

## 永福报春苣苔离体快繁体系的建立

闫海霞, 邓杰玲, 何荆洲, 黄昌艳, 崔学强, 卜朝阳\*

广西壮族自治区农业科学院花卉研究所, 南宁530007

**摘要:** 以永福报春苣苔(*Primulina yungfuensis*)的叶片为外植体, 开展附加不同植物生长调节剂的培养基对不定芽诱导、增殖培养、壮苗培养、生根培养的对比实验, 筛选出各培养阶段适宜的培养基, 建立其离体快繁体系。结果表明: 适宜的不定芽诱导培养基为MS+3.0 mg·L<sup>-1</sup> 6-苄氨基腺嘌呤(6-BA)+0.25 mg·L<sup>-1</sup> 萘乙酸(NAA); 适宜的不定芽增殖培养基为MS+1.0~3.0 mg·L<sup>-1</sup> 玉米素(ZT)+0.25 mg·L<sup>-1</sup> 吲哚丁酸(IBA); 适宜的壮苗培养基为1/2MS+0.1 mg·L<sup>-1</sup> IBA+0.1 g·L<sup>-1</sup> 活性炭; 适宜的生根培养基为1/2MS+0.3 mg·L<sup>-1</sup> IBA+0.5 g·L<sup>-1</sup> 活性炭, 生根率为100%; 采用腐殖土和粗沙2:1 (V/V)为移栽基质, 移栽成活率达100%。

**关键词:** 苦苣苔; 永福报春苣苔; 离体快繁

永福报春苣苔(*Primulina yungfuensis*)为苦苣苔科(Gesneriaceae)报春苣苔属多年生草本植物, 广西特有种, 主要分布在桂林市、永福及临桂, 常见于海拔200~450 m的石灰岩石山阴处(韦毅刚2010)。永福报春苣苔植株圆整、矮小, 叶片的斑纹丰富多变, 花葶颇长, 花朵硕大, 是一种不可多得的观叶兼观花的室内植物, 应用前景广阔。目前永福报春苣苔的盆栽多数源于野外挖掘, 致使大量野生资源遭到破坏流失, 严重影响了种群居群的更新发展。为避免永福报春苣苔因滥采滥挖造成的资源破坏和流失, 同时也为了满足其市场的需求, 人工繁育技术的研究应作为当前科研工作的重点。永福报春苣苔的繁殖可以采用播种和叶片扦插, 但目前这两种繁育方法在该物种上的研究极少, 仅有艾春晓等(2013, 2014)对其叶片扦插进行了初步的研究, 结果表明永福报春苣苔以半叶插方式繁殖效果最好。种子繁殖常受种源及发芽率的影响, 而扦插繁殖存在速度慢、繁殖系数小、难以满足商品化生产的缺点。离体快繁技术具有周期短、繁殖系数大、成品苗品质优良整齐的优点。该技术在苦苣苔科的其他植物上已有相关研究, 如条叶报春苣苔(*P. ophiopogoides*) (付发明等2015; 张占江等2013)、荔波报春苣苔(*P. liboensis*) (侯娜等2015)、菱叶报春苣苔(*P. subrhomboidea*) (李翠等2010)、烟叶报春苣苔(*P. heterotricha*) (潘梅等2014)、莨山报春苣苔(*P. langshanica*) (谭晓凤等2009)、大苞短毛唇柱苣苔(*Chirita brachytricha* var. *magnibracteata*) (文骏等2016)、半蒴苣苔(*Hemimiboea subcapitata*) (阮慧泽等2014)等, 但离体快繁技术在永福报春苣苔上的研究尚未有报道。本

实验以永福报春苣苔的叶片为外植体, 对初代培养、增殖培养、壮苗培养、生根培养以及炼苗移栽等离体快繁的主要技术进行研究, 以期建立其离体快繁体系, 为其今后的遗传转化研究提供参考, 同时为苦苣苔科野生花卉繁育提供技术依据, 为商品化规模生产作技术储备。

### 材料与方法

#### 1 实验材料

由广西壮族自治区农业科学院花卉研究所提供经过人工驯化栽培的永福报春苣苔[*Primulina yungfuensis* (W. T. Wang) Mich. Möller et A. Weber] 植株(图1)。

#### 2 实验方法

##### 2.1 外植体的消毒和灭菌

取无病虫害、生长健壮的永福报春苣苔成熟叶片, 经洗洁精800倍液浸泡10 min后在流水下冲洗10 min, 然后转移到超净工作台上进行灭菌操作。先用棉球蘸取75%乙醇溶液拭擦叶片正面和背面, 无菌水冲洗2次; 再将叶片在75%乙醇溶液中浸泡8~10 s, 无菌水冲洗5次; 最后用0.1%氯化汞溶液浸泡2次, 每次浸泡时间为6 min, 且每次浸泡后用无菌水冲洗5次。乙醇溶液和氯化汞溶液浸泡过程中要轻轻振荡使灭菌剂充分接触叶片。在接种盘内将叶片切成2~3 cm×2~3 cm大小的叶块备用。

收稿 2017-07-10 修定 2017-09-26

资助 广西科学研究与技术开发计划项目(桂科攻1598006-5-8)和广西农科院基本科研业务专项(2015YT89和桂农科2017YZ05)。

\* 通讯作者(E-mail: yangnv@126.com)。



图1 开花植株  
Fig.1 Flowering plants

## 2.2 初代培养

将切好的叶片按正面朝上、背面朝下的方式接入初代培养基中。每种培养基接种叶块20块,重复3次。经过30 d的培养后,观察叶片的诱导情况,并统计不定芽数量,计算诱导率,筛选出适宜的初代诱导培养基;不定芽诱导率(%)=产生不定芽叶片数/接种数 $\times$ 100%;愈伤诱导率(%)=产生愈伤组织的叶片数/接种数 $\times$ 100%。

## 2.3 增殖培养

将从叶片诱导得到的不定芽切取下来,以单个芽形式接入增殖培养基中。每种培养基接种不定芽20株,重复3次。培养30 d后,统计新芽数,并计算增殖系数,筛选出适宜的增殖培养基;增殖系数=新芽数/接种数。

## 2.4 壮苗培养

选择具有一对以上叶片的植株,以单株形式接入附加了不同植物生长调节剂种类和浓度的MS、1/2MS、1/4MS培养基中;每种培养基接种植株20株,重复3次。培养30 d后,比较各培养基植株生长情况,筛选出适宜的壮苗培养基。

## 2.5 生根培养

将经过壮苗培养的具有2对以上叶片的植株以单株形式接入生根培养基中;每种培养基接种植株20株,重复3次。培养30 d后,统计生根植株数,计算生根率,比较各培养基的植株生根情况,筛选出适宜的生根培养基;生根率(%)=生根数/接种数 $\times$ 100%。

## 2.6 炼苗移栽

将生长健壮、生根良好、具有2对以上叶片的组培苗,移出培养室后揭盖在温室中炼苗7~10 d。将组培苗小心取出并洗净培养基,用50%多菌灵可湿性粉剂1 000倍溶液浸泡10~15 min,取出后在阴凉处晾置10 min,再移栽到装有基质(腐殖土和粗沙的体积比为2:1)的50孔穴盘中,并浇透定根水。15 d后,统计成活率。

## 2.7 环境条件

各培养阶段的培养温度为25~28 $^{\circ}$ C,光照强度为12.5~30  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ,光照时间为12 h $\cdot\text{d}^{-1}$ ;炼苗的环境条件为温度26~30 $^{\circ}$ C,光照强度62.5  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ;移栽的环境温度为15~28 $^{\circ}$ C,空气相对湿度为70%~80%,光照强度为50~80  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 。

## 2.8 统计分析

试验数据采用Excel 2003进行统计处理,采用SPSS 19.0统计软件进行方差分析以及Duncan's多重比较。

## 实验结果

### 1 叶片的初代诱导

由表1可以看出,各培养基处理间除了愈伤诱导率无显著差异外(均为0),芽诱导率、不定芽数以及诱导时间都有差异。在不添加6-苄氨基腺嘌呤(6-benzylaminopurine, 6-BA)和萘乙酸(1-naphthylacetic acid, NAA)的培养基上,芽诱导率 and 不定芽数最低,诱导时间最长;方差分析显示,芽诱导率显著低于除了MS+1.0  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  6-BA+0.10  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  NAA之外的所有培养基,不定芽数显著低于其他培养基。当NAA浓度相同时,芽诱导率、不定芽数、诱导时间均无显著差异;当6-BA浓度为1.5  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,芽诱导率、不定芽数、诱导时间均无显著差异。由此表明,添加一定浓度的植物生长调节剂有利于不定芽的诱导,并能极大地缩短诱导时间,但6-BA结合NAA未能获得愈伤组织;植物生长调节剂的浓度太低或太高均会导致不定芽的长势变差。通过方差分析还可知,芽诱导率、不定芽数随着植物生长调节剂浓度的增加而增加,诱导时间随着植物生长调节剂浓度的增加有降低的趋势,当6-BA浓度为3.0  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、NAA浓度为0.25  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,芽诱导率高达90.00%,产生的不定芽最多,诱导时间也较短,不定芽长势良好。因此,在培养基中添加一定浓

表1 不同培养基对永福报春苕苔初代诱导的影响

Table 1 Effects of different media on primary induction of *P. yungfuensis*

编号	培养基	6-BA浓度/mg·L <sup>-1</sup>	NAA浓度/mg·L <sup>-1</sup>	芽诱导率/%	愈伤诱导率/%	不定芽数	诱导时间/d	长势
Y <sub>1</sub>	MS	0	0	41.67±2.89 <sup>d</sup>	0	15.00±2.00 <sup>d</sup>	29.00±1.00 <sup>a</sup>	差
Y <sub>2</sub>	MS	1.0	0.10	58.33±7.64 <sup>cd</sup>	0	26.33±3.79 <sup>c</sup>	26.00±1.00 <sup>ab</sup>	差
Y <sub>3</sub>	MS	1.5	0.10	68.33±16.07 <sup>bc</sup>	0	30.33±0.58 <sup>bc</sup>	26.67±0.58 <sup>ab</sup>	差
Y <sub>4</sub>	MS	3.0	0.10	73.33±7.64 <sup>abc</sup>	0	33.67±5.03 <sup>abc</sup>	25.67±2.08 <sup>b</sup>	良
Y <sub>5</sub>	MS	1.0	0.25	75.00±5.00 <sup>abc</sup>	0	37.33±1.12 <sup>ab</sup>	26.00±2.65 <sup>ab</sup>	良
Y <sub>6</sub>	MS	1.5	0.25	81.67±5.77 <sup>ab</sup>	0	38.67±5.51 <sup>ab</sup>	24.00±1.00 <sup>bc</sup>	良
Y <sub>7</sub>	MS	3.0	0.25	90.00±5.00 <sup>a</sup>	0	43.67±4.04 <sup>a</sup>	25.67±1.53 <sup>b</sup>	良
Y <sub>8</sub>	MS	1.0	0.50	78.33±5.77 <sup>ab</sup>	0	37.00±2.00 <sup>ab</sup>	23.33±1.53 <sup>bc</sup>	差
Y <sub>9</sub>	MS	1.5	0.50	80.00±21.79 <sup>ab</sup>	0	38.33±9.50 <sup>ab</sup>	23.33±2.89 <sup>bc</sup>	差
Y <sub>10</sub>	MS	3.0	0.50	90.00±5.00 <sup>a</sup>	0	41.33±10.02 <sup>a</sup>	21.33±1.53 <sup>c</sup>	差

表中数据为3次重复的平均值±标准差。同列数据后不同小写字母标识表示差异显著( $P<0.05$ )。下表同。

度的6-BA和NAA有利于不定芽的诱导, 并能在较短时间内形成不定芽, 适宜的 不定芽诱导培养基为MS+3.0 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA+0.25 mg·L<sup>-1</sup> NAA, 获得的不定芽长势良好。实验过程中还观察到, 外植体

培养5 d后, 叶片切口变成浅黄(图2-A); 10 d后, 切口处出现浅黄色或浅绿色的凸起(图2-B); 20 d后, 浅色凸起逐渐长成芽点(图2-C); 30 d后, 芽点长成具有叶片的不定芽(图2-D)。

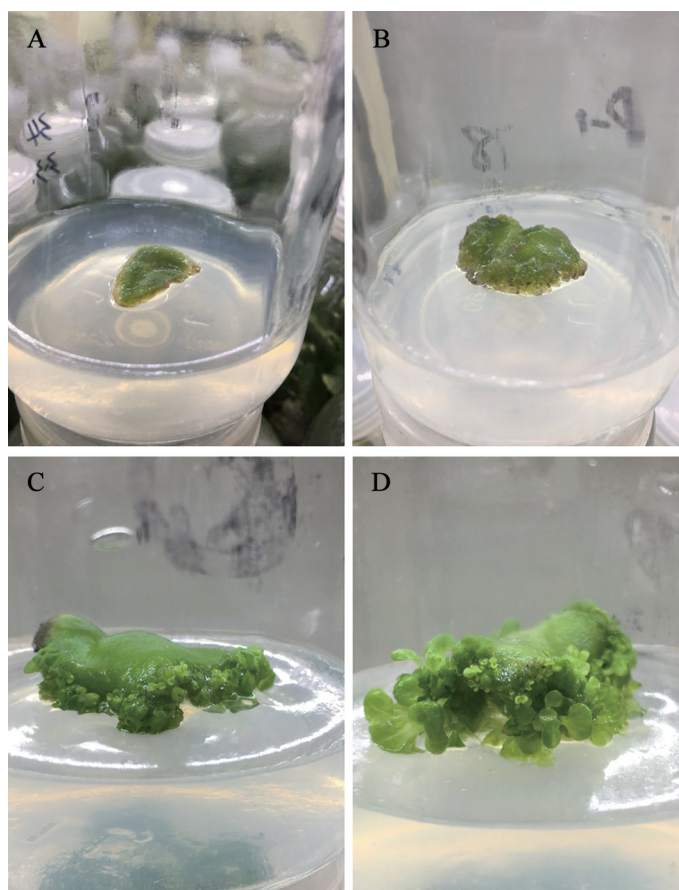


图2 永福报春苕苔叶片的初代诱导

Fig.2 Primary induction of *P. yungfuensis* leaves

培养基为MS+3.0 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA+0.25 mg·L<sup>-1</sup> NAA。A、B、C、D分别展示培养时间为5、10、20、30 d的外植体。

## 2 不定芽的增殖培养

由表2的数据可知,在MS培养基上附加不同浓度的玉米素(zeatin, ZT)和吲哚丁酸(3-indolebutyric acid, IBA),对不定芽增殖的影响不同。在0.1 mg·L<sup>-1</sup>的IBA浓度下,当ZT浓度由1.0 mg·L<sup>-1</sup>增加到2.0 mg·L<sup>-1</sup>时,不定芽增殖系数显著增加;当ZT浓度由2.0 mg·L<sup>-1</sup>增加到3.0 mg·L<sup>-1</sup>时,不定芽增殖系数虽然也在增加,但不显著。当IBA浓度大于0.1 mg·L<sup>-1</sup>时,随着ZT浓度的增加增殖系数呈增大的趋势,但不显著,其中IBA为0.25 mg·L<sup>-1</sup>时的不定芽健壮,而

IBA为0.50 mg·L<sup>-1</sup>时的不定芽出现玻璃化。在相同的ZT浓度下,当IBA浓度由0.10 mg·L<sup>-1</sup>增加到0.25 mg·L<sup>-1</sup>时,增殖系数显著性增加,此时,不定芽的生长健壮,仅有少数根系产生;当IBA浓度由0.25 mg·L<sup>-1</sup>增加到0.50 mg·L<sup>-1</sup>时,增殖系数的增加不显著,不定芽虽然健壮,但同时出现了生根较多、玻璃化的现象。因此,适宜永福报春苜苔不定芽增殖的培养基为MS+1.0~3.0 mg·L<sup>-1</sup> ZT+0.25 g·L<sup>-1</sup> IBA,该条件下不定芽健壮,无玻璃化,生根极少(图3)。

表2 不同培养基对永福报春苜苔不定芽增殖培养的影响

Table 2 Effects of different media on proliferation culture of *P. yungfuensis* adventitious buds

编号	培养基	ZT浓度/mg·L <sup>-1</sup>	IBA浓度/mg·L <sup>-1</sup>	增殖系数	生长情况
F <sub>1</sub>	MS	1	0.10	9.97±0.08 <sup>e</sup>	芽小,部分生根
F <sub>2</sub>	MS	2	0.10	11.37±0.86 <sup>d</sup>	芽小,部分生根
F <sub>3</sub>	MS	3	0.10	11.80±0.85 <sup>cd</sup>	芽小,少数生根
F <sub>4</sub>	MS	1	0.25	12.47±0.08 <sup>bc</sup>	芽健壮,少数生根
F <sub>5</sub>	MS	2	0.25	12.68±0.54 <sup>bc</sup>	芽健壮,少数生根
F <sub>6</sub>	MS	3	0.25	13.07±0.36 <sup>ab</sup>	芽健壮,少数生根
F <sub>7</sub>	MS	1	0.50	12.87±0.19 <sup>ab</sup>	芽健壮,生根较多,部分玻璃化
F <sub>8</sub>	MS	2	0.50	13.20±0.48 <sup>ab</sup>	芽健壮,生根较多,部分玻璃化
F <sub>9</sub>	MS	3	0.50	13.63±0.13 <sup>a</sup>	芽健壮,生根较多,部分玻璃化



图3 永福报春苜苔不定芽的增殖培养

Fig.3 Proliferation culture of *P. yungfuensis* adventitious buds

不定芽培养基为MS+3.0 mg·L<sup>-1</sup> ZT+0.25 mg·L<sup>-1</sup> IBA,增殖培养时间为30 d。

## 3 壮苗培养

由表3可知,MS培养基处理组获得的不定芽数之间无显著差异,1/2MS和1/4MS培养基处理组

获得的不定芽数之间无显著差异,且MS培养基处理组的不定芽数显著高于1/2MS、1/4MS培养基处理组的不定芽数,但该处理组的植株长势一般。在MS培养基处理组中,S<sub>1</sub>的生根率显著低于S<sub>3</sub>,玻璃化较多;在1/2MS培养基处理组中,植株长势好,其中S<sub>4</sub>的生根率显著低于S<sub>5</sub>、S<sub>6</sub>。植株存在极少的玻璃化,而S<sub>6</sub>的生根率高达100%,植株无玻璃化,生长好;在1/4MS培养基处理组中,S<sub>9</sub>的生根率显著高于S<sub>7</sub>,但该处理组的植株长势都比较差。由上可知,在MS培养基上进行壮苗培养,获得的不定芽数比在1/2MS、1/4MS上多;添加了IBA和活性炭的培养基更有利于植株的生根,有效减少了植株的玻璃化。其中,在培养基1/2MS+0.1 mg·L<sup>-1</sup> IBA+0.1 mg·L<sup>-1</sup>活性炭上,生根率最高,达100%,并且植株无玻璃化,长势好(图4)。因此,永福报春苜苔的适宜壮苗培养基为1/2MS+0.1 mg·L<sup>-1</sup> IBA+0.1 g·L<sup>-1</sup>活性炭。

## 4 生根培养

由表4可看出,各处理间的生根率无显著差异,

表3 不同培养基对永福报春苜苔壮苗培养的影响

Table 3 Effects of different media on strong seedling culture of *P. yungfuensis*

编号	培养基	IBA浓度/mg·L <sup>-1</sup>	活性炭浓度/g·L <sup>-1</sup>	不定芽数	生根率/%	玻璃化情况	长势
S <sub>1</sub>	MS	0	0	24.67±1.53 <sup>a</sup>	66.67±7.64 <sup>e</sup>	较多	一般
S <sub>2</sub>	MS	0.1	0	26.00±1.73 <sup>a</sup>	76.67±7.64 <sup>cde</sup>	较多	一般
S <sub>3</sub>	MS	0.1	0.1	23.67±2.02 <sup>a</sup>	81.67±2.89 <sup>cd</sup>	无	一般
S <sub>4</sub>	1/2MS	0	0	16.67±0.58 <sup>b</sup>	75.00±8.66 <sup>cde</sup>	极少	好
S <sub>5</sub>	1/2MS	0.1	0	17.00±1.73 <sup>b</sup>	95.00±0.00 <sup>ab</sup>	极少	好
S <sub>6</sub>	1/2MS	0.1	0.1	15.33±2.52 <sup>b</sup>	100.00±0.00 <sup>a</sup>	无	好
S <sub>7</sub>	1/4MS	0	0	14.67±2.31 <sup>b</sup>	71.67±2.89 <sup>de</sup>	极少	差
S <sub>8</sub>	1/4MS	0.1	0	16.00±2.65 <sup>b</sup>	83.33±2.89 <sup>bcd</sup>	极少	差
S <sub>9</sub>	1/4MS	0.1	0.1	15.00±2.65 <sup>b</sup>	85.00±13.23 <sup>bc</sup>	无	差



图4 永福报春苜苔组培芽的壮苗培养

Fig.4 Strong seedling culture of *P. yungfuensis* buds

组培芽培养基为1/2MS+0.1 mg·L<sup>-1</sup> IBA+0.1 mg·L<sup>-1</sup>活性炭, 壮苗培养时间为30 d。

均为100%, 但生根时间、根数及根长略有差异。在相同的活性炭含量下, 随着IBA浓度的增加, 生根时间逐渐减小, 方差分析表明差异不显著; 当

IBA为0.3 mg·L<sup>-1</sup>, 生根时间最短。根数的变化因活性炭含量的不同而不同, 当活性炭为0.1或0.5 g·L<sup>-1</sup>时, 随着IBA浓度的增加根数逐渐增加; 当IBA浓度为0.3 mg·L<sup>-1</sup>, 活性炭为0.5 g·L<sup>-1</sup>, 根数最多, 植株长势好; 当活性炭为1.0 g·L<sup>-1</sup>时, 随着IBA浓度的增加根数先减少后增加, 植株长势良; 方差分析表明, 根数的差异不显著。各处理间的根长因IBA、活性炭浓度不同而不同, 变化趋势无特定的规律性。综上可知, 适宜的生根培养基为1/2MS+0.3 mg·L<sup>-1</sup> IBA+0.5 g·L<sup>-1</sup>活性炭, 生根率为100%, 生根时间最短, 根数最多, 根长合适, 长势好(图5)。

### 5 移栽

移栽好的永福报春苜苔小苗置于有遮阳网的荫棚下, 保持空气湿度在85%以上; 早晚浇透水各一次, 保持基质湿润。15 d后, 统计成活率为100% (图6)。

## 讨 论

在本实验中, 叶片的初代诱导以6-BA结合

表4 不同培养基对永福报春苜苔生根培养的影响

Table 4 Effects of different media on rooting culture of *P. yungfuensis*

处理	培养基	IBA浓度/mg·L <sup>-1</sup>	活性炭浓度/g·L <sup>-1</sup>	生根率/%	生根时间/d	根数	根长/cm	长势
D <sub>1</sub>	1/2MS	0.1	0.1	100	27.00±1.00 <sup>a</sup>	5.57±0.58 <sup>c</sup>	3.23±0.28 <sup>cd</sup>	好
D <sub>2</sub>	1/2MS	0.2	0.1	100	25.33±0.58 <sup>abc</sup>	6.33±0.58 <sup>bc</sup>	2.43±0.31 <sup>e</sup>	好
D <sub>3</sub>	1/2MS	0.3	0.1	100	24.67±0.58 <sup>abcd</sup>	7.33±0.58 <sup>abc</sup>	2.93±0.06 <sup>d</sup>	好
D <sub>4</sub>	1/2MS	0.1	0.5	100	25.67±0.58 <sup>ab</sup>	7.33±0.58 <sup>abc</sup>	4.00±0.10 <sup>a</sup>	好
D <sub>5</sub>	1/2MS	0.2	0.5	100	23.00±0.00 <sup>bcd</sup>	8.00±1.00 <sup>ab</sup>	3.90±0.20 <sup>ab</sup>	好
D <sub>6</sub>	1/2MS	0.3	0.5	100	21.67±1.16 <sup>d</sup>	8.67±0.58 <sup>a</sup>	3.63±0.49 <sup>abc</sup>	好
D <sub>7</sub>	1/2MS	0.1	1.0	100	24.67±4.51 <sup>abcd</sup>	7.00±1.00 <sup>abc</sup>	3.43±0.23 <sup>bc</sup>	良
D <sub>8</sub>	1/2MS	0.2	1.0	100	22.00±1.73 <sup>cd</sup>	6.00±1.00 <sup>c</sup>	3.47±0.31 <sup>bc</sup>	良
D <sub>9</sub>	1/2MS	0.3	1.0	100	21.67±2.08 <sup>d</sup>	6.67±1.53 <sup>bc</sup>	4.03±0.06 <sup>a</sup>	良



图5 永福报春苣苔植株的生根培养

Fig.5 Rooting culture of *P. yungfuensis* plants

植株生根培养基为 $1/2MS+0.3\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ IBA}+0.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 活性炭, 培养时间为30 d。

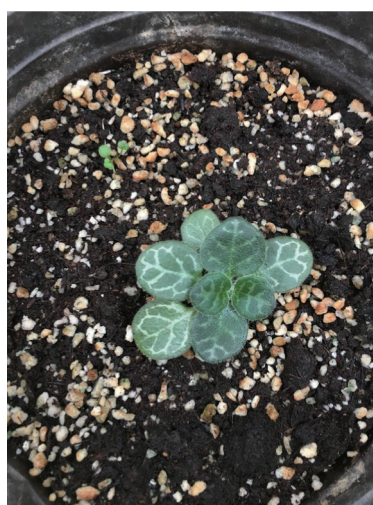


图6 移栽15 d后的永福报春苣苔植株

Fig.6 *P. yungfuensis* plant after transplantation for 15 d

移栽基质为腐殖土和粗沙(2:1, V/V)。

NAA, 可从叶片直接产生不定芽, 但并未获得愈伤组织, 这和阮慧泽等(2014)对半蒴苣苔组织培养的研究结果是相似的: 以不同浓度6-BA和NAA处理半蒴苣苔的叶片均未诱导出愈伤组织。而谭晓风等(2009)在 $MS+1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ 6-BA}+0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ NAA}$ 培养基上成功诱导出莫山报春苣苔的愈伤组织, 其在 $MS+0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ 6-BA}+0.3\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ NAA}$ 培养基上分化出丛生芽。李翠等(2010)在 $MS+1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ 6-BA}+0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ NAA}$ 培养基上成功诱导出菱叶报

春苣苔的愈伤组织, 并在此培养基上进行了分化增殖。由此推测, 未获得愈伤组织的原因可能与植物自身的基因型有关。此外, 植物生长调节剂的种类和浓度也可能是影响愈伤组织诱导的原因。张丕方等(1986)研究了NAA和6-BA对非洲紫罗兰(*Saintpaulia ionantha*)愈伤组织生长的调节作用, 发现单独加NAA或6-BA对愈伤组织都有促进作用, 但高浓度6-BA或NAA对愈伤组织生长都有较强的抑制作用, 这种作用可因6-BA和NAA的相互作用而解除。因此从叶片诱导不定芽或愈伤组织, 不仅取决于植物自身的基因型, 植物的生长调节剂种类和浓度也是影响因素之一。本实验以叶片为外植体并直接诱导不定芽, 有利于保持永福报春苣苔的优良特性, 而从愈伤组织诱导途径获得植株个体, 存在变异, 不利于母本的特性保留。

壮苗培养中, 不添加植物生长调节剂的培养基同时获得了新的不定芽和生根植株, 原因可能是由于上一代培养的高植物生长调节剂浓度导致的, 但也不排除是植物自身的特性造成的, 因为苦苣苔科植物的再生能力极强。在壮苗培养以及生根培养中, 均获得了生根植株。壮苗培养基 $1/2MS+0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ IBA}+0.1\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 活性炭的生根率为100%, 生根培养基 $1/2MS+0.3\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\text{ IBA}+0.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 活性炭的生根率为100%。由此可见, 虽然两种培养基中IBA以及活性炭的含量不同, 但生根率是相同的。因此, 在规模化生产中, 壮苗培养和生根培养可以合二为一, 一方面缩短了时间, 简化了组培的程序, 另一方面也降低了成本。但从离体培养的完整性考虑, 壮苗与生根是两个独立的技术阶段, 植株经过壮苗培养后再生根, 会使植株更健壮, 有利于后期的移栽成活。

#### 参考文献

- Ai C (2013). Research on commercialized production technology of 4 potted *Primulina* (Master's thesis). Beijing: Beijing Forestry University (in Chinese with English abstract) [艾春晓(2013). 4种报春苣苔属植物的盆花商品化生产技术研究(硕士论文). 北京: 北京林业大学]
- Ai CX, Luo L, Zhang QX, Chen TR, Pan HT, Wang YH, Wang YN (2016). Leaf cutting propagation of four *Primulina* species. *Guangdong Agric Sci*, (6): 43-46 (in Chinese with English abstract) [艾春晓, 罗乐, 张启翔, 程堂仁, 潘会堂, 王蕴红, 王颖楠(2016). 4种报春苣苔属植物叶插繁殖技术研究. *广东农业科学*, (6): 43-46]

- Fu C, Xian K, He J, Tang F, Shi Y, Huang N (2015). Rapid propagation of *Chirita ophiopogoides* *in vitro*. *Agric Sci Technol*, 16 (12): 2677–2681
- Hou N, Tian X, Lou L, Wang G, Li C, Yang C (2015). Efficient adventitious bud induction and plant regeneration from leaves of *Chirita liboensis*. *China For Sci Technol*, 29 (4): 67–70 (in Chinese with English abstract) [侯娜, 田晓瑞, 娄丽, 王港, 李从瑞, 杨成华(2015). 荔波唇柱苣苔离体叶片不定芽的诱导及植株再生. *林业科技开发*, 29 (4): 67–70]
- Li C, Lü HZ, Ling ZZ, Yao SC, Huang XY, Zhang ZJ (2010). Tissue culture and rapid propagation of *Chirita subrhomboidea* W. T. Wang. *Plant Physiol Commun*, 46 (10): 1073–1074 (in Chinese) [李翠, 吕惠珍, 凌征柱, 姚绍嫦, 黄雪彦, 张占江(2010). 菱叶唇柱苣苔的组织培养和快速繁殖. *植物生理学通讯*, 46 (10): 1073–1074]
- Pan M, Qi HS, Huang S, Wang J, Fu RK, Yun R (2014). Research on differentiation and plant from *in vitro* leaf tissues of *Chirita heterotricha* Merr. *O. North Horticult*, (23): 83–86 (in Chinese with English abstract) [潘梅, 戚华莎, 黄赛, 王景飞, 符瑞侃, 云勇(2014). 烟叶唇柱苣苔叶片分化与植株再生研究. *北方园艺*, (23): 83–86]
- Ruan H, Li Z, Ren Y, Wu X, Shao Y, Pan F, Xia G (2014). Plantlet regeneration of *Hemiboea subcapitata* with subculturing. *J Zhejiang A&F Univ*, 31 (1): 162–166 (in Chinese with English abstract) [阮慧泽, 李珍, 任燕燕, 鄢泉楠, 邵于豪, 潘飞翔, 夏国华(2014). 半蒴苣苔的叶片组织培养及植株再生. *浙江农林大学学报*, 31 (1): 162–166]
- Tan XF, Deng JJ, Hu XY, Wu Yun TN, Bao MR (2009). Tissue culture and plant regeneration in *Chirita langshanica*. *Nonwood For Res*, 27 (3): 24–27 (in Chinese with English abstract) [谭晓凤, 邓建军, 胡晓义, 乌云塔娜, 包梅荣(2009). 莫山唇柱苣苔组织培养与植株再生. *经济林研究*, 27 (3): 24–27]
- Wei YG (2010). *Gesneriaceae of South China*. Nanning: Guangxi Science and Technology Publishing House, 388 [韦毅刚(2010). 华南苦苣苔科植物. 南宁: 广西科学技术出版社, 388]
- Wen T, Lou L, Hou N, Li CR, Wang LH (2016). *In vitro* culture and rapid propagation of *Chirita brachytricha* var. *magnibracteata* W. T. Wang et D. Y. Chen. *Nat Prod Res Dev*, 28: 350–353 (in Chinese with English abstract) [文弢, 娄丽, 侯娜, 李从瑞, 王莲辉(2016). 大苞短毛唇柱苣苔离体培养和快速繁殖. *天然产物研究与开发*, 28: 350–353]
- Zhang PF, Ni DX, Wang Q, Wang KJ (1986). Hormonal control of somatic embryogenesis and callus growth of *Saintpaulia ionantha* *in vitro*. *Acta Bot Sin*, 28 (4): 446–449 (in Chinese) [张丕芳, 倪德祥, 王琦, 王凯基(1986). 植物激素对非洲紫罗兰胚状体发生和愈伤组织生长的调节. *植物学报*, 28 (4): 446–449]
- Zhang ZJ, Li C, Lü HZ, Wei Y, Wei KH, Li LX (2013). Study on tissue culture of *Chirita ophiopogoides* D Fang et W T Wang. *Seed*, 32 (9): 19–22 (in Chinese with English abstract) [张占江, 李翠, 吕惠珍, 韦莹, 韦坤华, 李林轩(2013). 条叶唇柱苣苔组织培养研究. *种子*, 32 (9): 19–22]

## Establishment of *in vitro* rapid propagation system of *Primulina yungfuensis*

YAN Hai-Xia, DENG Jie-Ling, HE Jing-Zhou, HUANG Chang-Yan, CUI Xue-Qiang, BU Zhao-Yang\*  
*Flower Research Institute, Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning 530007, China*

**Abstract:** The leaves of *Primulina yungfuensis* were used as explants. Medium compounding proportion of different plant growth regulators were studied on adventitious bud induction, proliferation, strong seedling, and root regeneration. Thereafter the most suitable medium for rapid propagation *in vitro* was selected, and the rapid propagation *in vitro* system was established. The results show that: on MS medium containing  $3.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  6-benzylaminopurine (6-BA) and  $0.25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  1-naphthylacetic acid (NAA), leaves could be optimally induced to adventitious buds; on MS medium containing  $1.0\text{--}3.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  zeatin (ZT) and  $0.25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  3-indolebutyric acid (IBA), adventitious buds could be optimally proliferated; on 1/2MS medium containing  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  IBA and  $0.1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  activated carbon, adventitious buds could become optimally strong seedling; well-grown adventitious buds were inoculated on 1/2MS medium containing  $0.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  IBA and  $0.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  activated carbon, and 100% rooting rate was obtained. Using transplanting medium with humus soil and coarse sediment (2:1, V/V), the transplanting survival rate was 100%.

**Key words:** Gesneriaceae; *Primulina yungfuensis*; *in vitro* rapid propagation

Received 2017-07-10 Accepted 2017-09-26

This work was supported by the Guangxi Science and Technology Construction Planning (Grant No. 1598006-5-8), and Basic Research Fund of Guangxi Academy of Agricultural Sciences (Grant Nos. 2015YT89 and 2017YZ05).

\*Corresponding author (E-mail: yangnv@126.com).