

4 个品种芍药愈伤组织的诱导及分化

于晓南^{1,2}, 吴红娟¹, 潘瞳¹

(1.北京林业大学 园林学院, 北京 100083; 2.国家花卉工程技术中心, 北京 100083)

摘 要: 以 4 个芍药品种大富贵、桃花飞雪、Karl Rosenfield、Sarah Bernhardt 的嫩茎、叶柄、叶片为试材, 对影响芍药愈伤组织诱导及分化的主要因素进行研究。结果表明, 4 个芍药愈伤组织诱导最佳品种为大富贵和 Karl Rosenfield, 其茎段愈伤诱导效果好于叶柄; 最有利于愈伤诱导的培养基为 WPM+ 2.0 mg/L 6-BA +0.2 mg/L NAA +0.2 mg/L 2,4-D, 抽茎期取材好于展叶期; 大富贵愈伤组织增殖的最佳培养基为 1.0 mg/L NAA +2.0 mg/L 6-BA +0.1 mg/L TDZ, Karl Rosenfield 的为 1.0 mg/L NAA +0.5 mg/L 6-BA +0.1 mg/L TDZ; 采用不同处理组合均未能诱导出不定芽, 仅有一些白色芽点出现; 不定根诱导采用 WPM+0.5 mg/L IBA, 生根率为 50.00%。

关 键 词: 芍药; 愈伤组织; 茎段; 不定芽; 不定根

中图分类号: S682.1⁺² 文献标志码: A 文章编号: 1007-1032(2011)02-0166-06

Callus induction and differentiation of four peony cultivars

YU Xiao-nan^{1,2}, WU Hong-juan¹, PAN Tong¹

(1.College of Landscape Architechure, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China; 2.National Engineering Research Center for Floriculture, Beijing 100083, China)

Abstract: Stems, petioles and leaves of four peony cultivars called Dafugui, Taohuafeixue, Karl Rosenfield and Sarah Bernhardt were selected to study major factors affecting the induction and regeneration of peony callus. The best peony cultivars was Dafugui and Karl Rosenfield in callus induction. Stem had an better effect than petiole. The best medium for callus induction was WPM+2.0 mg/L 6-BA +0.2 mg/L NAA +0.2 mg/L 2,4-D. It was better to sample explants in stooling stage than in leaf-expansion period. The optimum medium for callus proliferation were 1.0 mg/L NAA +2.0 mg/L 6-BA +0.1 mg/L TDZ for Dafugui and 1.0 mg/L NAA +0.5 mg/L 6-BA +0.1 mg/L TDZ for Karl Rosenfield. It was hard to induce adventitious bud, only some white bud points can be seen. The optimum medium for adventitious root induction was WPM+0.5 mg/L IBA, and the rooting rate was 50.00%.

Key words: *Paeonia lactiflora* Pall.; stem; callus induction; adventitious bud; adventitious roots

芍药(*Paeonia lactiflora* Pall.)为芍药科芍药属多年生宿根草本植物, 是中国的传统名花, 有悠久的栽培历史, 自古以来深受人们喜爱, 被誉为“花相”^[1]。虽经几千年的人工栽培选育, 但目前芍药仍以分株为主, 3~5 年分 1 次, 周期长, 繁殖系数低, 不能满足

市场需求。采用组织培养技术对其进行繁殖, 可扩大其繁殖系数, 加快繁殖速度。近年来, 芍药组织培养技术研究虽有进展, 但仍显薄弱, 如芍药腋芽诱导均以茎尖、休眠芽或带芽茎段为培养材料^[2-8]; 通过地下芽诱导丛生芽的途径对芍药进行组织培养, 材料来

收稿日期: 2010-11-12

基金项目: 国家“十二·五”科技支撑项目(20113AD12B02); 中央高校基本科研业务费专项(BLYX200931)

作者简介: 于晓南(1974—), 女, 山东文登人, 博士, 副教授, 主要从事园林植物研究, yuxiaonan626@126.com

源有限,母株生长不良,且地下芽污染率、玻璃化率较高,生根率低,移栽难成活,难以建立无菌培养体系等。通过愈伤组织再分化的途径对芍药进行组织培养,需要的外植体材料少,较易建立无菌培养体系,能为分子生物学和遗传学研究提供材料。由于外植体要经历脱分化和再分化的过程,对培养基和培养条件的要求较高,国内不少学者对不同品种芍药进行愈伤组织培养,探索出了适宜的外植体和培养基,但在诱导愈伤组织器官分化方面,均未诱导出不定芽^[3-5];王吉凤^[5]仅从胚轴愈伤组织上诱导出再生植株,但长势较弱,因此,笔者对芍药愈伤组织再分化产生新植株的途径进行研究,现将结果报道如下。

1 材料与方 法

1.1 材 料

4个品种芍药均取自北京林业大学鹫峰牡丹芍药基地。芍药大富贵、桃花飞雪的外植体均采自株龄3~5年、生长旺盛、无病虫害的植株;芍药 Karl Rosenfield、Sarah Bernhardt 的外植体均为2007年从荷兰引至北京驯化培养后表现良好的植株。采用的外植体为茎段和叶柄,大富贵的取材时间为2009年3月27日(抽茎期)、4月21日(展叶期);桃花飞雪的取材时间为2009年3月27日(抽茎期);Karl Rosenfield、Sarah Bernhardt 的取材时间均为2009年4月21日。

1.2 方 法

1.2.1 外植体处理

将外植体先用洗洁精稀释液浸泡漂洗,在自来水下冲洗30 min。在超净工作台上用75%酒精消毒30 s,再用1%NaClO浸泡10~15 min,无菌水冲洗3~5次。接种时,将茎段、叶柄横切成0.1~0.3 cm的薄片,放到培养基表面。每个培养皿中接种10~15个外植体,每个处理5次重复。

1.2.2 愈伤组织诱导

将4个品种芍药的茎段和叶柄分别接种于培养基 A1~A4(A1: 1/2MS+2.0 mg/L 6-BA +0.2 mg/L

NAA+0.2 mg/L 2,4-D ;A2 :1/2 MS+2.0 mg/L 6-BA +0.2 mg/L NAA ;A3 :WPM+2.0 mg/L 6-BA +0.2 mg/L NAA +0.2 mg/L 2,4-D ;A4 : WPM+2.0 mg/L 6-BA +0.2 mg/L NAA)。以抽茎期和展叶期取材的大富贵的茎段和叶柄为研究对象,在上述4个愈伤诱导培养基上培养。外植体接种后,将培养皿一部分进行暗培养,一部分在光下培养。观察愈伤组织生长情况。

1.2.3 愈伤组织增殖

以大富贵和 Karl Rosenfield 为研究对象,采用3水平4因素设计正交试验。以WPM为基本培养基,采用的激素及其质量浓度:NAA分别为0.2、0.5、1.0 mg/L,6-BA分别为0.5、1.0、2.0 mg/L,TDZ分别为0.02、0.1、0.2 mg/L,培养基编号为B1~B9。增殖倍数=接种后的愈伤组织质量/接种前的愈伤组织质量。愈伤组织质量的测定采用李俊明(2007)胡萝卜愈伤组织鲜重测定的方法。

1.2.4 不定芽分化

将增殖培养后的愈伤组织切割成0.5 cm见方的小块,置于诱导分化培养基上培养,观察愈伤组织生长和不定芽诱导状况。试验采用3水平4因素正交设计。以WPM为基本培养基,采用的激素及其质量浓度:6-BA分别为1.0、1.5、2.0 mg/L,TDZ分别为0.05、0.10、0.20 mg/L,NAA分别为0.0、0.1、0.2 mg/L,培养基编号为C1~C9。

根据愈伤组织在增殖阶段和诱导不定芽阶段的生长情况,调整诱导不定芽的培养基配方。C10: WPM+1.0 mg/L NAA +0.5 mg/L 6-BA +0.2 mg/L TDZ +0.1 g/L CH ;C11 :WPM+1.0 mg/L NAA+0.5 mg/L 6-BA+0.2 mg/L TDZ +0.2 g/L CH。

1.2.5 不定根分化

选择生长旺盛、饱满的 Karl Rosenfield 愈伤组织进行生根培养,分别采用激素组合 D1~D5 (D1: WPM ;D2 :WPM+0.5 mg/L IBA ;D3 :WPM+1.0 mg/L IBA ;D4 :WPM+2.0 mg/L IBA ;D5 :WPM+1.0 mg/L NAA)。

1.3 培养条件

试验中如无特别说明,培养基中均添加蔗糖 30 g/L,琼脂 6 g/L,pH 值为 5.4~5.8,1/2 MS 培养基中 Ca^{2+} 浓度加倍。培养温度为 23~25 °C,光照 12 h/d,光照度 2 000~2 500 lx。

2 结果与分析

2.1 不同品种、外植体、培养基对愈伤组织诱导的影响

由表 1 可见,4 个品种中,茎段愈伤诱导率较高的品种是大富贵和 Karl Rosenfield,其次为 Sarah Bernhardt,最低的是桃花飞雪;叶柄愈伤诱导率最高的品种是大富贵,其次为 Karl Rosenfield,最低的是 Sarah Bernhardt。茎段与叶柄相比较,在 4 种培养基上,4 个品种均表现为茎段愈伤诱导效果优于叶柄(封三图 1-a、1-b)。茎段产生愈伤组织的时间短,并且愈伤量较大,横截面布满了愈伤组织;叶柄横截面较小,产生愈伤组织的量较少,但茎段接种的褐化程度比叶柄深。4 个品种中,除了桃花飞雪的茎段在 A1 培养基诱导率较高之外,其他品种诱导率都在 A3 或 A4 培养基上的表现最佳,因此,WPM 比 1/2MS 更适合作为愈伤组织诱导的基本培养基。在基本培养基相同的条件下,添加了 2,4-D 的培养基诱导效果好于只添加 6-BA 和 NAA 的培养基。综合分析认为,芍药愈伤组织诱导的最佳品种为大富贵和 Karl Rosenfield;最佳外植体是茎段;最有利于愈伤诱导的培养基为 WPM+2.0 mg/L 6-BA+0.2 mg/L NAA+0.2 mg/L 2,4-D。

表 1 供试材料在各培养基的愈伤组织诱导率

Table 1 Effects of different cultivars, explants and medium on callus induction

| 品 种 | 外植体 | 诱导率/% | | | |
|-----------------|-----|-------|-------|--------|-------|
| | | A1 | A2 | A3 | A4 |
| 大富贵 | 茎段 | 88.46 | 97.50 | 100 | 100 |
| | 叶柄 | 82.89 | 60.76 | 94.74 | 88.12 |
| 桃花飞雪 | 茎段 | 92.21 | 72.00 | 86.67 | 89.74 |
| | 叶柄 | 83.12 | 49.33 | 81.33 | 85.90 |
| Karl Rosenfield | 茎段 | 98.33 | 95.95 | 100.00 | 98.33 |
| | 叶柄 | 53.33 | 59.59 | 86.67 | 61.67 |
| Sarah Bernhardt | 茎段 | 82.26 | 88.38 | 85.14 | 98.33 |
| | 叶柄 | 79.55 | 63.65 | 80.42 | 67.39 |

2.1.1 取材时间对大富贵愈伤组织诱导的影响

就大富贵而言,抽茎期(封三图 1-c)取材的茎段和叶柄,在 4 种诱导培养基上的愈伤组织诱导率明显高于展叶期(封三图 1-d)。在展叶期取材的茎段,愈伤组织诱导率最高为 54.10%,但相比抽茎期取材的诱导率有明显下降。在展叶期取材的叶柄,愈伤组织诱导率很低,除在培养基 A3 上达到 30.00%以上外,在其他培养基上均小于 10.00%。在愈伤组织诱导过程中,褐化现象非常严重,以至造成部分外植体死亡。这也是造成愈伤组织诱导率低的原因之一。展叶期大富贵叶柄已不适宜作为外植体,外植体最佳取材时间是抽茎期。

2.1.2 不同培养条件对愈伤组织诱导的影响

由封三图 1-e 可见,暗培养条件下,外植体上产生的愈伤组织呈黄白色,结构松散,培养基上由褐化引起的黑晕颜色较浅;光培养条件下,外植体上产生的愈伤组织呈浅绿至深绿色,结构紧密,培养基上由褐化引起的黑晕颜色较深,部分外植体变黑死亡,因此,暗培养不仅有利于愈伤组织诱导,还能减轻褐化。笔者建议外植体接种后先暗培养一段时间。

2.2 愈伤组织增殖

2.2.1 大富贵愈伤组织增殖

由表 2 可见,不同处理组合对大富贵增殖倍数的影响差异显著,B9 培养基的增殖倍数最高,为 4.62,与 B1 培养基差异显著。由极差分析可以得出,TDZ 极差最大(0.62),其次为 NAA,极差最小的为 6-BA,说明在 3 种植物生长调节剂都存在的情况下,TDZ 对增殖倍数的影响最大,NAA 的影响次之,6-BA 影响最小。从平均值上看,NAA 质量浓度为 1.0 mg/L,6-BA 质量浓度为 2.0 mg/L,TDZ 质量浓度为 0.1 mg/L 时愈伤组织的增殖倍数最高,增殖效果最好,因此,当愈伤组织增殖培养过程中使用生长调节剂 NAA、6-BA、TDZ 时,1.0 mg/L NAA + 2.0 mg/L 6-BA + 0.1 mg/L TDZ 是大富贵愈伤组织增殖培养的最佳激素组合。

表 2 大富贵在不同激素组合下的增殖倍数

Table 2 Multiplication of Dafugui under different treatments

| 培养基 编号 | 植物生长调节剂质量浓度/(mg·L ⁻¹) | | | 增殖倍数 |
|------------------------------------|-----------------------------------|--------|---------|--------|
| | NAA | 6-BA | TDZ | |
| B1 | 1(0.2) | 1(0.5) | 1(0.02) | 3.22a |
| B2 | 1 | 2(1.0) | 2(0.1) | 4.06ab |
| B3 | 1 | 3(2.0) | 3(0.2) | 3.97ab |
| B4 | 2(0.5) | 1 | 2 | 4.12ab |
| B5 | 2 | 2 | 3 | 4.02ab |
| B6 | 2 | 3 | 1 | 3.72ab |
| B7 | 3(1.0) | 1 | 3 | 4.04ab |
| B8 | 3 | 2 | 1 | 4.01ab |
| B9 | 3 | 3 | 2 | 4.62b |
| K ₁ | 11.25 | 11.38 | 10.95 | |
| K ₂ | 11.86 | 12.09 | 12.80 | |
| K ₃ | 12.67 | 12.31 | 12.03 | |
| x ₁ (K ₁ /3) | 3.75 | 3.79 | 3.65 | |
| x ₂ (K ₂ /3) | 3.95 | 4.03 | 4.27 | |
| x ₃ (K ₃ /3) | 4.22 | 4.10 | 4.01 | |
| R | 0.47 | 0.31 | 0.62 | |

表 3 Karl Rosenfield 在不同激素组合下的增殖倍数

Table 3 Multiplication of Karl Rosenfield under different treatments

| 培养基 编号 | 植物生长调节剂质量浓度/(mg·L ⁻¹) | | | 增殖倍数 |
|------------------------------------|-----------------------------------|--------|---------|--------|
| | NAA | 6-BA | TDZ | |
| B1 | 1(0.2) | 1(0.5) | 1(0.02) | 4.33a |
| B2 | 1 | 2(1.0) | 2(0.1) | 6.42ab |
| B3 | 1 | 3(2.0) | 3(0.2) | 5.49ab |
| B4 | 2(0.5) | 1 | 2 | 6.23ab |
| B5 | 2 | 2 | 3 | 5.24ab |
| B6 | 2 | 3 | 1 | 5.83ab |
| B7 | 3(1.0) | 1 | 3 | 7.66b |
| B8 | 3 | 2 | 1 | 4.36a |
| B9 | 3 | 3 | 2 | 5.81ab |
| K ₁ | 16.24 | 18.22 | 14.52 | |
| K ₂ | 17.30 | 16.02 | 18.46 | |
| K ₃ | 17.83 | 17.13 | 18.39 | |
| x ₁ (K ₁ /3) | 5.41 | 6.07 | 4.84 | |
| x ₂ (K ₂ /3) | 5.77 | 5.34 | 6.15 | |
| x ₃ (K ₃ /3) | 5.94 | 5.71 | 6.13 | |
| R | 0.53 | 0.73 | 1.31 | |

2.2.2 Karl Rosenfield 愈伤组织增殖

由表 3 可见,不同处理组合对 Karl Rosenfield 增殖倍数的影响差异显著, B7 培养基增殖倍数最高,为 7.66,与 B1、B8 培养基差异显著。由极差分析可以得出, TDZ 极差最大(1.31),其次为 6-BA,最小的为 NAA,说明在 3 种植物生长调节剂都存在的情况下, TDZ 对增殖倍数的影响最大, 6-BA 的影响次之, NAA 影响最小。从平均值上看, NAA 质量浓度为 1.0 mg/L, 6-BA 质量浓度为 0.5 mg/L, TDZ 质量浓度为 0.1 mg/L 时,愈伤组织的增殖倍数最高,增殖效果最好,因此,当愈伤组织增殖培养过程中使用生长调节剂 NAA、6-BA、TDZ 时, 1.0 mg/L NAA + 0.5 mg/L 6-BA + 0.1 mg/L TDZ 是 Karl Rosenfield 愈伤组织增殖培养的最佳激素组合。

2.3 不定根的分化

愈伤组织诱导不定芽分化困难,可尝试通过先诱导不定根,再诱导不定芽的途径诱导器官分化,进而得到组培苗。选用暗培养条件下进行增殖培养后形态较紧密的 Karl Rosenfield 芍药的愈伤组织进行不定根诱导。由表 4 可见,培养基 D2 诱导生根率最高,为 69.23%,且平均生根数最多,平均每个愈伤组织生根 2.3 条(封三图 1-g),因此,以 WPM 为基本培养基,当 IBA 质量浓度为 0.5 mg/L 时,对 Karl Rosenfield 愈伤组织诱导生根的效果最好。将诱导出不定根的愈伤组织转入诱导不定芽的培养基中培养,随着培养时间的增加,不定根变黑褐色,干枯死亡,愈伤组织不增殖。由表 5 可见,不同品种芍药愈伤组织的生长和增殖情况不同,大部分愈

表 4 不同培养基对 Karl Rosenfield 愈伤组织诱导生根的影响

Table 4 Effect of media on rooting of callus of Karl Rosenfield

| 培养基编号 | 接种数/个 | 生根率/% | 平均生根数/条 | 愈伤组织 | 生根情况 |
|-------|-------|-------|---------|-----------|---------------|
| D1 | 40 | 47.50 | 1.2 | 呈黄白色,稍有增大 | 根白色,短粗,有白色绒毛 |
| D2 | 40 | 69.23 | 2.3 | 呈黄白色,增大 | 根长且粗,白色,有根毛 |
| D3 | 40 | 7.69 | 1.0 | 呈黄白色,稍有增大 | 根细长,白色透明状,有根毛 |
| D4 | 40 | 30.77 | 1.1 | 呈黄褐色,稍增大 | 根细长,白色透明状,有根毛 |
| D5 | 40 | 31.71 | 1.2 | 呈白色,增大 | 根短粗,白色透明状 |

表5 不同培养基对愈伤组织诱导不定芽的影响

Table 5 Effect of media on induction of adventitious buds for callus

| 品种 | 培养基编号 | 愈伤组织生长情况 | 愈伤组织增殖情况 |
|-----------------|-------|------------|----------|
| 大富贵 | C1 | 浅绿色, 松散 | +++ |
| | C2 | 浅绿色, 紧密 | N |
| | C3 | 浅绿色, 松散 | ++ |
| | C4 | 浅绿色变褐色, 紧密 | N |
| | C5 | 灰绿色变褐色, 紧密 | N |
| | C6 | 浅绿色, 松散, | +++ |
| | C7 | 浅绿色, 松散 | +++ |
| | C8 | 浅绿色, 松散 | +++ |
| | C9 | 灰绿色, 紧密 | N |
| 桃花飞雪 | C1 | 浅绿色, 紧密 | + |
| | C2 | 浅绿色, 紧密 | + |
| | C3 | 浅绿色, 紧密 | +++ |
| | C4 | 浅绿色, 紧密 | +++ |
| | C5 | 浅绿色, 紧密 | + |
| | C6 | 浅绿色, 紧密 | +++ |
| | C7 | 浅绿色, 紧密 | +++ |
| | C8 | 浅绿色, 紧密 | +++ |
| | C9 | 浅绿色, 紧密 | +++ |
| Karl Rosenfield | C1 | 浅绿色, 紧密 | + |
| | C2 | 浅绿色, 紧密 | +++ |
| | C3 | 浅绿色变褐色 | N |
| | C4 | 浅绿色, 紧密 | + |
| | C5 | 浅绿色, 紧密 | +++ |
| | C6 | 浅绿色变褐色 | N |
| | C7 | 浅绿色变褐色 | N |
| | C8 | 灰绿色, 紧密 | + |
| | C9 | 浅绿色, 紧密 | + |
| Sarah Bernhardt | C1 | 灰绿色, 紧密 | + |
| | C2 | 灰绿色, 紧密 | +++ |
| | C3 | 灰绿色, 紧密 | + |
| | C4 | 灰绿色, 紧密 | + |
| | C5 | 灰绿色, 紧密 | +++ |
| | C6 | 浅绿色, 紧密 | N |
| | C7 | 浅绿色, 紧密 | + |
| | C8 | 灰绿色, 紧密 | + |
| | C9 | 浅绿色, 紧密 | + |

“N”示30 d内愈伤组织没有出现增殖; “+”示30 d内愈伤组织体积略有增大, 生长速率慢; “++”示30 d内愈伤组织体积比原体积增长了1/3~1/2, 生长速率较快; “+++”示30 d内愈伤组织体积比原体积增长了1/2以上, 生长速率快。

伤组织都有增殖, 颜色由暗培养时的黄白色转为浅绿色, 但未见不定芽分化。在愈伤组织增殖阶段, 培养基C7诱导大富贵、Karl Rosenfield的愈伤组织产生少量不定芽(封三图1-h)。

2.4 不定芽的分化

根据培养基C7植物生长调节剂的配比稍加调整, 在培养基C10、C11上诱导不定芽, 培养30 d后, 发现绿色愈伤组织上出现白色疏松的芽点(封三图1-f)。由表6可见, 随着培养时间的延长, 白色的芽点变褐色, 愈伤组织也逐渐污染或褐化死亡, 没有继续分化, 说明适量的水解酪蛋白能促进愈伤组织的分化, 质量浓度为0.1 g/L和0.2 g/L时对分化率的影响差别不大, 但未见不定芽的产生。愈伤组织生长情况转为绿色, 紧密, 部分增殖, 表面有多个白色生长点。

表6 不同诱导培养基对愈伤组织诱导不定芽的影响

Table 6 Effect of media on induction of adventitious buds for callus

| 培养基编号 | 愈伤组织数/个 | 分化愈伤组织数/个 | 诱导率/% |
|-------|---------|-----------|-------|
| C10 | 127 | 46 | 36.22 |
| C11 | 182 | 64 | 35.16 |

3 结论与讨论

不同品种芍药外植体愈伤组织诱导率均有差异, 且最适宜的诱导培养基不同。在适宜的诱导培养基上, 大富贵和Karl Rosenfield的茎段愈伤组织诱导率可达100%。在暗培养条件下, 诱导出的愈伤组织呈黄白色, 结构疏松, 外植体褐化程度较轻。茎段是诱导愈伤组织最适宜的外植体。WPM大量元素浓度低, 适宜木本植物的组织培养, 作为芍药组织培养的基本培养基, 对芍药愈伤组织诱导的效果优于1/2MS。有学者认为, 外植体的阶段发育年龄越低, 组织越幼嫩, 活性组织和细胞越多, 内源激素的水平较高, 越易脱分化, 愈伤组织形成和分化的能力越强^[9]。这一结论与本研究结果相似, 于芍药春季抽茎期取材好于展叶期, 此时取得的外植体比较幼嫩且量充足, 愈伤组织诱导效果更好, 基本不影响母株的正常生长。

在愈伤组织增殖阶段, 曾个别出现过愈伤组织

分化出不定根和不定芽的现象,但结构不明显,且转接之后不再生长。在增殖培养基上增加细胞分裂素的含量无法诱导不定芽的产生,而增加一定浓度的水解酪蛋白时,愈伤组织上有白色生长点出现,继续培养时,没有不定芽产生,因此,只增加细胞分裂素的含量不能诱导芍药愈伤组织不定芽的产生,诱导不定芽分化的其他因素还需进一步研究。降低生长素与细胞分裂素的比例可促进不定芽分化,提高比例可促进不定根分化^[10]。在基本培养基中,单独添加一定浓度的NAA和IBA都能诱导愈伤组织产生不定根。将生根的愈伤组织继续进行不定芽诱导时,不定根变黑死亡,愈伤组织不出现增殖。

由愈伤组织诱导器官发生,从而产生芍药完整植株的途径还未成功,不仅需要探索植物生长调节剂的影响,而且需要从培养条件、培养基添加剂、继代次数等各方面进行试验探索。对于诱导出的愈伤组织,可通过液体振荡培养诱导体细胞胚的途径进一步诱导愈伤组织分化。

参考文献

- [1] 秦魁杰.芍药[M].北京:中国林业出版社,2004.
- [2] Takashi Hosoki, Michiko Ando, Takehito Kubara. *In vitro* propagation of herbaceous peony (*Paeonia lactiflora* Pall.) by a longitudinal shoot-split method[J]. *Plant Cell Reports*, 1989(8): 243-246.
- [3] 郭风云.芍药组织培养技术的研究[D].北京:北京林业大学,2001.
- [4] 张庆瑞,杨秋生,李永华.不同植物生长调节物质对芍药离体培养的影响[J].河南农业大学学报,2007,41(1): 25-28.
- [5] 王吉凤.芍药组织培养研究[D].北京:北京林业大学,2009.
- [6] 赵蓉,于晓南.芍药品种桃花飞雪愈伤组织以及芽的初步诱导[J].中国观赏园艺研究进展,2008(3): 275-278.
- [7] Daike Tian, Ken M Tilt, Fenny Dane, et al. Comparison of shoot induction ability of different explants in herbaceous peony (*Paeonia lactiflora* Pall.)[J]. *Scientia Horticulture*, 2010, 123: 385-389.
- [8] 胡映泉,冯海华,时宝凌.芍药不定芽的诱导技术[J].山西林业科技,2003(S1): 23-33.
- [9] 杨增海.园艺植物组织培养[M].北京:农业出版社,1987.
- [10] 潘瑞炽.植物组织培养[M].广州:广东高等教育出版社,2000.

责任编辑:王赛群
英文编辑:罗文翠