

大岩桐组织培养研究进展

徐全乐

(西北农林科技大学 生命科技学院, 陕西 杨凌 712100)

摘 要:从大岩桐的再生途径、再生过程、培养基配方以及再生过程中出现的褐变、休眠、体细胞突变等对大岩桐组织培养的研究现状进行了回顾,并探讨了存在的主要问题及发展趋势,以期为今后的深入研究提供参考。

关键词:大岩桐;组织培养;研究现状;研究前景

中图分类号:S 682.2⁺9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2011)23-0166-05

大岩桐(*Simningia speciosa*)属苦苣苔科苦苣苔属多年生肉质草本植物。又名落雪泥,原产巴西,有单瓣和重瓣之分^[1-2];因其叶茂翠绿,花大色艳而得到广泛种植。国内大岩桐的引种始自 20 世纪 30 年代,但直到 20 世纪 90 年代才有小批量生产^[3];这主要是由于大岩桐自花不育,依靠种子繁殖技术难度较高且易造成种性退化^[4],块茎繁殖^[5]、扦插等常规方法繁殖系数低、受到季节的限制^[6]。而组织培养则有效解决了这一问题,为大岩桐的快速繁殖和工业化生产奠定了一定的基础^[5]。大岩桐的组织培养研究最早见于 20 世纪 80 年代^[7-8]。时至今日,在国内外已有多篇关于建立大岩桐再生体系的报道^[5,9];然而,其快繁体系多处于试验阶段,对产业化模式的探讨较少^[10-11]。现对大岩桐组织培养的主要研究进展进行综述,分析其目前存在的主要问题,以期为以后的深入研究和利用提供参考。

1 大岩桐的离体再生概况

植物组织培养中,再生植株的形态发生有胚状体发生和器官发生 2 条途径^[12]。任如意等^[13]通过组织学观察,发现大岩桐的离体再生属于器官发生途径。目前,尚未见有胚状体形成的报道。在器官发生途径中,外植体可先形成愈伤组织,再进一步分化出不定芽而形成再生植株;或者由外植体直接诱导形成不定芽。在已有报道中,大岩桐的离体再生绝大部分属于前者^[4-5,13-18]。但倪奎^[19]和张艳萍等^[20]分别以叶片为外植体,采用直接方式不经过愈伤组织阶段诱导生成不定芽。在上述按照器官发生途径离体再生的相关报道中,均是先形成不定芽,继而诱导生根。Xu 等^[21]以叶片为外植体,经过 2 种途径建立大岩桐的高效离体再

生体系。第 1 种途径是按照常规的器官发生途径进行,即外植体先形成愈伤组织,愈伤组织再分化出不定芽,进而生成不定根,形成再生苗;第 2 种途径是外植体先形成少量愈伤组织和根,再产生不定芽,进而形成再生苗。其中第 1 种途径的芽诱导率达到 99.0%,根诱导率达到 98.81%;第 2 种途径中芽诱导率达到 90.4%,根诱导率达到 100%。徐全乐等^[9]又以茎段和根为外植体证实大岩桐的离体再生过程确实存在 2 种分化途径。张肯定^[22]进一步研究了不同浓度的 NAA 对大岩桐先生根再生途径的影响,并指出单一的 NAA 即可诱导大岩桐的再生。

目前,国内已有较多大岩桐组织培养成功的相关报道^[4,13-18],但这些报道多采用较复杂的培养基配方,需多次继代培养。绝大部分报道在诱导愈伤组织时添加 0.3~4.0 mg/L BA 和 0.01~0.2 mg/L NAA,然后转到添加 2.0 mg/L BA 和 0.01~0.2 mg/L NAA 的 MS 培养基上进行芽分化和增殖培养^[4,23]。但唐伟斌等^[24]认为,诱导分化和继代增殖可使用相同配方的培养基,这就为简化培养过程提供了依据。Xu 等^[21]和徐全乐等^[9]在大岩桐的组织培养中建立了一步法,即从愈伤组织的诱导到不定芽的分化再到不定根的形成过程中均只使用了 1 种配方的培养基,并且培养期间不需要更换培养基,从而极大的简化了操作流程,并取得了 90% 以上的芽分化率。

2 大岩桐离体再生过程中的培养条件

2.1 培养方式

大岩桐快繁成功的报道很多,其中绝大部分都使用了固体培养基^[9,22],并取得了良好的效果。但也有用液体培养基的报道^[10,25]。研究发现,液体静置培养有利于降低成本,增加增殖倍数^[10,25];但培养分化的芽非常纤细^[10],不利于后续生根移栽。王鸿鹤等^[26]采用液体悬浮振荡培养(80 r/min)进行快速繁殖重瓣大岩桐,显著提高了大岩桐的分化速度和分化率,得到更多的再生苗,并且与单纯用固体培养相比变异率并没有明显的改变。Nhut A T 等^[27]设计了试管状尼龙膜培养系统,获得了 100% 的芽分化率;但由于该种方式需

作者简介:徐全乐(1980-),男,博士,讲师,现主要从事植物分子生物学等研究工作。

基金项目:西北农林科技大学人才专项资金资助项目(Z111020912)。

收稿日期:2011-08-23

要额外的设备而没有得到广泛推广。

2.2 培养基

在大岩桐的组织培养中,以 MS 基本培养基的使用最为频繁;也有人以 B5 为基本培养基的,但效果不如 MS^[10,28]。王福银^[29]分别以 MS、1/2MS 和 SH 为基本培养基对重瓣大岩桐进行试验。结果表明,基本培养基对重瓣大岩桐试管苗芽的分化生长影响显著;在 1/2MS 和 SH 基本培养基上生长的试管苗增殖倍数仅分别相当于 MS 的 68% 和 73%,而且生成的试管苗叶色淡、光泽差、叶形小而薄;在 MS 基本培养基上生长的试管苗则叶形正常,叶色浓绿,生长健壮。故初步认为大岩桐组织培养需较高质量浓度的矿质营养^[28]。周钟信等^[30]在 MS 培养基上增大有机成分比重,对分化芽的培育壮苗起到了很好的作用。黄小荣等^[15]利用改良 ER 配方,添加 0.5 mg/L BA 和 0.25 mg/L NAA 使腋芽分化出不定芽;但叶片、花梗等均未分化。

不论采用哪种基本培养基,7%左右的琼脂都是培养基固化的首选。但邵果园等^[31]在建立大岩桐无性繁殖体系时使用 5.8 g/L 的卡拉胶代替琼脂作为凝固剂。翟红莲等^[32]则研究了不同凝固代替剂对大岩桐分化的影响;结果表明,利用卡拉胶和魔芋胶组合替代琼脂,可以促进分化;而利用卡拉胶和魔芋胶或黄原胶组合做凝固剂,则可以促进愈伤组织大小和长势。可能是复合凝固剂满足了植物生长期的营养所需。

2.3 培养条件

一般认为,大岩桐再生的最适培养条件为:温度 (25±3)℃,光照强度 1 500~2 000 lx,光照时间 10~12 h^[33]。其中温度对芽的诱导有较大的影响,过高和过低都会影响细胞的增殖与分化^[34]。光照条件要求相对较弱,但也有研究使用较高^[15-16,28]或较低光照强度(1 200 lx)^[35]以及较长光周期^[9,11]并取得成功。

3 大岩桐的离体再生

3.1 外植体

外植体的选择在植株再生中起到十分关键的作用^[36]。在单瓣大岩桐的组织培养中,以子叶^[37]、下胚轴^[37]、叶片^[4-5,9,14,20-21,27,31,38-41]、叶柄^[9,16,22,42-43]、茎尖^[5,39,44-45]、腋芽^[15,45-46]、茎段^[4,31,39,47]、根^[9,22]和花柄^[48]做外植体的都有报道。在重瓣大岩桐的组织培养中,叶片^[13,26,49-51]、嫩茎^[50]、茎尖^[52]等也都可以诱导形成愈伤组织及再生小植株。但不论是哪种大岩桐品种,选择叶片做外植体的都占大多数。这主要是因为叶片取材较为方便,对母株影响较小;同时可以得到 99% 以上的较高再生频率^[9];从叶片分化而来的再生苗也更易生根^[53]。因此,叶片是大岩桐离体再生培养研究的最适外植体^[9]。

一般而言,幼嫩叶片有利于再生。王鸿鹤等^[26]选用重瓣大岩桐第 3、4 片幼叶,朴日子等^[51]选用顶端 1~2 节新展开的嫩叶进行重瓣大岩桐的离体再生,都取得了较好的效果;并发现幼叶在芽萌发时间、芽分化率和芽的数量上明显优于完全展开的老叶^[51]。而叶片的背腹性对于分化也有一定的影响^[14,26,54-55]。

外植体处理是影响其存活的重要因素。由于大岩桐叶表面密被绒毛,细菌易隐藏其中并滋生,导致外植

体在培养过程中污染率较高^[34]。所以,大岩桐叶外植体的适宜消毒方式为:剪取幼嫩叶片,用毛刷蘸自来水(可加少量表面活性剂)清洗,然后在超净台上进行常规表面消毒。一般采用 70% 酒精 30~45 s,0.1% 升汞 8~10 min 并不停振荡,最后用无菌水冲洗 3 次以上^[26,34]。

3.2 愈伤组织诱导

绝大部分研究表明,大岩桐的再生要经过愈伤组织诱导阶段^[56];偶而也有外植体不经愈伤组织而直接分化的报道^[56],但不占据主流地位。在无激素基本培养基上,大岩桐外植体没有愈伤组织形成^[43]。若在基本培养基上单独添加低浓度 BA 即可诱导愈伤组织^[31,55],诱导率可达 95% 以上^[43]。在诱导愈伤组织时,很多报道都添加了 2,4-D,并认为 2,4-D 的极小差异就会造成愈伤组织的极大差异^[50]。侯卓婕等^[18]以 BA 分别和 NAA、IBA、2,4-D 组合诱导愈伤组织后指出:在有低浓度 BA 存在条件下,愈伤组织诱导效率为 2,4-D>IBA>NAA。但研究发现,加入 2,4-D 虽然有利于愈伤组织的形成^[19,26],却不利于芽的分化^[26]。而当 BA 浓度不变时,NAA 较 IBA 更有利于芽的分化^[18,49]。因此,BA 与 NAA 是大岩桐愈伤组织诱导的最佳激素组合^[14]。

就愈伤组织形态而言,有淡绿色愈伤组织^[18,31]、颗粒状愈伤组织^[21,41]、黄白色愈伤组织^[17]、浅红绿色愈伤组织^[24]、淡黄绿色愈伤组织^[11,43]和白色愈伤组织^[57]等。但不论哪种愈伤组织形态,最终均可分化出不定芽。显微分析发现,以叶片为外植体诱导的愈伤组织起源于叶肉细胞^[5];其余外植体诱导的愈伤组织起源鲜有报道。

3.3 芽分化和增殖培养

众所周知,外植体的分化能力取决于基本培养基上添加物质的种类和浓度^[37]。有研究报道,单独使用 1.0 mg/L BA 即可诱导大岩桐不定芽的分化^[55]。刘雪莲等^[46]也采用单独添加 BA 的方法诱导大岩桐产生不定芽,但只取得了 58.8% 诱导率,效果不如复合培养基。何家涛等^[58]在大岩桐芽分化时采用了 TDZ,并发现当 TDZ 浓度为 1.0 mg/L 时,分化率与增殖系数较高,分化率可达 92.5%;当 TDZ>2.0 mg/L 时,丛生芽会发生玻璃化现象,增殖受到一定抑制。王秀英等^[57]在重瓣大岩桐组织培养中使用 KT 替代 BA,取得 88.7% 的芽诱导率。进一步研究 BA、KT 和 TDZ 在芽增殖过程中的效果发现,不论是芽增殖还是芽苗的生长状态,BA 均优于 KT^[5,51]和 TDZ^[51];并且随着 BA 浓度增大,增殖系数也增大;但当 BA 浓度大于 2.0 mg/L 时,增殖系数和平均株高呈下降趋势^[51]并易引起玻璃化^[16,31]等变异现象。侯卓婕等^[18]的试验结果也证实了该观点,不过认为当 BA 浓度大于 3.0 mg/L 时,增殖倍数才会下降。这可能与所选的外植体类型不同有关。

在选用何种激素与 BA 组合进行芽的诱导时,90% 以上的研究都选用 NAA,但也有选用其它激素的报道。庞基良等^[35]利用细胞分裂素协同赤霉素促进离体培养大岩桐花蕾并使花萼切块高频率直接再生花

芽^[59]。王秀英等^[57]在重瓣大岩桐组织培养芽分化和增殖培养阶段添加了 1.0 mg/L 的 GA_3 , 并认为附加 GA_3 对分化和增殖培养基中的 KT 和 NAA 活性有增效作用。除此之外, 还有 BA 与 IAA 组合^[5], BA 与 IBA 组合^[58]等。但在大岩桐的不定芽诱导过程中, 首选的是 BA 和 NAA 组合。这主要是由于 BA 与 NAA 组合有利于外植体的脱分化与再分化, 其最佳浓度组合为 BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L^[10,14,26,42,51], 再生频率可达 96.67%^[51]。

总体而言, 大岩桐属于比较容易进行组织培养的物种, 可能是因为大岩桐的内源激素水平较低^[30], 使其在再生过程中对生长调节物质的要求不是非常严格^[10,28], 添加一定量的复合激素即可取得良好效果。但也有一些研究在上述激素组合的基础上进一步添加其它介质并研究其对大岩桐再生的影响。如添加番茄汁会使试管苗基部产生大量愈伤组织但抑制芽的分化和生长^[60]; 添加活性炭对大岩桐试管苗的增殖具有抑制作用^[37,60], 但再生苗的叶数目和叶面积都有所增大, 有利于进一步的移栽^[37]; 较低浓度(50 和 100 mg/L) 的氯化胆碱有利于大岩桐不定芽的快速分化^[61]等。朴日子等^[51]在增殖阶段还添加了 500 mg/L 的 LH(水解乳蛋白)。

3.4 生根及移栽

大岩桐做为宿根植物, 其再生苗生根相对容易。王树耀等^[43]在 MS 基本培养基上添加 0.2 mg/L 的 NAA, 获得了 100% 的生根率。朴日子等^[51]将 MS 培养基无机盐浓度降低到 1/4 后也获得了 100% 生根率。但大部分报道在生根培养时采用 1/2MS 为基本培养基。在不加激素的 1/2MS 培养基上, 就可得到 70%~83% 的生根率^[17,31], 只不过生根较慢且根系较弱^[31]。但有研究表明, 添加外源生长素对于大岩桐试管苗的生根是必须的^[39]。这种矛盾可能是由于前期培养时所采用的激素组合不同所致。Xu 等^[21]发现, 在长期的组织培养和继代过程中, 大岩桐再生苗的内源激素水平会发生一定程度的改变, 进而影响生根。对于大多数研究而言, 都采用了基本培养基添加一定浓度生长素的办法诱导生根。如在 1/2MS 培养基上添加低浓度的 NAA^[28,57]即可促进生根, 生根率可达 96% 以上^[57]; 但当 NAA 浓度超过 0.5 mg/L 时, 再生苗根部易愈伤化, 产生的根量多但不健壮。研究表明, 以 IBA 为诱导激素进行生根培养时, 其浓度为 1.0 mg/L 时都不会产生愈伤化, 且生成的根系健壮^[26]。从生根效果和根系生长状况来看, IBA 的效果明显优于 NAA^[51]; 利用 0.4~0.5 mg/L 的 IBA 可获得 100% 的生根率^[31,51]。张艳萍等^[20]也认为利用 NAA 生根时不易形成主根, 生成的气生根居多; 而 IAA 生根效果较好。但任如意等^[13]认为利用 NAA 或 IBA 生根的形态几乎没有区别。在诱导生根过程中, 绝大部分报道都采用单一生长素, 但也有报道利用 IBA 和 NAA 组合^[18]或 IAA 和 NAA 组合^[30]诱导生根, 并取得良好的效果。但总体而言, 采用 NAA 做为单一激素诱导生根操作较为简便、生根率较高, 是大岩桐再生苗诱导生根的较好选择。

在生根培养基中, 一般都添加 30 g/L 的糖, 但也有人认为 1/2MS+15 g/L 的糖是最佳生根培养基^[62]。在此基础上, 有研究发现添加适量的多效唑^[47]或氯化胆碱^[61]可以促进根伸长和粗壮生长; 而加入活性炭后生根速度明显加快^[26]。秦廷豪等^[10]在生根时添加爱多收(主要成分为单硝化愈创木酚钠)也取得较好效果。

大部分研究在大岩桐不定芽产生后都采用了上述生根方法并取得理想效果。孙仲序等^[63]采用滤纸桥生根技术, 生根率为 97.2%, 生根数为 18 条, 生根天数为 3 d。李建民等^[11]在生成大岩桐不定芽后, 直接将其切割为单芽, 转入到添加 0.5 mg/L IBA 的 Hoagland 营养液中, 保湿进行生根和壮苗培养, 约 35 d 后, 生根率可达 96% 以上。除此之外, 还有一些研究使得外植体或再生无根苗直接生成块根^[64-66]。赵小梅等^[66]利用 NAA 和 IBA 组合, 从叶片外植体上成功诱导块根, 诱导率可达 100%。孙静秋等^[64]利用附加 0.2 mg/L NAA 的 1/2MS 培养基直接诱导再生无根苗形成了块根。研究表明, 添加 5% 蔗糖、1.5% 活性炭以及采用液体悬浮振荡培养最有利于大岩桐试管结球和球根生长^[64]; 其中添加活性炭还可以缩短试管结球时间^[64]。而戴黎鸣等^[65]发现食用白糖可代替蔗糖, 并具有相同的促进效果。研究还发现^[65], 外植体类型、光照条件以及 BA 浓度对大岩桐试管块茎形成都具有明显影响。其中, 叶外植体比顶芽更有利于块茎的形成, 全光照条件更有利于块茎的形成, 而 BA 则会抑制块茎的形成。

再生苗生根后, 就要进行练苗移栽, 该过程中很重要的一点就是选择移栽的基质。适宜的基质有利于大岩桐球根的形成, 根系发生及其功能的恢复^[64]。李发虎等^[3]比较了不同基质对大岩桐的移栽成活率影响发现, 松针土是最适宜于大岩桐成活的基质, 这可能是由于松针土质地疏松, 保水保肥性较好。钱仁卷等^[67]研究了大岩桐移栽的影响因素发现, 大岩桐练苗的合适方法是将瓶苗先放入外界环境练苗 3 d, 再揭开封口膜练苗 2 d, 洗净培养基后移栽至腐质土: 椰糠: 珍珠岩=1:1:2 的混合基质中, 并喷洒多菌灵。

4 大岩桐组织培养过程中出现的其它现象

4.1 褐变

褐变是植物组织培养中常见的一种不利现象, 通常与外植体的种类、取材与处理、培养基的组成及培养条件等多种因素相关^[68]。在大岩桐的组织培养过程中, 当继代周期过长时就易出现褐变现象^[43,69]。如在外植体处理时使用 0.7% PVP 则可有效防治外植体褐变, 提高分化率^[13]。

4.2 休眠

在继代 4 代后, 大岩桐试管苗就会出现休眠现象^[23,70]。该现象和大岩桐在自然生长过程中的休眠现象具有一定的关联, 推测继代过程中出现的休眠现象是由于细胞生物种的作用引起的^[23]。进一步的生理生化检测表明, 休眠苗叶片的叶绿素 a 合成受阻、过氧化酶含量升高^[23]。周根余等^[23]认为休眠的内因因素是由于植物体内的生长素水平降低所致。

如在继代过程中采用 MS 培养基^[70]、降低蔗糖浓度^[23,70]、利用 NAA 处理^[23]、对试管苗进行低温(15℃)黑暗预处理 10 d 等方法能在一定程度上降低试管苗休眠的发生^[23,50,70];但培养基的 pH 变化对试管苗的休眠现象基本没有影响^[23,70]。

4.3 变异

观赏植物植物离体繁殖后的遗传稳定性是组织培养技术应用的关键因素之一。Scaramuzzi 等^[5]发现,大岩桐组培苗的染色体数目确实和母株保持一致。但长期的继代培养会引起再生苗的形态改变^[21]。张树宝等^[70]在继代 4 代后,发现大岩桐试管苗出现超度含水态苗。庞基良等^[71]在重瓣大岩桐的组织培养过程中发现了 6 种同源异型花,其变化部位主要集中于花瓣;并推测是移栽操作影响了花型。

在组织培养的过程中,比较容易出现体细胞无性系变异^[72],这种变异方式已经发展成为多种植物种质资源创新和良种选育的有效途径^[73-74]。Xu 等^[21]报道了大岩桐进行连续组织培养后,筛选得到的 *twp* (Tricussate whorled phyllotaxis) 突变体及花的同源异型现象^[9,21]。并对 *twp* 突变体进行了生理分析,认为其内源生长素和赤霉素含量都有下降^[21]。胡鑫等^[41]重点报道了大岩桐组织培养过程中产生的叶型改变,并认为这种改变可能是由于大岩桐长期的组织培养和多次继代使得再生植株的内源激素水平发生改变而造成的。这些变异为大岩桐新品种的选育奠定了良好的基础。

5 大岩桐组织培养技术的应用

欧洲国家在大岩桐遗传育种方面起步较早,开发出了一些新品种;而我国在这方面刚刚起步,并且育种主要靠传统的品种杂交方法,限制了大岩桐产业的发展^[75]。而在组织培养基础上进行诱变^[76]、基因转化^[56,77]、试管嫁接^[78]等是可行的遗传育种方法。王鸿鹤等^[76]通过组织培养与秋水仙碱诱导相结合的技术途径成功培育重瓣大岩桐多倍体植株。宋俊芳等^[56]利用农杆菌介导的叶盘转化法将绿色荧光蛋白导入大岩桐中,PCR 及点杂交的结果表明,外源基因成功转入到大岩桐基因组中。赵万苓等^[77]也将查尔酮合酶基因导入重瓣大岩桐中。但是这些研究都没有报道稳定遗传的大岩桐新品系。最近,张明哲等^[53]将 *CFL* 基因导入大岩桐中,并得到提早开花植株。邵果园等^[78]利用试管嫁接技术成功进行了大岩桐与鸡冠花的远缘杂交,但杂交植株生长缓慢。因此,大岩桐的育种工作仍然任重而道远。

总体而言,大岩桐的组织培养已经取得阶段性成果。从愈伤组织诱导、不定芽的分化、根的诱导等方面都相对成熟并得到较高的分化率。其中,一步法组培体系的建立极大的简化了操作流程,为工厂化育苗奠定了良好的基础,有利于其迅速推广应用并为苦苣苔科其它种属的组培模式提供借鉴。在大岩桐组织培养的基础上,利用诱变、基因转化和试管嫁接等技术虽然得到了一定数量的表型变化,但可遗传的稳定性状较少。因此,开发新的大岩桐观赏品种将是未来研究的重点内容之一。

参考文献

- [1] 韦三立. 花卉组织培养[M]. 北京: 中国林业出版社, 2000.
- [2] 程广有. 名优花卉的组织培养技术[M]. 北京: 科学技术文献出版社, 2001.
- [3] 李发虎, 蔡永敏, 樊明寿, 等. 不同基质对于大岩桐移栽成活率的影响研究[J]. 中国农学通报, 2009, 25(1): 112-114.
- [4] 曹桂萍, 王建美. 大岩桐的组织培养与快速繁殖研究[J]. 山东农业科学, 2002(5): 16, 22.
- [5] Scaramuzzi F, Apollonio G, D' Emerico S. Adventitious shoot regeneration from *Sinningia speciosa* leaf discs *in vitro* and stability of ploidy level in subcultures [J]. In Vitro Cell Dev-Plant, 1999, 35: 217-221.
- [6] 李玉巧, 李雪萍, 窦全琴. 促根剂对重瓣大岩桐叶片扦插生根效果实验[J]. 江苏林业科技, 2008, 35(3): 15-18.
- [7] 陈明昭, 温佑兴, 黄莹. 几种苦苣苔科植物的组织培养[J]. 广东园林, 1985(4): 39.
- [8] 刘和林. 大岩桐的试管繁殖[J]. 四川林业科技, 1988(4): 33-34.
- [9] 徐全乐, 谢亚红, 刘文婷, 等. 大岩桐再生体系建立的两种途径[J]. 园艺学报, 2010, 37(1): 135-140.
- [10] 秦廷豪, 邹宗兰, 饶晓鸿, 等. 重瓣大岩桐的快速繁殖及其产业化技术程序[J]. 植物生理学通讯, 2002, 38(4): 313-316.
- [11] 李建民, 文清成, 吕守成, 等. 大岩桐的组培快繁及其产业化技术研究[J]. 北方园艺, 2011(4): 153-154.
- [12] 汪丽虹, 杨汉民. 枸杞再生植株不同发育途径中染色体变异的研究[J]. 兰州大学学报(自然科学版), 1992, 28(2): 141-145.
- [13] 任如意, 赵金良, 宗宪春, 等. 大岩桐叶片组织培养及其组织学观察[J]. 北方园艺, 2008(6): 183-185.
- [14] 刘本叶, 张艳萍, 张喜春, 等. 大岩桐叶片培养再生植株的研究[J]. 生物技术, 1995, 5(2): 22-24.
- [15] 黄小荣, 蔡玲, 苏煌. 大岩桐的组织培养[J]. 广西林业科学, 2001, 30(3): 132-133.
- [16] 袁正仿, 孔令葆, 赵兴兵, 等. 大岩桐的组培快繁和温室栽培[J]. 信阳师范学院学报(自然科学版), 2001, 14(4): 456-458.
- [17] 秦丽, 胡雪梅, 廖青, 等. 观赏植物大岩桐 (*Sinningia speciosa*) 组织培养体系的建立和优化[J]. 新疆农业科学, 2007, 44(3): 336-339.
- [18] 侯卓婕, 傅玉兰. 植物生长调节剂对大岩桐离体培养的影响[J]. 中国农学通报, 2008, 24(3): 78-81.
- [19] 倪奎. 不同浓度的 6-BA、NAA 对大岩桐不定芽发育的影响[J]. 安徽农学通报, 2006, 12(1): 21.
- [20] 张艳萍, 陈玉梁, 张正英, 等. 大岩桐叶片离体再生培养研究[J]. 甘肃农业科技, 2006(9): 5-6.
- [21] Xu Q L, Hu Z, Li C Y, et al. Tissue culture of *Sinningia speciosa* and analysis of the *in vitro*-generated tricussate whorled phyllotaxis(*twp*) variant[J]. In Vitro Cell Dev Biol-Plant, 2009, 45: 583-590.
- [22] 张肯定. NAA 浓度对大岩桐叶柄和根外植体再生的影响[J]. 甘肃农业科技, 2010(6): 29-31.
- [23] 周根余, 周卫华, 程磊. 大岩桐组培中休眠现象的初步研究[J]. 上海农业学报, 2000, 16(2): 69-72.
- [24] 唐伟斌, 刘占牛. 大岩桐组织培养与快繁技术研究[J]. 安徽农业科学, 2005, 33(8): 14-18.
- [25] 周祖富. 几种观赏花卉的组织培养和快速繁殖[J]. 广西农学院学报, 1992, 11(2): 86-88.
- [26] 王鸿鹤, 葛欣, 吴绛云. 液体悬浮振荡培养快速繁殖重瓣大岩桐[J]. 植物生理学通讯, 1999, 35(2): 126-127.
- [27] Nhut A T, Nguyet N A, Phuc H T, et al. Primary designs of tube-shaped nylon film culture system in shoot regeneration of *Sinningia* spp. Leaf explants[J]. Proceedings of International Workshop on Biotechnology in Agriculture, 2006(10): 131-133.
- [28] 韦献雅, 张其坤, 饶春梅, 等. 重瓣大岩桐叶片离体培养及植株再生[J]. 北京农业, 2008(1): 34-35.
- [29] 王福银. 重瓣大岩桐快速繁殖试验[J]. 江苏林业科技, 2000, 27(4): 27-28.
- [30] 周钟信, 李建科, 朱慧珍, 等. 大岩桐开花生物学的观察及快繁技术的研究[J]. 天津农学院学报, 1998, 5(2): 1-8.
- [31] 邵果园, 梁国鲁, 王力超, 等. 大岩桐快繁体系优化研究[J]. 西南大学学报(自然科学版), 2007, 29(4): 127-130.

- [32] 翟红莲,纪守兴,赵学燕,等.植物组织培养培养基凝固剂替代物的研究[J].山东林业科技,2009(2):5-9.
- [33] 李玉梅,马强.组织培养中培养条件对培养物的影响[J].北方园艺,2001(6):35-36.
- [34] 李翠,凌征柱,姚绍娉,等.苦苣苔科植物组织培养研究进展[J].安徽农业科学,2010,38(31):17387-17388,17390.
- [35] 庞基良,王利琳,胡江琴,等.赤霉素对大岩桐花蕾离体培养直接再生花芽的影响[J].实验生物学报,2004,37(3):242-246.
- [36] Krens F A, Jamar D. The role of explants source and culture conditions on callus induction and shoot regeneration in Sugarbeet (*Beta vulgaris* L.) [J]. J Plant Physiol, 1989, 134: 651-655.
- [37] Paek K Y, Han K R. Micropropagation of gloxinia (*Sinningia speciosa*) from hypocotyl and cotyledon segments and treatment of EMS and Colchicine on regenerated shoot tips [J]. J Korean Soc Hort Sci, 1988, 29(2):126-135.
- [38] Johnson B B. *In vitro* prppagation of Gloxinia from leaf explants [J]. Hort Science, 1978, 13: 149-150.
- [39] Wuttisit M, Kanchanapoom K. Tissue culture propagation of gloxinia [J]. Suranaree J Sci Technol, 1996, 3(2): 65-67.
- [40] Shagufta N, Aamir A, Fayyaz A S, et al. In vitro prppagation of Gloxinia (*Sinningia speciosa*) [J]. Pak J Bot, 2001, 33: 575-579.
- [41] 胡鑫,徐全乐.连续组织培养引起大岩桐再生植株的表型变化[J].西北农业学报,2010,19(5):167-170.
- [42] 王家远,罗荣芬,周大刚,等.大岩桐叶柄诱导再生植株[J].贵州师范大学学报(自然科学版),2004,22(4):19-21.
- [43] 王树耀,黄白红.大岩桐的组培快繁技术研究[J].湖南文理学院学报(自然科学版),2004,16(1):43-44.
- [44] 祝清俊,周钟信,张宗江,等.大岩桐组织培养和快速繁殖[J].莱阳农学院学报,1995,12(1):47-49.
- [45] 苏荣德,刘丽荣,张明伟,等.利用大岩桐腋芽诱导分化育苗技术研究[J].辽宁农业职业技术学院学报,2003,5(3):13-15.
- [46] 刘雪莲,顾地州,高艳蕊,等.大岩桐腋芽丛生的诱导及植株再生[J].北方园艺,2008(7):222-223.
- [47] 张耀华,张慧英,薛艳霞,等.大岩桐试管苗的快速繁殖[J].北方园艺,2006(3):128-129.
- [48] 胡章琼,赵依杰,秦建斌,等.大岩桐组培快繁技术[J].福建农业科技,2005(1):22.
- [49] 吴纲.利用重瓣大岩桐叶片诱导再生植株试验[J].江苏林业科技,2002,29(3):23-24,33.
- [50] 朱苏文,马庆,刘康武.植物激素对大岩桐愈伤组织诱导和芽分化增殖的影响[J].激光生物学报,2006,15(4):394-398.
- [51] 朴日子,曹后男,宗成文,等.重瓣大岩桐叶片离体培养高频植株再生体系的建立[J].辽宁林业科技,2008(1):10-12,15.
- [52] 许晓静.大岩桐组织培养与快繁技术研究[J].安徽农业科学,2005,8(1):14-18.
- [53] 张明哲,王利琳,叶丹,等.农杆菌介导的 *CFL* (*Cucumber-FLO-LFY*) 基因遗传转化大岩桐[J].农业生物技术学报,2011,19(3):455-461.
- [54] 陈家银,朱鹿鸣.大岩桐叶愈伤组织的诱导和植株再生[J].植物生理学通讯,1990(3):46.
- [55] 王海洪.大岩桐组织培养及其练苗移栽技术[J].北方园艺,2008(4):232-233.
- [56] 宋俊芳,张秋,罗明,等.绿色荧光蛋白基因转化大岩桐的研究[J].湖北大学学报(自然科学版),2000,23(2):171-173.
- [57] 王秀英,张大惠.重瓣大岩桐组织培养[J].黑龙江农业科学,2009(3):11-12.
- [58] 何家涛,王会.大岩桐离体培养技术研究[J].西南农业学报,2007,20(4):867-869.
- [59] Pang J L, Wang L L, Hu J Q, et al. Synergistic promotion of gibberellin and cytokinin on direct regeneration of floral buds from in vitro cultures of sepal segments in *Sinningia speciosa* hiern [J]. *In Vitro Cell Dev-Plant*, 2006, 42(5): 450-454.
- [60] 杨海燕,傅玉兰,黄新,等.大岩桐组织培养与快速繁殖[J].安徽农业科学,2006,34(5):896-897.
- [61] 何若天,林新全,邱景锋.氯化胆碱对大岩桐组培苗生长的影响[J].广西农业生物科学,2002,21(2):105-107.
- [62] 李爱华,熊春玲.大岩桐的组织培养及快速繁殖[J].湖北林业科技,2003(2):5-6.
- [63] 孙仲序,王玉军,刘静,等.植物组培快繁滤纸桥生根新技术[J].山东农业大学学报(自然科学版),2002,33(3):257-263.
- [64] 孙静秋,夏玲凤,周根余.大岩桐试管结球的初步研究[J].上海农业学报,2003,19(4):64-66.
- [65] 戴黎鸣,周伟,陈军峰,等.影响大岩桐试管块茎形成的若干因素[J].上海师范大学学报(自然科学版),2006,35(5):71-75.
- [66] 赵小梅,吴翠荣,刘石泉,等. NAA, IBA 对大岩桐块根形成的影响[J].上海师范大学学报(自然科学版),2006,35(4):61-64.
- [67] 钱仁卷,邵果园,梁国鲁,等.大岩桐的试管生根诱导与移栽技术研究[J].贵州农业科学,2007,35(2):29-30.
- [68] 曾镭,刘燕.植物组织培养中褐化问题的研究进展[J].安徽农学通报,2007,13(14):49-50.
- [69] 杨振堂,胡桂珍,刘春华.重瓣大岩桐的组织培养与快速繁殖[J].植物生理学通讯,1996(1):41-42.
- [70] 张树宝,王艳,陈连广.重瓣大岩桐继代过程中休眠现象的影响因素研究[J].黑龙江八一农垦大学学报,2006,18(6):35-38.
- [71] 庞基良,王利琳,胡江琴,等.重瓣紫蓝大岩桐组培苗的花同源异型现象[J].实验生物学报,2003,36(1):76-81.
- [72] Larkin P J, Scowcroft W R. Somaclonal Variation-a novel source of variability from cell cultures for plant improvement[J]. Theor Appl Genet, 1981, 60: 197-214.
- [73] 张硕,张明方,杨景华.体细胞无性系变异技术在园艺植物育种中的应用[J].北方园艺,2006(5):48-50.
- [74] 李晓玲,丛娟,于晓明,等.植物体细胞无性系变异研究进展[J].植物学通报,2008,25(1):121-128.
- [75] 谢吉容,李国昌,梁国鲁.大岩桐的研究概况及展望[J].西南园艺,2006,34(2):33-36.
- [76] 王鸿鹤,葛欣,徐启江,等.秋水仙碱诱导重瓣大岩桐 (*Sinningia speciosa*) 多倍体的研究[J].热带亚热带植物学报,1999,7(3):237-242.
- [77] 赵万苓,姜世平,付新生,等.利用农杆菌介导法将查尔酮合酶基因导入大岩桐[J].分子植物育种,2006,4(1):45-48.
- [78] 邵果园,陆方方.远缘植物试管嫁接及 ISSR 分析[J].浙江林学院学报,2010,27(4):630-634.

Research Progress on Tissue Culture of *Gloxinia*

XU Quan-le

(College of Life Sciences, Northwest Agriculture and Forestry University, Yangling, Shaanxi 712100)

Abstract: Research status on tissue culture of *Sinningia speciosa* was reviewed including the pathways, process, medium component and browning, dormancy, somaclonal variation during the process of tissue culture. Meanwhile, the problems and prospects were also discussed to provide references for further studies.

Key words: *Sinningia speciosa*; tissue culture; research status; research prospects