

· 技术方法 ·

走马胎的组织培养与快速繁殖

唐凤鸾, 赵健, 赵志国, 夏科, 仇硕*

广西壮族自治区中国科学院广西植物研究所, 桂林 541006

摘要 以走马胎(*Ardisia gigantifolia*)幼嫩茎段为外植体, 通过腋芽增殖的方式进行组织培养和快速繁殖研究。结果表明, 培养基MS+1.0 mg·L⁻¹ 6-BA+0.2 mg·L⁻¹ NAA和MS+0.5 mg·L⁻¹ ZT均可用于腋芽的诱导和前期继代培养, 诱导率分别为89.3%和85.7%; 芽增殖最佳培养基为MS+0.5 mg·L⁻¹ 6-BA+0.1 mg·L⁻¹ ZT+0.1 mg·L⁻¹ NAA, 增殖系数为4.3倍; 根诱导最佳培养基为1/2MS+1.5 mg·L⁻¹ IAA+1.0 mg·L⁻¹ NAA, 生根率达92.3%, 且根系发达, 植株健壮; 生根苗在混合基质园土:泥炭:珍珠岩=3:1:1 (v/v/v) 中移栽成活率为82%。该研究建立了走马胎种苗的组织培养快速繁殖技术体系, 且可应用于规模化生产。

关键词 走马胎, 腋芽, 组织培养

唐凤鸾, 赵健, 赵志国, 夏科, 仇硕 (2019). 走马胎的组织培养与快速繁殖. 植物学报 54, 378–384.

走马胎(*Ardisia gigantifolia*)又称大叶紫金牛, 为紫金牛科(Myrsinaceae)紫金牛属(*Ardisia*)常绿植物, 主要分布于广西、广东、云南、江西、福建和越南北部。据《纲目拾遗》和《陆川本草》等记载, 走马胎具有祛风壮骨、活血化瘀、消肿止痛和止血生肌等功效, 常用于治疗类风湿关节炎、筋骨疼痛、跌打损伤、产后瘀血、半身不遂和痈疽溃疡等疾病, 民间有“两脚行不开, 不离走马胎”之说。走马胎富含三萜皂苷类和岩白菜素衍生物类化合物(具有抗癌、抗炎和抗氧化等作用) (穆丽华等, 2011, 2018; 戴卫波等, 2018), 是开发民族新药的重要资源物种。

走马胎植株顶端优势非常明显, 自然条件下1年只有1条主枝生长, 没有侧枝分化, 即使剪掉顶芽, 也只能从剪口下方萌发1个腋芽。此外, 走马胎虽然花量繁多, 但坐果率极低, 通常不到5%, 多数情况下得不到种子, 且种子萌发时间长。上年10月采收的种子, 次年6–7月才能萌发。可见, 用扦插和播种方法繁育走马胎种苗存在时间长和效率低等问题, 难以满足市场需求。

植物组织培养技术已广泛应用于经济和珍稀濒危植物的种苗繁殖, 且取得了很好的效果, 但有关走

马胎组织培养的报道甚少。符运柳等(2017)通过诱导走马胎叶片形成愈伤组织、再分化不定芽的方式获得了再生植株。本研究组在对走马胎培养的过程中发现, 不管是诱导叶片直接分化成芽, 还是经过愈伤组织分化成芽, 所得不定芽均存在生长缓慢和生根移栽困难等问题。另外, 与诱导腋芽萌发进行增殖的方式相比, 经过脱分化的愈伤组织繁殖方式更容易发生变异, 难以保持母体的优良性状(王清等, 1997; 王燕等, 2015), 并且以腋芽繁殖的方式已在同属植物堇叶紫金牛(*A. violacea*)和紫金牛(*A. japonica*)中获得成功(邓小梅等, 2003; 孙英坤等, 2017)。为此, 本研究以走马胎幼嫩枝条为外植体, 通过腋芽增殖的方式, 探讨走马胎的组织培养及快繁技术, 以期建立切实可行的组培快繁体系, 为走马胎种苗规模化生产提供技术保障。

1 植物材料

将采自桂林周边地区, 经植物分类学家刘演研究员鉴定的走马胎(*Ardisia gigantifolia* Stapf)野生植株, 种植于广西壮族自治区中国科学院广西植物研究所紫金牛科植物种质资源圃。选取健壮植株的幼嫩枝条为

收稿日期: 2018-08-22; 接受日期: 2018-12-29

基金项目: 广西科技计划(No.桂科AB16380212)和国家自然科学基金(No.31760085)

* 通讯作者。E-mail: qiushuo001@163.com

实验材料。

2 培养基成分与培养条件

2.1 外植体消毒

选择无病虫害且生长健壮的植株, 取其幼嫩枝条, 带回实验室。去除叶片, 流水冲洗并用软毛刷轻轻擦拭枝条表面, 之后用纯净水清洗1遍。在超净工作台上, 将枝条剪成6–7 cm长的小段, 先用75%乙醇浸泡30–40秒, 无菌水冲洗2遍, 再用0.1% HgCl_2 溶液浸泡4–5分钟并不断搅拌。无菌水冲洗5–6遍后, 用无菌纸吸干表面水分, 切成长2–3 cm带1–2个茎节的小段, 备用。

2.2 培养基配制及培养条件

以MS或1/2MS为基本培养基, 根据不同培养目的添加不同种类和浓度的植物生长调节剂, 并附加30 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 蔗糖和6.0 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 琼脂, pH值为5.5–6.0。分装后于124℃消毒22分钟。培养室光源为日光灯, 光照强度为40–60 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 照射时间为每天12小时; 培养温度为(25±2)℃。

2.3 初代腋芽的诱导及继代培养

将消毒灭菌后的茎段接入以下培养基: (1) MS+0.5 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 6-BA+0.2 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA; (2) MS+1.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 6-BA+0.2 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA; (3) MS+0.5 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ZT; (4) MS+1.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ KT+0.2 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA, 进行腋芽诱导。每处理接种50个茎段, 重复3次。先暗培养2天, 之后转入日光灯下继续培养, 30天后统计诱导率。将获得的初代腋芽在原配方的培养基上继代2–3次, 观察并记录生长情况。腋芽诱导率=(腋芽萌发的外植体茎段数/获得的无菌外植体茎段总数)×100%。

2.4 芽增殖培养

在腋芽诱导和前期继代培养的基础上, 以MS为基本培养基, 添加不同浓度的6-BA (0.1、0.5、1.0和2.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)、ZT (0.1、0.2、0.4和0.8 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)和NAA (0、0.1、0.5和1.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), 采用正交实验设计表 $L_{16}(4^3)$ 对3种植物生长调节剂在4个浓度水平进行优化筛选。将初期继代培养的腋芽剪成约2 cm带1–2个茎节的小段, 接种于按照表1设计的正交培养基上进行增殖培

养。每处理10瓶, 每瓶接种15个茎段, 重复3次。50天后记录芽苗高度和增殖倍数, 并观察茎叶生长情况。增殖倍数为以母瓶培养时接种的材料规格和接种数为标准, 每一母瓶材料所能扩繁的瓶数。

2.5 根诱导培养

选择茎秆粗壮且叶片生长良好的芽苗, 剪成带2–3个茎节且留2片半张叶的小段, 接入以下培养基: (1) MS+1.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ IAA; (2) 1/2MS+1.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ IAA; (3) 1/2MS+1.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ IAA+1.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA; (4) 1/2MS+1.5 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ IAA+1.0 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA, 诱导生根。每处理10瓶, 每瓶接种15个带叶茎段, 重复3次。40天后记录生根率并观察根系生长情况。生根率=(生根苗数/接种苗总数)×100%。生根数为从苗茎基部长出的根条数。

2.6 生根苗移栽

将生根的瓶苗移至室外炼苗7–10天, 洗净培养基, 在800倍甲基硫菌灵药液中浸泡消毒2–3分钟, 晾干表面水分, 移栽至园土:泥炭:珍珠岩=3:1:1 (v/v/v)的混合基质中, 在80%荫蔽度的塑料大棚中培养。根据天气情况每天喷雾3–5次, 每次1–2分钟, 以保持空气湿度, 1周后减为每天1–2次, 50天后统计成活率。成活率=(成活苗数/移栽苗总数)×100%。

2.7 数据分析

实验数据采用Excel和SPSS 16.0软件处理分析。

3 结果与讨论

3.1 初代腋芽的诱导及继代培养

走马胎的生长环境较为阴湿, 枝条表面微生物丰富, 且对乙醇和 HgCl_2 非常敏感, 如果处理方法不当极易导致材料受污染或死亡。本研究表明, 采用长枝消毒, 在0.1% HgCl_2 溶液中浸泡3–4分钟, 清洗干净后再切成小段可有效减少药害, 并提高消毒成功率。

将消毒成功的走马胎茎段, 在诱导培养基上培养约10天可见芽体萌动, 随后长出腋芽; 培养至30天, 在抽生的腋芽茎上形成二级腋芽(图1A)。将初代诱导所得的腋芽从外植体上切下, 经过2–3次继代培养后可形成粗壮的丛生芽(图1B)。4个配方培养基均能诱

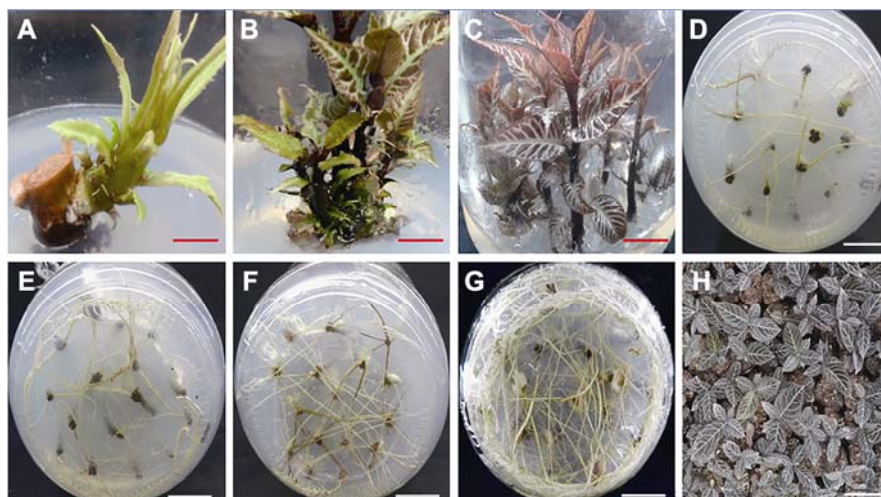


图1 走马胎腋芽培养、生根诱导及移栽

(A) 腋芽诱导; (B) 腋芽继代; (C) 芽增殖培养; (D)–(G) 生根培养; (H) 生根苗移栽。 (A) Bar=1 cm, (B)–(H) Bars=2 cm

Figure 1 Axillary bud culture, root induction and transplantation of *Ardisia gigantifolia*

(A) The induction of axillary buds; (B) The subculture of axillary buds; (C) The proliferation of buds; (D)–(G) The rooting of plantlets; (H) The transplantation of rooting seedlings. (A) Bar=1 cm, (B)–(H) Bars=2 cm

导走马胎茎段腋芽萌发, 但萌发率和腋芽生长情况差异较大。含6-BA的(2)号($MS+1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 6-BA+ $0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA)和含ZT的(3)号($MS+0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ZT)培养基的效果较好, 诱导率分别为89.3%和85.7%, 腋芽生长良好, 茎秆粗壮、叶片宽厚且色泽纯正; 含KT的(4)号($MS+1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ KT+ $0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA)培养基的效果最差, 形成的腋芽生长不良, 茎秆细小并且叶色偏绿, 在后期的继代培养中生长缓慢, 个别腋芽出现死亡, 诱导率也显著低于(2)和(3)号培养基 ($P<0.05$), 仅为70.0%。可见, (2)和(3)号培养基均可用于走马胎腋芽诱导及前期继代培养, 并以(2)号的诱导率为最高。

3.2 腋芽增殖培养

走马胎腋芽增殖培养约50天的统计结果见表1。实验结果显示, 1–8号培养基上的芽苗叶片宽厚、茎叶色泽纯正, 植株整体外观较好(图1C); 9–12号培养基上的芽苗叶片相对较小, 但有较多侧芽萌发生长; 13–16号培养基上的芽苗叶片小, 且有发黄脱落现象, 剪口基部形成大量愈伤组织, 部分材料出现变异, 生长缓慢, 整体培养效果差。

经极差分析可知(表2), 各生长调节剂对走马胎腋芽增殖培养中苗高影响的大小顺序为: 6-BA>ZT>

NAA, 对增殖系数影响的大小依次为: 6-BA>NAA>ZT; 6-BA对苗高和增殖系数影响的极差分别达5.0和2.1, 远高于ZT (1.6和0.8)和NAA (1.1和0.9)。进一步的方差分析显示, 仅有6-BA对增殖培养芽高和增殖系数的影响达显著水平 ($P<0.05$), 其余因素的影响均不显著。因此, 6-BA在走马胎腋芽增殖培养中起主导作用。

对各生长调节剂不同水平间芽苗高度和增殖系数进行多重比较分析(表2), 发现使用不同浓度的6-BA效果差异显著 ($P<0.05$)。当6-BA浓度为 $0.1\text{--}0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时有利于走马胎芽苗高度生长, 之后随着使用浓度的增加苗高降低, 当6-BA浓度达到 $2.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时芽苗的生长受阻, 平均高度仅为2.5 cm; $0.5\text{--}1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 6-BA的增殖系数相对较高, 但两者增殖方式差异较大, 6-BA浓度为 $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时通过促进芽茎生长实现增殖, 浓度为 $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时则主要通过侧芽萌发来增殖; ZT和NAA的浓度分别为 $0.1\text{--}0.8$ 与 $0\text{--}1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 各水平对苗高和增殖系数的影响不显著。

从观测及分析结果可以看出, 各生长调节剂的最佳浓度为 $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 6-BA、 $0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ZT和 $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA。但实际操作中, 在培养效果差异明显的情况下, 为减少变异概率及降低成本应尽量选用较低浓度的激素。故综合考虑芽苗茎叶生长、增殖速度、

表1 走马胎腋芽增殖的正交设计与结果

Table 1 Design and result of orthogonal test on axillary buds propagation of *Ardisia gigantifolia*

No.	Plant growth regulator (mg·L ⁻¹)			Average height (cm)	Average propagation coefficient	State of growth
	6-BA	ZT	NAA			
1	0.1	0.1	0	5.5	2.5	Buds grew generally; leaves were medium, dark red
2	0.1	0.2	0.1	8.0	3.5	Buds grew well; leaves were big, dark red
3	0.1	0.4	0.5	8.3	3.5	Buds grew well; leaves were big, dark red
4	0.1	0.8	1.0	6.5	3.0	Buds grew generally; leaves were big, dark red
5	0.5	0.1	0.1	8.6	4.3	Buds grew well; leaves were big, dark red
6	0.5	0.2	0	7.2	3.5	Buds grew well; leaves were medium, dark red
7	0.5	0.4	1.0	7.5	4.0	Buds grew well; leaves were big, dark red
8	0.5	0.8	0.5	6.5	3.2	Buds grew well; leaves were big, dark red
9	1.0	0.1	0.5	5.5	4.0	Buds grew generally; leaves were medium; there are two or four lateral buds
10	1.0	0.2	1.0	6.5	4.5	Buds grew well; leaves were medium; there are two or four lateral buds
11	1.0	0.4	0	4.8	3.5	Buds grew generally; leaves were small; there are one or three lateral buds
12	1.0	0.8	0.1	3.5	3.0	Buds grew generally; leaves were small; there are one or two lateral buds
13	2.0	0.1	1.0	3.0	2.5	Buds grew poorly; leaves were small and yellow; base of seedlings had many calli
14	2.0	0.2	0.5	3.0	1.8	Seedlings had variation; leaves were small and yellow; base of seedlings had many calli
15	2.0	0.4	0.1	2.0	1.5	Buds grew poorly; leaves were very small and some of them had fell off; base of seedlings had many calli
16	2.0	0.8	0	1.8	0.9	Buds grew poorly and died partially

表2 走马胎芽苗平均高度和增殖系数的分析比较

Table 2 Analysis and comparison of average height and propagation coefficient of buds of *Ardisia gigantifolia*

	Average height			Average propagation coefficient		
	6-BA	ZT	NAA	6-BA	ZT	NAA
Range analysis and multiple comparisons						
K ₁	7.1 a	5.7	4.8	3.1 a	3.3	2.6
K ₂	7.4 a	6.2	5.5	3.8 a	3.3	3.1
K ₃	5.1 b	5.7	5.8	3.8 a	3.1	3.1
K ₄	2.5 c	4.8	5.9	1.7 b	2.5	3.5
Range	5.0	1.6	1.1	2.1	0.8	0.9
Variance analysis						
Degrees of freedom	3	3	3	3	3	3
DEVSQ	63.1	5.4	2.8	11.5	1.7	1.7
F value	4.1*	0.4	0.2	3.7*	0.6	0.5

DEVSQ: 平均值偏差平方和。同列不同小写字母表示相同因素不同水平间多重比较差异显著($P<0.05$)。*表示差异显著($P<0.05$)。
 DEVSQ: Square sum of mean deviation. Different lowercase letters in the same column mean significant differences in multiple comparisons between different levels of the same factor at $P<0.05$. * mean significant differences at $P<0.05$.

主效因素及变异等,我们认为MS+0.5 mg·L⁻¹ 6-BA+0.1 mg·L⁻¹ ZT+0.1 mg·L⁻¹ NAA为走马胎腋芽增殖的最佳培养基配方。

3.3 生根培养

将要生根的走马胎材料接入生根培养基,培养约2周,在剪口基部可见不定根,35天后形成完整根系。4个配方的培养基均能不同程度地诱导走马胎生根,其中(4)号培养基(1/2MS+1.5 mg·L⁻¹ IAA+1.0 mg·L⁻¹ NAA)的效果最好,生根率达92.3%,每株平均根数为3.0条,且根系发达,侧根多,韧性好不易断(图1G);其次为(3)号培养基(1/2MS+1.0 mg·L⁻¹ IAA+1.0 mg·L⁻¹ NAA),生根率为85.6%,每株平均根数为2.5条(图1F)。方差分析结果显示,(3)与(4)号培养基上的材料生根率差异不显著,但(4)号材料的平均根数显著高于(3)号($P<0.05$);(1)和(2)号培养基的效果均不理想,生根率仅分别为65.2%和70.7%,平均根数也仅为1.2和1.9条(图1D, E)。因此,我们认为走马胎的最佳生根培养基为1/2MS+1.5 mg·L⁻¹ IAA+1.0 mg·L⁻¹ NAA。

3.4 生根苗移栽

当生根苗培养至约40天,选择有至少3条、长3 cm以上、白色或浅黄色主根(指从苗茎基部长出的根),茎秆粗壮、叶色深红,且生长良好的瓶苗移至室外炼苗7–10天,之后移栽于园土:泥炭:珍珠岩=3:1:1 (v/v/v)的混合基质中。经过2017年9月下旬至11月上旬移栽约2.5万株,及2018年3月中旬至6月中旬移栽约6万株的实践验证,假植50天的生根苗移栽平均成活率为82% (图1H)。

3.5 讨论

以走马胎嫩枝茎段为外植体,腋芽萌发率及生长状况在含6-BA、ZT和KT的培养基上差异较大。含1.0 mg·L⁻¹ 6-BA和0.5 mg·L⁻¹ ZT的培养基,不仅腋芽萌发率高(分别为89.3%和85.7%),而且茎秆粗壮,整体生长状况良好;而含1.0 mg·L⁻¹ KT的培养基,腋芽萌发率仅为70.0%,且茎细、叶小,生长较差,这与孙英坤等(2017)对同属植物堇叶紫金牛培养的结果相距甚远。腋芽萌发是内外因素综合作用的结果,内源

细胞分裂素、生长素和蔗糖信号等在腋芽萌发过程中发挥重要作用(Müller and Leyser, 2011; 刘拥海等, 2012; Janssen et al., 2014; Mason et al., 2014; Barbier et al., 2015)。例如,细胞分裂素可通过上调A型细胞分裂素响应(type a arabidopsis response regulator, A-ARR)基因的表达,解除生长素对腋芽萌发的抑制作用促进萌发(Müller et al., 2015),且腋芽合成的细胞分裂素可能比根部合成的作用更为重要(Faiss et al., 1997)。因此,推测走马胎与堇叶紫金牛培养中腋芽萌发及生长的效果差异可能与其腋芽自身含有的激素种类和水平不同有关,具体原因尚需进一步研究。

在走马胎腋芽增殖培养中,6-BA是影响其芽苗高度(极差5.0)和增殖系数(极差2.1)的主要因素,远高于ZT (极差1.6和0.8)和NAA (极差1.1和0.9),并且只有6-BA的影响达到显著水平,因此6-BA在走马胎腋芽增殖培养中非常重要。方差分析结果显示,6-BA还存在显著的浓度效应($P<0.05$)。当其浓度为0.5 mg·L⁻¹时,走马胎芽苗高度和增殖系数均达到最高值;当浓度为2.0 mg·L⁻¹时,各配方培养基上的材料则形成大量的白色疏松无效愈伤组织,芽苗生长受阻,并出现变异现象。这与张宝红等(1996)对棉花(*Gossypium hirsutum*)及丁爱萍和史正军(2010)对红掌(*Anthurium andraeanum*)叶片的研究结果相符。但符运柳等(2017)的研究表明,6-BA诱导走马胎叶片愈伤组织分化不定芽的最佳浓度为2.0 mg·L⁻¹。可见,同一植物不同培养途径的具体操作差异也相当大,这也间接说明通过叶片愈伤组织分化途径形成的再生植株变异风险较大,故走马胎种苗生产中利用腋芽增殖方式进行繁殖更具实际意义。此外,考虑到多次继代培养时植物激素在培养材料体内的累积作用,实际操作中应适当减少激素的用量,或与低浓度激素含量的培养基交替使用。

近年来,走马胎作为瑶、壮和苗等少数民族传统药用植物,随着其新功能的不断发现及人们对日常保健的日益重视,需求量增加迅速,野生资源遭到严重破坏,曾经广泛分布的区域现已难觅其踪影(毛世忠等, 2010)。为了满足市场需求,人工种植现已兴起,种苗缺口较大。本研究建立了较完善的走马胎离体快繁技术体系,解决了种苗繁殖问题,为走马胎规模化

种植和开发利用奠定了物质基础并提供了技术保障。

参考文献

- 戴卫波, 董鹏鹏, 梅全喜, 何鉴洪, 张远军 (2018). 走马胎石油醚提取物抗类风湿性关节炎的作用机制. *中药材* **41**, 459–463.
- 邓小梅, 戴小英, 万小婷 (2003). 紫金牛的组织培养. *江西林业科技* (1), 1, 24.
- 丁爱萍, 史正军 (2010). 6-BA对红掌组织培养中红叶变异的影响. *植物生理学通讯* **46**, 571–573.
- 符运柳, 徐立, 李志英, 黄碧兰, 李克烈 (2017). 走马胎离体培养及植株再生. *北方园艺* (4), 98–101.
- 刘拥海, 俞乐, 丁君辉, 王若仲, 黄志刚, 萧浪涛 (2012). 植物激素对分枝发育的协同调控作用研究进展. *植物生理学报* **48**, 941–948.
- 毛世忠, 唐文秀, 骆文华, 邓涛, 丁莉, 隗红燕 (2010). 广西紫金牛属药用植物资源及可持续利用初探. *福建林业科技* **37**, 119–126.
- 穆丽华, 张静, 刘屏 (2018). 走马胎三萜皂苷衍生物的生物转化制备及其抗肿瘤活性研究. *中草药* **49**, 1266–1271.
- 穆丽华, 赵海霞, 龚强强, 周小江, 刘屏 (2011). 走马胎中的三萜皂苷类成分及其体外抗肿瘤活性研究. *解放军药学报* **27**, 1–6.
- 孙英坤, 胡绍庆, 庞基良, 高凯, 刘华红, 陈焕伟, 姚涛, 陈林敬, 沈柏春 (2017). 珍稀濒危物种莖叶紫金牛高效快繁体系的建立. *植物学报* **52**, 764–773.
- 王清, 王蒂, 戴朝曦, 王玉萍 (1997). 萘乙酸、2,4-D对马铃薯愈伤组织细胞染色体倍性的影响. *甘肃农业大学学报* **32**, 304–307.
- 王燕, 汪一婷, 吕永平, 牟豪杰, 李海营, 陈剑平 (2015). 组培增殖方式对网纹草嵌合性状稳定性的影响. *植物学报* **50**, 372–377.
- 张宝红, 李秀兰, 李凤莲, 李付广 (1996). 棉花组织培养中异常苗的发生与转化. *植物学报* **38**, 845–852.
- Barbier F, Péron T, Lecerf M, Perez-Garcia MD, Barrière Q, Rolčik J, Boutet-Mercey S, Citerne S, Lemoine R, Porcheron B, Roman H, Leduc N, Le Gourrierc J, Bertheloot J, Sakr S (2015). Sucrose is an early modulator of the key hormonal mechanisms controlling bud outgrowth in *Rosa hybrida*. *J Exp Bot* **66**, 2569–2582.
- Faiss M, Zalubilová J, Strnad M, Schmölling T (1997). Conditional transgenic expression of the *ipt* gene indicates a function for cytokinins in paracrine signaling in whole tobacco plants. *Plant J* **12**, 401–415.
- Janssen BJ, Drummond RSM, Snowden KC (2014). Regulation of axillary shoot development. *Curr Opin Plant Biol* **17**, 28–35.
- Mason MG, Ross JJ, Babst BA, Wienclaw BN, Beveridge CA (2014). Sugar demand, not auxin, is the initial regulator of apical dominance. *Proc Natl Acad Sci USA* **111**, 6092–6097.
- Müller D, Leyser O (2011). Auxin, cytokinin and the control of shoot branching. *Ann Bot* **107**, 1203–1212.
- Müller D, Waldie T, Miyawaki K, To JPC, Melnyk CW, Kieber JJ, Kakimoto T, Leyser O (2015). Cytokinin is required for escape but not release from auxin mediated apical dominance. *Plant J* **82**, 874–886.

Tissue Culture and Rapid Propagation of *Ardisia gigantifolia*

Fenglun Tang, Jian Zhao, Zhiguo Zhao, Ke Xia, Shuo Qiu^{*}

Guangxi Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences and Guangxi Zhuangzu Autonomous Region, Guilin 541006, China

Abstract In this research, to establish a tissue culture and rapid propagation system of *Ardisia gigantifolia*, tender stem segments was selected as explants, and axillary buds were used to study proliferation. Culture medium of MS+1.0 mg·L⁻¹ 6-BA+0.2 mg·L⁻¹ NAA and MS+0.5 mg·L⁻¹ ZT had a significant effect on axillary bud induction and subculture of previous generations; the induction rates were 89.3% and 85.7%, respectively. The best culture medium for the multiplication was MS+0.5 mg·L⁻¹ 6-BA+0.1 mg·L⁻¹ ZT+0.1 mg·L⁻¹ NAA, and the propagation coefficient was 4.3. The optimal medium for rooting was 1/2MS+1.5 mg·L⁻¹ IAA+1.0 mg·L⁻¹ NAA; the rooting rate reached 92.3%. The roots developed well and plantlets grew vigorously. Plantlets were transplanted to garden soil:peat soil:perlite=3:1:1 (v/v/v), and 82% rooted plants survived. The study established a fast propagation system for *A. gigantifolia* that could be applied to factory production.

Key words *Ardisia gigantifolia*, axillary bud, tissue culture

Tang FL, Zhao J, Zhao ZG, Xia K, Qiu S (2019). Tissue culture and rapid propagation of *Ardisia gigantifolia*. *Chin Bull Bot* **54**, 378–384.

^{*} Author for correspondence. E-mail: qiushuo001@163.com

(责任编辑: 孙冬花)