6枚时, 在超净工作台上用解剖刀切下无菌苗的腋芽, 接种于添加不同浓度的NAA (0.1、0.5和1 mg·L⁻¹)和6-BA (0.1、0.5、1和2 mg·L⁻¹)的MS和1/2MS培养基(各培养基中均含有30 g·L⁻¹蔗糖和6 g·L⁻¹琼脂, pH值为5.8, 经121°C高压灭菌20分钟)中, 每瓶接种3块腋芽, 5瓶为1个重复, 共重复3次。采用日光灯做培养光源, 接种前20天不给予日光灯光照(全天24小时黑暗)。之后每天12小时光照/12小时黑暗, 光照度为2 200 lx, 培养温度为22–25°C。观察愈伤组织的诱导分化并统计不定芽的诱导率(不定芽诱导率=(诱导出不定芽的外植体数/接种的外植体数)×100%)。

2.2 不定芽的增殖诱导

将分化出的不定芽接入添加不同浓度NAA (0.2、0.6和1.0 mg·L⁻¹)和6-BA (0.2、0.5、1和2 mg·L⁻¹)的MS继代增殖培养基(各培养基中均含有30 g·L⁻¹蔗糖和6 g·L⁻¹琼脂, pH值为5.8, 经121°C高压灭菌20分钟)。培养条件同2.1节。每瓶接种3个不定芽, 3瓶为1个处理, 重复3次。30天后统计不定芽的增殖率(不定芽增殖率=(增殖的不定芽数/接种的不定芽数)×100%), 并观察小苗的生长情况。

2.3 生根培养

将继代分化出的芽丛切成单芽后接入添加不同浓度NAA (0.1和0.2 mg·L⁻¹)和IBA (0.1、0.3和1 mg·L⁻¹)的MS和1/2MS培养基中(各培养基中均含有30 g·L⁻¹蔗糖和6 g·L⁻¹琼脂, pH值为5.8, 经121°C高压灭菌20分钟), 每瓶接种3个单芽, 3瓶为1个处理, 重复3次, 培养条件同2.1节。30天后观察根系及植株的生长情况并统计生根率:

$$\text{生根率} = (\text{生根的苗数} / \text{接种的苗数}) \times 100\%$$

2.4 炼苗及管理

待植株长至3–4 cm高, 根长2–3 cm时出瓶移栽。移栽前, 先打开封口膜, 置于组织培养室炼苗3天, 再移至外界环境下炼苗2天。将炼苗后的健壮苗从瓶内夹出, 洗净根部培养基后放在0.1%的多菌灵溶液中浸泡1–2小时。然后栽植到草炭、珍珠岩和蛭石不同配比(1:1:0、2:1:0、3:1:0和1:1:1)的基质中, 置于温度22–25°C, 光周期为12小时光照/12小时黑暗的温室中, 统计移栽成活率(移栽成活率=(成活数/移栽数)×100%)并进行后期管理。

2.5 统计分析

实验数据使用Excel软件进行统计处理, 采用SPSS 20.0软件进行显著性分析。

3 结果与讨论

3.1 不定芽的诱导

由表1可知, 不同培养基对红宝石球花报春腋芽诱导不定芽的影响差异显著。不添加任何激素的MS和1/2MS培养基均不能诱导出不定芽。当在MS培养基中添加6-BA到一定浓度时(0.1 mg·L⁻¹), 随着NAA浓度的增加, 诱导率呈逐渐升高趋势; 当添加NAA的浓度达到1 mg·L⁻¹时, 随着6-BA浓度的升高, 诱导率呈先降低后升高趋势。添加NAA的浓度为0.5–1 mg·L⁻¹和6-BA的浓度为0.1 mg·L⁻¹时, 不定芽的诱导率高并且长势较好。其中NAA的浓度为1 mg·L⁻¹, 6-BA的浓度为0.1 mg·L⁻¹时, 不定芽的诱导率最高(73.33%)且长势最好(图1A)。

另外, 从表1中还可看出, 在1/2MS培养基中, 当添加6-BA的浓度一定时(2 mg·L⁻¹), 随着NAA浓度的增加, 诱导率呈逐渐升高趋势; 当添加NAA的浓度一定时(1 mg·L⁻¹), 随着6-BA浓度的增加, 诱导率呈先降低后升高趋势。添加NAA的浓度为0.5–1 mg·L⁻¹和6-BA的浓度为2 mg·L⁻¹时, 不定芽的诱导率高且长势较好。其中NAA浓度为1 mg·L⁻¹, 6-BA浓度为2 mg·L⁻¹时不定芽的诱导率(95.56%)最高且长势最好。

红宝石球花报春腋芽在添加不同激素的MS和1/2MS培养基中均能诱导出不定芽。虽然在NAA浓度为1 mg·L⁻¹和6-BA浓度为2 mg·L⁻¹的1/2MS培养基

表1 MS和1/2MS培养基中不同激素对比对红宝石球花报春腋芽诱导不定芽的影响(平均值±标准误)
Table 1 Effects of different plant growth regulator proportions on adventitious buds induction from the axillary bud of *Primula denticulata* in MS and 1/2MS medium (means±SE)

Culture medium	Vaccination number	Adventitious buds number	Rate of adventitious bud induction (%)	Growth condition
MS	45	0	0	—
MS+0.1 mg·L ⁻¹ NAA+0.1 mg·L ⁻¹ 6-BA	45	13	28.89±4.44 a	++
MS+0.5 mg·L ⁻¹ NAA+0.1 mg·L ⁻¹ 6-BA	45	32	71.11±4.44 b	+++
MS+1 mg·L ⁻¹ NAA+0.1 mg·L ⁻¹ 6-BA	45	33	73.33±3.85 b	++++
MS+0.1 mg·L ⁻¹ NAA+0.5 mg·L ⁻¹ 6-BA	45	4	8.89±2.22 a	+
MS+0.5 mg·L ⁻¹ NAA+0.5 mg·L ⁻¹ 6-BA	45	7	15.56±2.22 a	++
MS+1 mg·L ⁻¹ NAA+0.5 mg·L ⁻¹ 6-BA	45	9	20.00±7.70 a	++
MS+0.1 mg·L ⁻¹ NAA+1 mg·L ⁻¹ 6-BA	45	4	8.89±2.22 a	+
MS+0.5 mg·L ⁻¹ NAA+1 mg·L ⁻¹ 6-BA	45	7	15.56±2.22 a	+
MS+1 mg·L ⁻¹ NAA+1 mg·L ⁻¹ 6-BA	45	10	22.22±5.88 a	++
MS+0.1 mg·L ⁻¹ NAA+2 mg·L ⁻¹ 6-BA	45	3	6.67±3.85 a	+
MS+0.5 mg·L ⁻¹ NAA+2 mg·L ⁻¹ 6-BA	45	14	31.11±5.88 a	+
MS+1 mg·L ⁻¹ NAA+2 mg·L ⁻¹ 6-BA	45	16	35.56±2.22 a	++
1/2MS	45	0	0	—
1/2MS+0.1 mg·L ⁻¹ NAA+0.1 mg·L ⁻¹ 6-BA	45	1	2.22±2.22 b	+
1/2MS+0.5 mg·L ⁻¹ NAA+0.1 mg·L ⁻¹ 6-BA	45	13	28.89±2.22 b	+
1/2MS+1 mg·L ⁻¹ NAA+0.1 mg·L ⁻¹ 6-BA	45	33	73.33±3.85 c	++
1/2MS+0.1 mg·L ⁻¹ NAA+0.5 mg·L ⁻¹ 6-BA	45	3	6.67±3.85 a	+
1/2MS+0.5 mg·L ⁻¹ NAA+0.5 mg·L ⁻¹ 6-BA	45	3	6.67±3.85 a	+
1/2MS+1 mg·L ⁻¹ NAA+0.5 mg·L ⁻¹ 6-BA	45	31	68.89±2.22 c	++
1/2MS+0.1 mg·L ⁻¹ NAA+1 mg·L ⁻¹ 6-BA	45	1	2.22±2.22 b	+
1/2MS+0.5 mg·L ⁻¹ NAA+1 mg·L ⁻¹ 6-BA	45	13	28.89±2.22 b	+
1/2MS+1 mg·L ⁻¹ NAA+1 mg·L ⁻¹ 6-BA	45	14	31.11±2.22 b	+
1/2MS+0.1 mg·L ⁻¹ NAA+2 mg·L ⁻¹ 6-BA	45	14	31.11±2.22 b	+
1/2MS+0.5 mg·L ⁻¹ NAA+2 mg·L ⁻¹ 6-BA	45	31	68.89±2.22 c	++
1/2MS+1 mg·L ⁻¹ NAA+2 mg·L ⁻¹ 6-BA	45	43	95.56±2.22 d	+++

+: 叶色黄且长势弱; ++: 叶色绿且长势一般; +++: 叶色绿且长势较好; ++++: 叶色绿且苗健壮; —: 全部死亡。同列不同小写字母表示在0.05水平差异显著。
+: The leaves are yellow and the seedlings are weak; ++: The leaves are green and the seedlings are growing normally; +++: The leaves are green and the seedlings are growing well; ++++: The leaves are green and the seedlings are strong; —: All died. The different lowercase letters in the same column indicate significant differences at *P*<0.05.

中不定芽的诱导率高,但是在MS培养基中诱导出的不定芽比1/2MS培养基的长势更好,不定芽更浓绿且后期死亡率低,最终存活数量比1/2MS培养基多近1倍;在MS培养基中不定芽的诱导速度快,平均1周就会出现不定芽,而1/2MS培养基需要2周才会出现不定芽。因此,综合诱导率及不定芽长势,适宜红宝石球花报春不定芽诱导的培养基为MS+1 mg·L⁻¹ NAA+0.1 mg·L⁻¹ 6-BA。

3.2 不定芽增殖

由表2可知,不同培养基对红宝石球花报春不定芽的增

殖影响差异显著。当NAA浓度一定时(1 mg·L⁻¹),随着6-BA浓度的增加,不定芽增殖率先升高后降低趋势;当6-BA浓度一定时(0.5 mg·L⁻¹),随着NAA浓度的增加,不定芽增殖率呈逐渐上升趋势。其中,当NAA浓度为1 mg·L⁻¹,6-BA浓度为0.5 mg·L⁻¹时增殖率最高(85.19%)。1个芽最多增殖出13个芽,且长出的丛生芽颜色较绿,生长健壮紧密(图1B)。因此,适宜红宝石球花报春丛生芽增殖的培养基为MS+1 mg·L⁻¹ NAA+0.5 mg·L⁻¹ 6-BA。

3.3 生根培养

从表3可以看出,11组处理均能诱导生根,但不同培

表2 不同激素配比对红宝石球花报春不定芽增殖的影响(平均值±标准误)

Table 2 Effects of different plant growth regulator proportions on adventitious buds multiplication of *Primula denticulata* (means±SE)

Culture medium	Vaccination number	The number of adventitious buds in proliferation	Shoot multiplication rate (%)	Growth condition
MS	27	1	3.70±3.70 a	+
MS+0.2 mg·L ⁻¹ NAA+0.2 mg·L ⁻¹ 6-BA	27	2	7.40±7.40 a	+
MS+0.2 mg·L ⁻¹ NAA+0.5 mg·L ⁻¹ 6-BA	27	2	7.40±0.00 a	+
MS+0.2 mg·L ⁻¹ NAA+1 mg·L ⁻¹ 6-BA	27	2	7.40±3.70 a	+
MS+0.2 mg·L ⁻¹ NAA+2 mg·L ⁻¹ 6-BA	27	3	11.11±0.00 ab	+
MS+0.6 mg·L ⁻¹ NAA+0.2 mg·L ⁻¹ 6-BA	27	7	25.93±3.70 abc	++
MS+0.6 mg·L ⁻¹ NAA+0.5 mg·L ⁻¹ 6-BA	27	20	74.07±13.35 d	+++
MS+0.6 mg·L ⁻¹ NAA+1 mg·L ⁻¹ 6-BA	27	13	48.15±3.70 bcd	+++
MS+0.6 mg·L ⁻¹ NAA+2 mg·L ⁻¹ 6-BA	27	9	33.33±0.00 abc	++
MS+1 mg·L ⁻¹ NAA+0.2 mg·L ⁻¹ 6-BA	27	17	62.96±3.70 cd	++
MS+1 mg·L ⁻¹ NAA+0.5 mg·L ⁻¹ 6-BA	27	23	85.19±3.70 d	++++
MS+1 mg·L ⁻¹ NAA+1 mg·L ⁻¹ 6-BA	27	21	77.78±6.42 d	+++
MS+1 mg·L ⁻¹ NAA+2 mg·L ⁻¹ 6-BA	27	21	77.78±0.00 d	+++

+, ++, +++和++++同表1。同列不同小写字母表示在0.05水平差异显著。

+, ++, +++ and ++++ see Table 1. The different lowercase letters in the same column indicate significant differences at *P*<0.05.

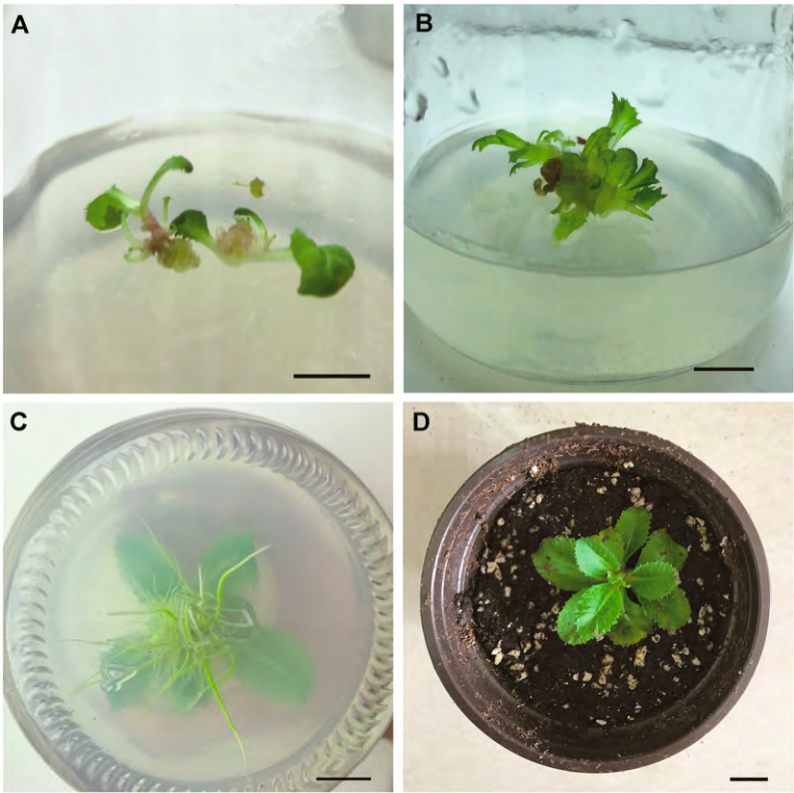


图1 红宝石球花报春的不定芽诱导、增殖、生根及移栽

(A) 腋芽诱导出的不定芽; (B) 不定芽的增殖; (C) 生根培养; (D) 以草炭土:珍珠岩=3:1 (v/v)为基质移栽形成的小苗。Bars=2 cm

Figure 1 Adventitious bud induction, proliferation, rooting and transplanting of *Primula denticulata*

(A) Adventitious buds induced from axillary buds; (B) Adventitious buds multiplication; (C) Rooting; (D) Transplanting the re-generation of *Primula denticulata* in peat:perlite=3:1 (v/v). Bars=2 cm

表3 不同激素对比对红宝石球花报春生根的影响(平均值±标准误)

Table 3 Effects of different plant growth regulator proportions on rooting of *Primula denticulata* adventitious buds (means±SE)

Culture medium	Vaccination number	Rooting number	Rooting rate (%)	Average rooting number	Growth condition
MS	27	23	85.19±3.70 bc	5	+++
1/2MS	27	24	88.89±0.00 c	3	+++
MS+0.1 mg·L ⁻¹ NAA	27	3	11.11±6.42 a	2	+
MS+0.2 mg·L ⁻¹ NAA	27	19	70.37±9.80 abc	3	++
MS+0.2 mg·L ⁻¹ NAA+0.3 mg·L ⁻¹ IBA	27	24	88.89±6.42 c	5	+++
MS+0.3 mg·L ⁻¹ IBA	27	11	40.74±13.35 abc	2	+
1/2MS+0.1 mg·L ⁻¹ IBA	27	18	66.67±11.11 abc	3	+
1/2MS+0.3 mg·L ⁻¹ IBA	27	17	62.96±13.35 abc	3	+
1/2MS+1 mg·L ⁻¹ IBA	27	7	25.93±9.80 ab	2	+
1/2MS+0.2 mg·L ⁻¹ NAA	27	25	95.59±3.70 c	6	++++
1/2MS+0.2 mg·L ⁻¹ NAA+0.3 mg·L ⁻¹ IBA	27	5	18.52±9.78 a	2	+

+, ++, +++和++++同表1。同列不同小写字母表示在0.05水平差异显著。

+, ++, +++ and ++++ see Table 1. The different lowercase letters in the same column indicate significant differences at *P*<0.05.

表4 不同基质组合对红宝石球花报春组培苗移栽的影响(平均值±标准误)

Table 4 Effects of different substrate combinations on tissue culture seedling transplanting of *Primula denticulata* (means±SE)

Treatment	Transplanting number	Transplanting survival number	Transplanting survival rate (%)	Growth condition
Peat:perlite=1:1	30	23	76.67±3.33 a	++
Peat:perlite=2:1	30	26	86.67±3.33 a	+++
Peat:perlite=3:1	30	29	96.67±3.33 b	++++
Peat:perlite:vermiculite=1:1:1	30	28	93.33±3.33 b	+++

+, ++, +++和++++同表1。同列不同小写字母表示在0.05水平差异显著。

+, ++, +++ and ++++ see Table 1. The different lowercase letters in the same column indicate significant differences at *P*<0.05.

培养基对红宝石球花报春不定芽生根的影响差异显著。在MS培养基中,随着NAA浓度的增加,生根率和平均生根条数增加;随着IBA浓度的增加,二者也增加。在1/2MS培养基中,随着NAA浓度的增加,生根率和平均生根条数降低;随着IBA浓度的增加,生根率逐渐降低,而平均生根条数变化不大。不添加任何激素的MS和1/2MS培养基虽然生根多,但根系比较细。综合分析,得出最适合红宝石球花报春不定芽生根的培养基为1/2MS+0.2 mg·L⁻¹ NAA,生根率最高达95.59%,平均生根6条,根系粗壮,组培苗长势好(图1C)。

3.4 炼苗

表4显示,不同栽培基质对2种报春组培苗成活率的影响差异显著。方差分析结果表明,草炭:珍珠岩=2:1 (v/v)、草炭:珍珠岩=3:1 (v/v)与草炭:珍珠岩=1:1 (v/v)和草炭:珍珠岩:蛭石=1:1:1 (v/v/v)之间的移栽成活率存在显著差异。其中,在草炭:珍珠岩=3:1 (v/v)和草

炭:珍珠岩:蛭石=1:1:1 (v/v/v)基质上的成活率分别为96.67%与93.33%,且在基质草炭:珍珠岩=3:1 (v/v)上植株生长较快。由此可知,最适合2种报春组培苗生长的基质为草炭土与珍珠岩比例为3:1的混合基质,成活率达96.67%,且长势最好、叶片浓绿并生长迅速(图1D)。

3.5 讨论

本研究中,通过腋芽再生的红宝石球花报春组培苗生长健壮。对后期的生长观察,发现再生的组培苗能基本保持其优良种性不变。利用本研究中的组织培养方法繁殖红宝石球花报春,平均1个芽能增殖出13个芽,极大地提高了红宝石球花报春的繁殖系数。红宝石球花报春由种子长成成苗需要2–3个月,而利用本研究中方法在相同时间内可培育出大量苗且2个月就能长成健壮的成苗,从而缩短了成苗周期。对于种子数量不多同时急需扩繁的植株,利用培养基及激素诱导,

不仅降低了成本,而且相比通过传统的方式(通过有性繁殖采集种子)繁育后代,极大地提高了育苗效率,为今后大面积园林应用和工厂化育苗提供了非常有效的方法。

通过组织培养进行再生繁殖,有两种途径:(1)外植体经过脱分化形成愈伤组织,然后经过再分化形成胚状体或直接形成器官、植株;(2)外植体不经过脱分化形成愈伤组织而直接形成丛生芽,此种诱导方式不易发生变异,能保证诱导植株的遗传稳定,适合优良品种的大量快速繁殖。本研究采用了第2种方法,以红宝石球花报春的腋芽为外植体进行组织培养,能够保持其种性不变,为新品种培育中出现的较为珍贵稀有变种的保存提供了保障。目前,报春花属植物中橘红灯台报春(李翠娟,2007)、海仙花报春(李翠娟,2007)、霞红灯台报春(李翠娟,2007)、黄花九轮草(Morozowska and Wesolowska, 2004)、岩生报春(赵妍等,2010)和滇北球花报春(张启翔等,2007)均能用腋芽诱导丛生芽并繁育出组培苗,成苗周期短且成活率也非常高。

目前,在报春花属植物组织培养过程中常用的激素主要分为两大类:一是生长素类(如IAA、2,4-D和NAA等),主要促进植物细胞伸长和根的分化;二是细胞分裂素类(如6-BA、ZT和KT等),其主要作用是引起植物细胞分裂、诱导芽的形成和促进芽的生长。不同种植物的不同外植体对培养基的要求不同(吕美萍等,2016)。本研究结果表明,在MS培养基中,添加 $1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA和 $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 6-BA是诱导红宝石球花报春腋芽不定芽的最适配方,与报春花(李彦舫等,1992)和四季报春(王莲辉等,2010)不定芽诱导培养基的激素配方大致相同,均是细胞分裂素浓度比生长素浓度低,且报春花属植物在诱导不定芽时存在细胞分裂素浓度比生长素低的情况;但与赵妍(2010)对岩生报春及Morozowska和Wesolowska (2004)对黄花九轮草进行腋芽诱导不定芽使用的培养基相差较大,这可能是植物材料不同所致。

无机盐(由大量元素和微量元素构成)是细胞结构物质的组成成分,对植物的生命活动有重要作用。其参与植物生命活动的调节和酶的活动,是细胞信号转化的信使,在植物生长过程中不可或缺。无机盐的浓度是植物组织培养中一个非常重要的因素,元素含量的减少可使无机盐浓度降低进而使植物的生长变慢,

植株低矮,叶片呈现黄色变小,茎秆细弱等。MS和1/2MS培养基均能诱导出不定芽,但是培养基中元素浓度的不同使植物的生长也有所不同。1/2MS培养基中激素含量减半,可能是导致腋芽诱导不定芽效果不理想的原因。本实验得出,腋芽诱导不定芽的最适培养基为 $\text{MS}+1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA+ $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 6-BA。

生根培养是组织培养过程中的关键步骤,多受光、水、温度和培养基类型等因素的影响。不定根的生成一般需要连续补充生长素,生长素能诱导根原基和促进不定根伸长,但是高浓度的生长素会抑制根的生长(张倩,2012;张群等,2016)。已有许多植物组织培养的研究表明,1/2MS培养基是组培苗生根的最适培养基(刘芳等,2016),且生长素浓度高于细胞分裂素浓度时有利于根的分化。本研究中红宝石球花报春生根的最适培养基为 $1/2\text{MS}+0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA,与报春花的最适生根培养基 $1/2\text{MS}+0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA(王莲辉等,2010)大致相同。

红宝石球花报春最佳移栽基质为草炭土与珍珠岩比例为3:1 (v/v)的混合基质。珍珠岩与草炭土的组合土壤有较大的孔隙,透气不积水,且具有土壤改良保湿功能。草炭土也含有多种营养元素,可为植物生长提供良好的营养环境。

本文通过对红宝石球花报春进行组织培养研究,建立了良好的无菌快繁体系。但并未对其它影响培养的因子(如培养温度和糖的量)及腋芽诱导的再生植株花的生长发育是否发生变化等问题进行探索。后续实验中,我们将针对上述问题进行深入研究。

参考文献

- 邓平平 (2008). 六种报春花属植物的组织培养与多倍体诱导研究. 硕士论文. 北京: 北京林业大学. pp. 1-2.
- 侯云屏, 古志渊 (2001). 报春花的组织培养与快速繁殖. 植物生理学通讯 37, 234-235.
- 贾茵 (2010). 小报春新品种选育研究. 硕士论文. 北京: 北京林业大学. pp. 1-2.
- 金晓霞, 潘会堂, 张启翔 (2005). 小报春的组织培养和植株再生. 植物生理学通讯 41, 794.
- 李春玲, 蒋钟仁, 熊佑清 (1992). 早春野生花卉组织培养研究初报. 园艺学报 19, 277-278.
- 李翠娟 (2007). 灯台组(*Primula Sect. Proliferae*)报春花栽培与杂交育种研究. 硕士论文. 北京: 北京林业大学. pp. 1-2.

- 李彦舫, 张亚兰, 杨松涛, 杨文杰, 庞劲松 (1992). 报春花的组织培养和植株再生. 东北师大学报(自然科学版) (4), 94–97.
- 刘芳, 唐映红, 袁有美, 郭清泉, 沈帆, 陈建荣 (2016). 多肉植物劳尔的组织培养. 植物学报 51, 251–256.
- 姜和林, 李世承, 韩阳, 侯潇, 李晶 (1996). 四季樱草叶肉原生质体植株再生. 辽宁大学学报(自然科学版) 23(4), 88–91.
- 吕美萍, 王元忠, 黄衡宇 (2016). 地皮消愈伤组织诱导及植株高效再生体系的建立. 植物学报 51, 89–97.
- 宋建英, 叶建仁, 陈剑勇 (2007). 鄂报春的组培技术研究. 西南林学院学报 27(2), 53–56.
- 王莲辉, 冯育才, 韩克松, 姜运力, 潘得权, 杨成华 (2010). 鄂报春组织培养与快速繁殖(简报). 亚热带植物科学 39(4), 67–68.
- 解玮佳, 李世峰, 李涵, 蒋亚莲, 蔡艳飞, 李树发 (2010). 滇北球花报春的组织培养(简报). 亚热带植物科学 39, 81.
- 查帅兵 (2006). 安徽羽叶报春愈伤组织的诱导和培养. 生物学杂志 23(5), 43–45, 33.
- 张启翔, 李翠娟, 潘会堂, 梁树乐, 程堂仁, 孙明 (2007). 滇北球花报春的组培快繁方法. 中国专利: CN101015280. 2010-03-03.
- 张倩 (2012). 牡丹组织培养中生根与移栽驯化研究进展. 黑龙江农业科学 (4), 146–149.
- 张群, 吕秀立, 何小丽, 朱义, 崔心红 (2016). 海三棱蕨草的组织培养与快繁体系. 植物学报 51, 684–690.
- 张淑娟, 刘与明, 罗智凤, 翁萍 (2002). 四季樱草的组织培养和快速繁殖. 植物生理学通讯 38, 354.
- 赵妍, 潘会堂, 张启翔, 王史琴, 董玲玲 (2010). 岩生报春的组织培养与快速繁殖. 植物生理学通讯 46, 1275–1276.
- Furuya H, Hosoki T (2005). *In vitro* propagation of *Primula sieboldii* E. Morr. through root segment culture. *Hortic Res (Japan)* 4, 21–26.
- Morozowska M, Wesołowska M (2004). *In vitro* clonal propagation of *Primula veris* L. and preliminary phytochemical analysis. *Acta Biol Crac Ser Bot* 46, 169–175.
- Yamamoto T, Magaya Y, Maruyama Y (1999). Mass propagation of *Primula sieboldii* E. Morr. through leaf segment culture. *Bulletin of the Faculty of Horticulture Minamikyushu University (Series A. Natural Science)* 29, 9–14.

Plant Regeneration by Inducing Axillary Buds of Sterile Seedlings of *Primula denticulata*

Yunfeng Zheng, Xiaoman Zhang*, Xiao Liu

College of Landscape Architecture and Tourism, Hebei Agriculture University, Baoding 071000, China

Abstract The axillary buds of sterile seedlings of *Primula denticulata* were used as explants. By disinfecting the explants, inducing adventitious buds, multiplication of adventitious buds, rooting culture and transplantation, the best medium of each stage was selected to establish the regeneration system of *P. denticulata*. The optimal medium of *P. denticulata* for inducing adventitious shoots from explants was MS+1 mg·L⁻¹ NAA+0.1 mg·L⁻¹ 6-BA, and the induction rate was 73.33%. The optimal medium for inducing multiple shoots was MS+1 mg·L⁻¹ NAA+0.5 mg·L⁻¹ 6-BA, and the proliferation rate was 85.19%. The optimal medium for rooting was 1/2MS+0.2 mg·L⁻¹ NAA, and the rooting rate was 95.59%. Tissue cultured *P. denticulata* seedlings were transplanted into a mixture of peat and perlite, and the volume ratio was 3:1, with maximum survival rate 96.67%.

Key words *Primula denticulata*, axillary bud of sterile seedling, multiple shoots, plant regeneration

Zheng YF, Zhang XM, Liu X (2018). Plant regeneration by inducing axillary buds of sterile seedlings of *Primula denticulata*. *Chin Bull Bot* 53, 686–692.

* Author for correspondence. E-mail: 173610925@qq.com