

# 唐菖蒲离体直接再生技术的研究\*

张智乾 何秀丽 义鸣放\*\*

(中国农业大学农学与生物技术学院, 北京 100094)

**摘要** 以唐菖蒲品种 Advanced red 的籽球、无菌根为外植体, 研究了不同植物生长激素种类和浓度、硝酸银、籽球切割方式等因素对唐菖蒲离体直接再生的影响。结果表明: 籽球切片直接再生植株的能力最强, 无菌根次之。籽球切片直接诱导不定芽再生的最佳培养基为 MS+2,4-D 0.6 mg/L+6-BA 1.1 mg/L+AgNO<sub>3</sub> 1.5 mg/L, 不定芽再生率为 85.95%, 平均再生芽数为 14.10; 籽球接种方式以横切为宜, 正反面对不定芽再生均无影响, 而纵切接种只产生不定根; 最佳生根培养基为 MS+IBA 0.5 mg/L, 生根率达到 91.81%, 单苗根数为 18.97。

**关键词** 唐菖蒲; 籽球; 无菌根; 组织培养; 直接再生

**中图分类号** S 682.2<sup>+</sup>40.36 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2008)01-0110-07

唐菖蒲 (*Gladiolus hybrid*) 是鸢尾科 (Iridaceae) 唐菖蒲属植物, 花色丰富、花姿优美, 为世界四大切花之一, 深受人们喜爱<sup>[1]</sup>。虽然在传统育种上取得了巨大的成就, 但也存在一定的局限性, 如唐菖蒲种性退化问题突出, 致使商品种球主要依赖进口。繁殖唐菖蒲的常规方法是采用无性分球法, 长期无性繁殖造成品种退化严重, 并且在生产上病虫害也十分严重。植物分子生物学的迅速发展, 为改良植物品质与性状提供了全新的途径, 利用转基因的手段改良唐菖蒲性状和品质变得切实可行<sup>[2-3]</sup>。

从目前转基因的方法来看, 无论用农杆菌介导的转基因, 还是用基因枪等方法把基因直接导入细胞, 都要依赖离体细胞组织培养有效植株再生体系, 才能得到转基因植株。尽管唐菖蒲离体培养已有许多报道, 但是大多是将外植体脱分化诱导出愈伤组织, 再通过分化培养形成植株, 产生籽球作为繁殖体, 而愈伤组织经长期继代培养往往会出现遗传上的不稳定性, 造成再生植株相应的遗传组成上的不一致性<sup>[4-5]</sup>。

目前对唐菖蒲的研究主要集中在粉色系主流品种 Rose supreme (RS) 上<sup>[6-8]</sup>, 而对市场上红色系的主流品种 Advanced red (AR) 的研究报道甚少, 并且至今没有见到关于 RS 和 AR 直接再生的研究报

道。本研究以 AR 为材料, 设计了以籽球、无菌根为外植体, 不经过愈伤组织阶段直接诱导形成试管苗的试验, 旨在为唐菖蒲遗传转化受体系统的建立以及为基因转化获得唐菖蒲新品种奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

唐菖蒲栽培品种 Advanced red 购于辽宁金城园艺试验场, 籽球直径为 0.8~1.0 cm。以籽球和根为外植体, 其中根来自于无菌苗。

### 1.2 无菌材料的获得

1) 籽球。将低温储藏 1 个月后的籽球剥去种皮, 用无菌水冲洗 3 次, 并浸泡 30 min, 取出后用 75% 的酒精处理 1 min, 无菌水清洗 2~3 次, 再用 0.1% 的升汞振荡处理 30 min, 无菌水清洗 5 次, 前 3 次振荡清洗, 每次振荡清洗 3 min, 后 2 次每次振荡清洗 1 min, 无菌滤纸吸干后备用。

2) 根。将消毒后的籽球接种到 MS+BA 2 mg/L+IBA 0.4 mg/L 培养基上诱导生根, 从根尖端至中部依次切为 0.3 cm 的小段进行接种。

### 1.3 不定芽直接分化诱导培养基的筛选

将处理后的籽球顶部芽点和根盘切除, 分为纵切 (纵切成 4 块) 和横切 (横切为 0.2 cm 厚的圆片) 2

收稿日期: 2007-08-15

\* 国家自然科学基金项目 (30471221) 资助

\*\* 通讯作者. E-mail: ymfang@cau.edu.cn

张智乾, 男, 1982 年生, 中国农业大学农学与生物技术学院硕士研究生, 北京 100094

种方式,接种时不分正反面,将籽球切片、切块和无菌根接种于附加不同种类激素(6-BA、2,4-D 和 NAA)及不同浓度配比的 MS 固体培养基上。采用双因素完全随机设计,共 17 个处理(表 1)。籽球每处理 32 个外植体,无菌根每处理 64 个外植体,重复 3 次,以不加任何激素的 MS 培养基为对照,每隔 12 d 更换 1 次培养基。30 d 后统计不同激素组合对诱导籽球和无菌根不定芽生长的情况。

表 1 诱导不定芽的不同激素配比

Table 1 Different combinations of hormones for inducing adventitious buds

组合 I Combination I		组合 II Combination II	
编号 No.	mg/L	编号 No.	mg/L
2,4-D	6-BA	NAA	6-BA
CK	0	CK	0
I <sub>1</sub>	0.5	II <sub>1</sub>	1.0
I <sub>2</sub>	0.5	II <sub>2</sub>	1.0
I <sub>3</sub>	1.0	II <sub>3</sub>	1.0
I <sub>4</sub>	1.0	II <sub>4</sub>	2.0
I <sub>5</sub>	1.5	II <sub>5</sub>	2.0
I <sub>6</sub>	1.5	II <sub>6</sub>	2.0
I <sub>7</sub>	2.0	II <sub>7</sub>	3.0
I <sub>8</sub>	2.0	II <sub>8</sub>	3.0
		II <sub>9</sub>	3.0

#### 1.4 不定芽直接分化培养基的优化

1) 2,4-D 和 6-BA 激素组合。根据表 1 中不同激素组合对籽球和无菌根直接分化不定芽诱导的结果,对筛选出的 2,4-D 和 6-BA 激素组合进一步优化。将籽球和无菌根置于附加不同浓度的 2,4-D (0.4、0.5、0.6、0.7 mg/L) 和 6-BA (0.9、1.0、1.1、1.2 mg/L) 的 MS 固体培养基上,采用双因素完全随机设计,共 16 个处理。籽球每处理 32 个外植体,无菌根每处理 64 个外植体,重复 3 次,每隔 12 d 更换 1 次培养基,30 d 后统计结果。

2) 硝酸银(AgNO<sub>3</sub>)。在得到的最适培养基中加入不同浓度的 AgNO<sub>3</sub> (0.0、1.0、1.5、2.0 mg/L),只接种籽球切片,每处理 32 个外植体,重复 3 次,每隔 12 d 更换 1 次培养基,30 d 后统计结果。

#### 1.5 不同盐分培养基对试管苗生根的诱导

将不定芽切下接入 MS+2,4-D 0.2 mg/L+6-BA 0.5 mg/L 固体培养基中进行壮苗,当不定芽伸长至 2.0 cm 时自基部切下,移至不同生根培养基 MS(0、1/2、1/4、1)+IBA 0.5 mg/L<sup>[9]</sup>,25 d 后统计结果。

#### 1.6 基本培养基及培养条件

选用 MS 为基本培养基,蔗糖浓度 3%,用

0.7%琼脂固化,pH 5.85~5.90,121 °C 湿热灭菌 20 min,分装在培养皿中。材料接种后放在无菌室内培养,温度(25±1) °C,光照强度 2 000~3 000 lx,光照时间 12 h/d。

#### 1.7 数据统计

不定芽再生率(%)=(再生不定芽的外植体数/接种外植体数)×100

褐化率(%)=(褐化的外植体数/接种外植体数)×100

外植体平均再生芽数=再生芽总数/再生不定芽的外植体数

生根率(%)=(生根苗数/接种苗数)×100

平均单苗根数=生根数/生根苗数

本试验数据采用 Excel 和 Dps 软件处理,进行方差分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同激素种类和浓度对唐菖蒲籽球和无菌根直接分化不定芽的影响

从表 2 可以看出,当唐菖蒲籽球纵切时,不同激素组合的 17 个处理和对照,除褐变死亡的外植体外,均只产生不定根。而当唐菖蒲籽球横切时,在 2,4-D 与 6-BA 激素组合的 8 个处理中,有 6 个处理产生了不定芽,其中处理 I<sub>2</sub> 分化不定芽外植体数最多,不定芽再生率为 52.67%;在 NAA 与 6-BA 激素组合中,只有 3 个处理产生了不定芽,其它处理仅有不定根的发生,其中处理 II<sub>9</sub> 分化不定芽外植体数最多,达到了 6.31%。不管是在哪种激素组合中,不定芽和不定根的发生过程都是在培养 5 d 后观察到切块表面由原来的嫩白色变成暗黄色,15 d 后切块表面出现细小白色突起,20 d 后白色突起基部开始膨大,经过 30~40 d 白色突起顶端分化出不定芽或不定根(图 1-A、图 1-B),在这一过程中,均没有任何愈伤出现。

在无菌根培养中,在 NAA 与 6-BA 激素组合中均未诱导出不定芽,而且全部褐变死亡;在 2,4-D 与 6-BA 激素组合中,有 5 个处理产生了不定芽,其中处理 I<sub>2</sub> 分化不定芽外植体数最多,但是不定芽再生率只有 11.18%。

以上结果表明,唐菖蒲籽球横切与纵切的方式对诱导不定芽的直接分化有着很大的影响,而摆放的位置则无影响。2,4-D 与 6-BA 是诱导籽球与无菌根直接分化不定芽的有效激素组合。

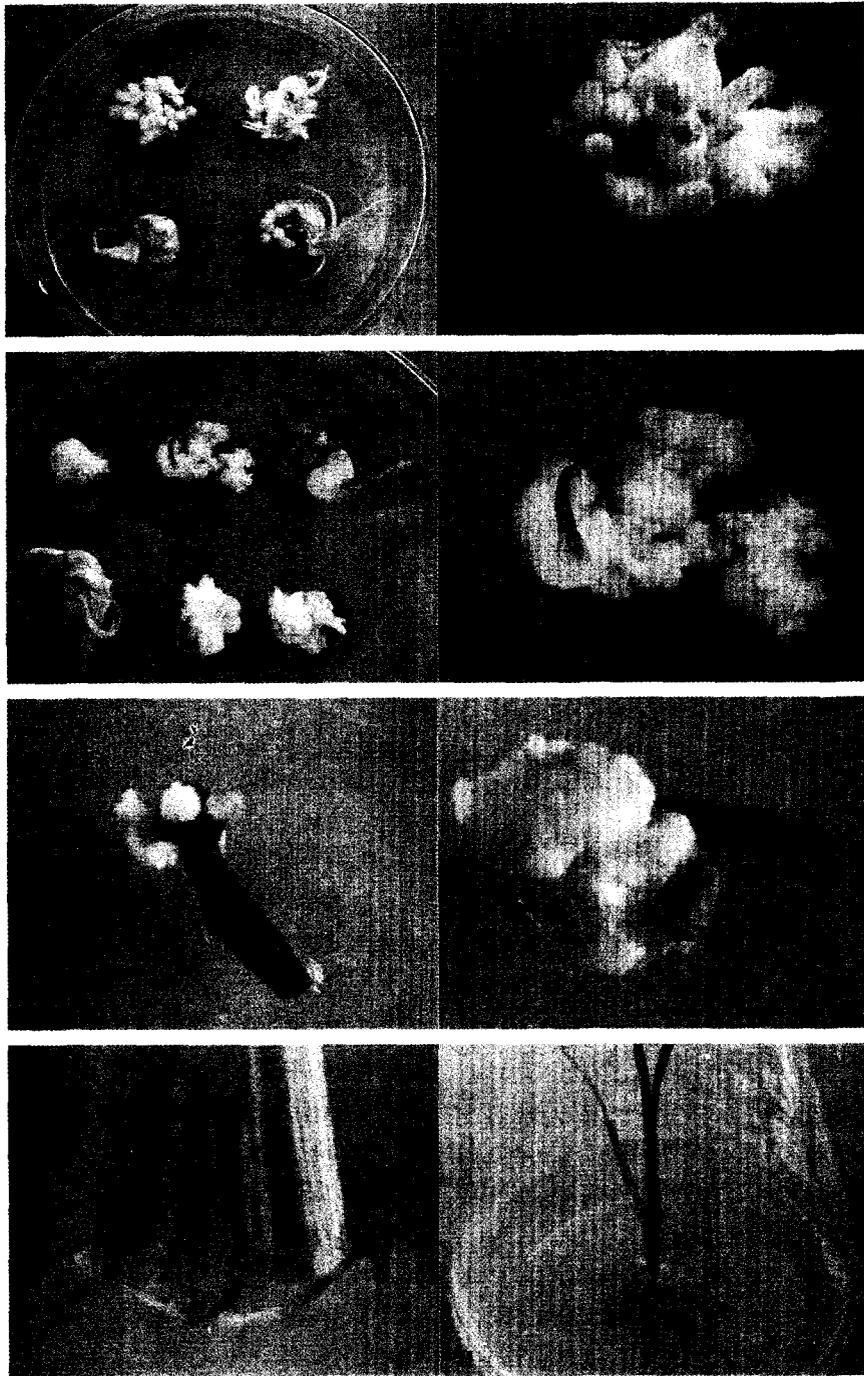


图 1 唐菖蒲直接再生

Fig. 1 Direct formation of *Gladiolus*

A, B. AR 处理 II<sub>8</sub> 的不定根和不定芽 Adventitious buds and adventitious roots come from explant of AR cultured in medium II<sub>8</sub>; C, D. 籽球在 MS+2,4-D 0.6 mg/L+6-BA 1.1 mg/L 培养基上直接分化不定芽 Direct formation of adventitious buds from the cormlet in medium MS+2,4-D 0.6 mg/L+6-BA 1.1 mg/L; E, F. 无茵根在 MS+2,4-D 0.6 mg/L+6-BA 1.1 mg/L 培养基上直接分化不定芽 Direct formation of adventitious buds from the virus-free root in medium MS+2,4-D 0.6 mg/L+6-BA 1.1 mg/L; G. 不定芽在 MS+2,4-D 0.2 mg/L+6-BA 0.5 mg/L 培养基上的生长 Growth of adventitious buds in medium MS+2,4-D 0.2 mg/L+6-BA 0.5 mg/L; H. 不定芽在 MS+IBA 0.5 mg/L 的培养基生根 Roots of adventitious buds in medium MS+IBA 0.5 mg/L

表 2 不同激素组合诱导唐菖蒲籽球和无菌根不定芽分化的影响  
Table 2 The effect of different hormone combinations on the differentiation of adventitious buds from the cormlet and virus-free root of *Gladiolus*

处理	子球数目 Number of cormlet	不定芽再生率/% Adventitious buds percentage	诱导结果 Result		无菌根数目 Number of virus-free root	不定芽再生率/% Adventitious buds percentage	诱导结果 Result
			横切 Transection	纵切 Longitudinal cutting			
CK	32	0.00	褐变死亡 Browning and death	褐变死亡 Browning and death	64	0.00	褐变死亡 Browning and death
I <sub>1</sub>	32	34.38	不定芽 Adventitious buds	褐变死亡 Browning and death	64	9.37	不定芽 Adventitious buds
I <sub>2</sub>	32	52.67	不定芽 Adventitious buds	褐变死亡 Browning and death	64	14.67	不定芽 Adventitious buds
I <sub>3</sub>	32	25.31	不定芽 Adventitious buds	不定根 Adventitious roots	64	4.68	不定芽 Adventitious buds
I <sub>4</sub>	32	21.88	不定芽 Adventitious buds	不定根 Adventitious roots	64	6.23	不定芽 Adventitious buds
I <sub>5</sub>	32	6.22	不定芽 Adventitious buds	不定根 Adventitious roots	64	0.00	褐变死亡 Browning and death
I <sub>6</sub>	32	3.14	不定芽 Adventitious buds	不定根 Adventitious roots	64	4.66	不定芽 Adventitious buds
I <sub>7</sub>	32	0.00	褐变死亡 Browning and death	褐变死亡 Browning and death	64	0.00	褐变死亡 Browning and death
I <sub>8</sub>	32	0.00	褐变死亡 Browning and death	褐变死亡 Browning and death	64	0.00	褐变死亡 Browning and death
II <sub>1</sub>	32	0.00	不定根 Adventitious roots	不定根 Adventitious roots	64	0.00	褐变死亡 Browning and death
II <sub>2</sub>	32	0.00	不定根 Adventitious roots	不定根 Adventitious roots	64	0.00	褐变死亡 Browning and death
II <sub>3</sub>	32	0.00	不定根 Adventitious roots	褐变死亡 Browning and death	64	0.00	褐变死亡 Browning and death
II <sub>4</sub>	32	0.00	不定根 Adventitious roots	褐变死亡 Browning and death	64	0.00	褐变死亡 Browning and death
II <sub>5</sub>	32	3.17	不定芽、不定根 Adventitious buds and adventitious roots	褐变死亡 Browning and death	64	0.00	褐变死亡 Browning and death
II <sub>6</sub>	32	0.00	不定根 Adventitious roots	褐变死亡 Browning and death	64	0.00	褐变死亡 Browning and death
II <sub>7</sub>	32	3.28	不定根 Adventitious roots	褐变死亡 Browning and death	64	0.00	褐变死亡 Browning and death
II <sub>8</sub>	32	6.31	不定芽、不定根 Adventitious buds and adventitious roots	不定根 Adventitious roots	64	0.00	褐变死亡 Browning and death
II <sub>9</sub>	32	1.08	不定芽、不定根 Adventitious buds and adventitious roots	不定根 Adventitious roots	64	0.00	褐变死亡 Browning and death

## 2.2 不定芽直接分化培养基的优化

1) 2,4-D 和 6-BA 组合。建立高频再生体系是基因转化的关键环节。为此,在处理 I<sub>2</sub> 培养基激素组合的基础上对 2,4-D 和 6-BA 浓度进一步细化并随机组合。

从表 3 可以看出,相比优化前的籽球不定芽再生率(52.67%)和每个外植体再生芽数(8.53 个),

在 MS+2,4-D 0.6 mg/L+6-BA 1.1 mg/L 激素组合中,籽球不定芽再生率提高(76.20%),每个外植体再生芽数增加(14.10 个)。而且籽球(图 1-C、图 1-D)与无菌根(图 1-E、图 1-F)相比,不定芽再生率和每个外植体再生芽数均显著高于无菌根,无菌根最高只达到 14.67% 和 4.23 个,因此,籽球是诱导不定芽再生效率更高的外植体。

表 3 2,4-D 和 6-BA 激素组合对唐菖蒲子球、无菌根外植体不定芽分化的影响

Table 3 The effect of hormone combinations of 2,4-D and 6-BA on the differentiation of adventitious buds from the cormlet and virus-free root of *Gladiolus*

处理 Treatment	接种外植体数 Number of explants inoculated	2,4-D 浓度 2,4-D concentration/ (mg · L <sup>-1</sup> )	6-BA 浓度 6-BA concentration/ (mg · L <sup>-1</sup> )	不定芽再生率/% Adventitious buds percentage		每外植体再生芽数 No. of buds per explant	
				子球 Cormlet	无菌根 Virus-free root	子球 Cormlet	无菌根 Virus-free root
1	32	0.4	0.9	45.87 k	3.50 h	3.70 i	0.83 h
2	32	0.4	1.0	51.23 hi	3.83 gh	5.20 h	0.87 h
3	32	0.4	1.1	49.73 i	4.53 g	6.00 g	0.73 h
4	32	0.4	1.2	47.40 j	3.90 gh	5.50 gh	0.93 h
5	32	0.5	0.9	51.20 hi	5.43 f	7.67 f	1.33 g
6	32	0.5	1.0	52.67 h	14.67 a	8.53 e	1.73 f
7	32	0.5	1.1	61.60 de	7.17 de	8.50 e	2.13 e
8	32	0.5	1.2	59.90 f	7.03 de	8.33 e	2.10 e
9	32	0.6	0.9	61.17 ef	12.07 b	10.67 c	2.27 de
10	32	0.6	1.0	72.90 b	11.17 c	13.23 b	2.83 bc
11	32	0.6	1.1	76.20 a	7.40 de	14.10 a	4.23 a
12	32	0.6	1.2	69.83 c	6.73 e	12.93 b	3.00 b
13	32	0.7	0.9	56.60 g	7.40 de	9.43 d	1.80 f
14	32	0.7	1.0	57.47 g	7.60 de	10.87 c	2.30 de
15	32	0.7	1.1	62.83 d	7.87 d	12.83 b	2.73 c
16	32	0.7	1.2	60.30 ef	5.83f	10.27 c	2.47 d

1) 同一列中不同小写字母表示在 0.05 水平上差异显著 Different letters in the same column mean significant differences obtained by Duncan test at  $P=0.05$  (下表同 The same as below)

2) 2,4-D 和 6-BA 组合添加硝酸银。从表 4 可以看出,在 MS+2,4-D 0.6 mg/L+6-BA 1.1 mg/L 激素组合中加入 AgNO<sub>3</sub> 后,均能明显地降低褐化率,从而有效提高不定芽再生率。然而随着硝酸银浓度升高,不定芽再生率呈先高后低,畸形。

表 4 硝酸银对唐菖蒲籽球不定芽分化的影响

Table 4 The effect of AgNO<sub>3</sub> on the differentiation of adventitious buds from the cormlet of *Gladiolus*

处理 Treatment	硝酸银浓度 AgNO <sub>3</sub> concentration/ (mg · L <sup>-1</sup> )	接种数/ Number of explant	不定芽再生率/% Adventitious buds percentage	褐化率/% Browning percentage	不定芽生长状态 Growth state of adventitious buds
1	0.0	32	75.88 d	58.33 a	不定芽多为嫩绿色 Most adventitious buds were light green
2	1.0	32	79.44 c	29.29 c	嫩绿色不定芽 Adventitious buds were light green
3	1.5	32	85.95 a	26.04 d	嫩绿色不定芽 Adventitious buds were light green
4	2.0	32	82.47 b	38.55 b	嫩绿色不定芽,部分产生畸形不定芽 Adventitious buds were light green, a part of which were abnormal

### 2.3 不同培养基对试管苗生根诱导的影响

如表 5 所示,不同盐分的基本培养基对生根诱导的效果呈现明显差异。盐分减半时生根率虽然达

到 100%,根分支多,但单根苗数减少,而且苗质也受到了影响,有少量浅黄绿色叶出现。MS 培养基上生根率虽然不及盐分减半的高,但单苗根数多,苗

表 5 基本培养基不同盐分对生根诱导的影响

Table 5 Effects of basic medium with different salt on induction of roots

培养基 Medium	生根率/% Rate of rooting	单苗根数 No. of roots per plantlet	根、苗长势 Growth vigour of roots and plantlets
MS	70.87 d	7.07 d	根生长慢, 纤细, 无分枝 Roots grown slowly, slim, no branches
MS+IBA 0.5 mg/L	91.81 b	18.97 a	根生长快, 分枝少, 苗质良好, 叶绿色 Roots grown fast, fewer branches, plantlet was well, green leaves
1/2 MS+IBA 0.5 mg/L	100.00 a	13.87 b	根生长快, 分枝多, 苗质一般, 有黄绿色叶 Roots grown fast, many branches, plantlet was ordinary, kelly leaves
1/4 MS+IBA 0.5 mg/L	85.78 c	8.03 c	根生长慢, 分枝少, 苗质一般, 有黄绿色叶 Roots grown slowly, more branches, plantlet was ordinary, kelly leaves

健壮, 叶呈正常绿色(图 1-H), 说明保持植株正常生长必须保证有充足的盐分供应。在不添加任何激素的 MS 培养基上, 根纤细, 并且无分支, 说明激素对诱导无菌苗生根有较大的促进作用。

### 3 讨论

籽球的切割方式对唐菖蒲离体培养直接诱导不定芽有重要影响。在试验中笔者发现籽球去除顶芽和根盘后在纵切成块培养时, 在不同激素组合中, 均只产生不定根, 并且是经过大约 35 d 的培养, 纵切表面膨胀断裂, 从内部长出不定根; 而横切成片培养时, 在 2,4-D 与 6-BA 的激素组合中是在横切表面直接发生不定芽, 在 NAA 与 6-BA 的激素组合中则是大量不定根伴随着极少量不定芽发生, 并且不定芽或不定根的发生与外植体摆放的正反面无关, 都是在切片的上表面发生。有人认为组织培养中外植体的极性现象和敏感部位的差异是由于外植体细胞生理状态的差异所致<sup>[10]</sup>, 其原因尚待进一步的研究。在之前的报道中, 唐菖蒲再生体系的建立以及诱导体细胞胚的发生均是通过愈伤途径。但是在本试验中笔者发现在横切与纵切的情况下, 不定芽与不定根的发生过程中均没有愈伤产生, 这可能是由于唐菖蒲不同品种间基因差异所致。

本试验结果表明: 2,4-D 与 6-BA 是诱导唐菖蒲籽球与无菌根不定芽再生的有效激素组合。与无菌根相比, 籽球的不定芽再生率和每个外植体再生芽数均显著高于无菌根, 高达 76.20% 和 14.10 个, 而无菌根最高仅达到 14.67% 和 4.23 个, 因此籽球是诱导不定芽再生效率更高的外植体。在本试验中, 加入不同浓度的  $\text{AgNO}_3$  后, 褐化率明显降低, 在加入  $\text{AgNO}_3$  1.5 mg/L 时, 褐化率由原来的 58.33% 降低到 26.04%, 并且不定芽再生率提高到了

85.95%, 芽长势良好。有报道显示,  $\text{AgNO}_3$  对诱导不定芽再生、促进器官发生以及防止培养物褐化有着明显作用<sup>[11-12]</sup>, 这是由于  $\text{Ag}^+$  可以抑制乙烯的合成, 通过促进多胺的合成提高芽发生的频率<sup>[13]</sup>。但是, 本试验发现  $\text{AgNO}_3$  浓度过高 (2 mg/L) 会使唐菖蒲不定芽出现畸形。

激素对唐菖蒲试管苗生根有较大的促进作用, 除激素外, 根的形成还需要充足的盐分供应, 盐分可以提高苗质。本试验获得的最佳生根培养基为含 IBA 0.5 mg/L 的 MS 培养基, 生根率达 91.81%, 单苗根数为 22.1, 根长势好, 这与郝红云等<sup>[9]</sup>得到的结果一致。

### 参 考 文 献

- [1] 义鸣放, 王玉国, 缪珊. 唐菖蒲 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 1-3.
- [2] 王关林, 方宏筠. 植物基因工程 [M]. 2 版. 北京: 科学出版社, 2002: 95-97.
- [3] 周国辉, 李华平. 转基因植物及其应用 [J]. 热带作物学报, 2000, 21(3): 70-76.
- [4] 许智宏. 植物生物技术 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1998: 186.
- [5] EZURA H, AMAGAI H, YOSHIOKA K, et al. Highly frequent appearance of tetraploidy in regenerated plants, a universal phenomenon, in tissue cultures of melon (*Cucumis melo* L.) [J]. Plant Science, 1992, 85(2): 209-213.
- [6] 艾丽皎, 李名扬. 唐菖蒲球茎芽高频再生体系的建立 [J]. 西南农业大学学报: 自然科学版, 2005, 27(6): 844-846.
- [7] 刘志洋, 车代弟. 唐菖蒲愈伤组织的诱导及植株再生 [J]. 分子植物育种, 2004, 2(5): 695-698.
- [8] 郑洋, 邹春蕾, 曹源. PP333 对唐菖蒲试管苗增殖和生根的影响 [J]. 辽宁农业科学, 2007(2): 22-23.
- [9] 郝红云, 义鸣放. 唐菖蒲花茎愈伤植株再生途径的优化 [J]. 华中农业大学学报, 2007, 26(2): 246-250.

- [10] 马国斌,王鸣. 西瓜和甜瓜组织培养中外植体的极性现象和敏感部位[J]. 果树科学,1999,16(3):232-234.
- [11] PALMER C E. Enhanced shoot regeneration from *Brassica campestris* by silver nitrate[J]. Plant Cell Reports, 1992, 11(11): 541-545.
- [12] BIDDINGTON N L, SUTERLAND R A, ROBINSON H T. Silver nitrate increases embryo production in anther culture of Brussels sprouts [J]. Annals of Botany, 1988, 62(2):181-185.
- [13] 张鹏,傅爱根. AgNO<sub>3</sub>在植物离体培养中的作用及可能的机制[J]. 植物生理学通讯,1997,33(5):376-379.

## Plant Direct Regeneration of *Gladiolus in vitro*

ZHANG Zhi-qian HE Xiu-li YI Ming-fang

(College of Agronomy and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100094, China)

**Abstract** Cormlet and virus-free root of *Gladiolus* cv. advanced red with different cutting means were cultured on media with different plant growth substances and AgNO<sub>3</sub>. The results showed that plant direct regeneration rate of cormlet was much higher than that of virus-free root. The optimum medium for direct regeneration of adventitious buds from the cormlet was MS+2,4-D 0.6 mg/L+6-BA 1.1 mg/L+AgNO<sub>3</sub> 1.5 mg/L, in which the regeneration percentage of adventitious buds was 85.95%, and average adventitious buds was 14.10. Transection was the best inoculation means without regard for frontback, whereas there are only adventitious roots in the inoculation of longitudinal cutting with different combinations of hormones. The optimum medium for rooting was MS+IBA 0.5 mg/L, the rate of rooting reached 91.81% and the number of roots per plantlet were 18.97. This will provide a good acceptor system for genetic transform of *Gladiolus*.

**Key words** *Gladiolus*; cormlet; virus-free root; tissue culture; direct regeneration

(责任编辑:杨锦莲)