

网络出版时间:2015-05-11 15:03

DOI:10.13207/j.cnki.jnwfufu.2015.06.020

网络出版地址:http://www.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20150511.1503.020.html

葡萄风信子外植体直接再分化花芽和营养芽的研究

刘妮妮^{a,b},刘雅莉^{a,b},娄倩^{a,c},杨慧萍^{a,b}

(西北农林科技大学 a 旱区作物逆境生物学国家重点实验室/农业部西北地区园艺作物生物学与种质创制重点实验室,
b 林学院,c 园艺学院,陕西 杨凌 712100)

【摘要】 【目的】探索葡萄风信子直接再生花芽体系的建立,为葡萄风信子外植体直接再分化花芽研究提供参考。【方法】以葡萄风信子‘亚美尼亚’花蕾外植体为材料,MS为基础培养基,在均添加 0.1 mg/L 2,4-D 的条件下,分别用不同质量浓度的 6-BA(0,0.5,1,2,3,4 mg/L)、GA₃(0,0.5,1,2,3,4 mg/L)和玉米素(0,0.05,0.1,0.5,1,2 mg/L)处理,筛选出诱导花芽的最佳激素及最适质量浓度;以 MS+6-BA(或玉米素)2 mg/L+2,4-D 0.1 mg/L 研究开花时花瓣切片、花萼、叶片以及叶片诱导的愈伤组织诱导直接再分化花芽的情况。【结果】用 MS+2 mg/L 6-BA+0.1 mg/L 2,4-D 处理葡萄风信子花蕾时,可在花蕾基部直接再分化出具有蓝色的花芽,且花芽分化率最高,达 60.2%。花萼、花瓣切片、叶片和愈伤组织在同样条件下只能诱导产生愈伤组织、营养芽。说明花蕾是诱导花芽分化的最佳外植体,且最适培养基为 MS+2 mg/L 6-BA+0.1 mg/L 2,4-D。【结论】建立了葡萄风信子外植体直接再分化花芽体系。

【关键词】 葡萄风信子‘亚美尼亚’;直接再分化花芽;营养芽;组织培养

【中图分类号】 S682.2⁺9

【文献标志码】 A

【文章编号】 1671-9387(2015)06-0187-06

Direct regenerated floral and vegetative buds from explants of *Muscari armeniacum*

LIU Ni-ni^{a,b}, LIU Ya-li^{a,b}, LOU Qian^{a,c}, YANG Hui-ping^{a,b}

(a State Key Laboratory of Crop Stress Biology in Arid Areas, Ministry of Agriculture Key Laboratory of Horticultural Plant Biology and Germplasm Innovation, b College of Forestry, c College of Horticulture,
Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: 【Objective】 The study investigated the optimal tissue culture conditions for *Muscari armeniacum* to directly induce the regeneration of floral buds. 【Method】 Floral buds explants of *M. armeniacum* were used as materials. With 0.1 mg/L 2,4-D, the buds were treated with different concentrations of 6-BA (0, 0.5, 1, 2, 3, 4 mg/L), GA₃ (0, 0.5, 1, 2, 3, 4 mg/L) and ZT (0, 0.05, 0.1, 0.5, 1, 2 mg/L), respectively to select the optimal induction conditions for bud differentiation. Using MS+2 mg/L 6-BA (or ZT)+0.1 mg/L 2,4-D, effects of different explants including young floral bud, petal segment, pedicel, young leaf and callus on the optimal induction conditions of flower bud were also studied. 【Result】 The optimal induction conditions for bud differentiation were MS+2 mg/L 6-BA+0.1 mg/L 2,4-D. The optimal induction explant was floral bud with induction rate of 60.2%. With the same hormones conditions, pedicel, sliced petals, leaf and callus explants can only be induced to form callus and vegetative buds. So the optimal induction explant is floral buds, optimal induction condition is MS+2 mg/L 6-BA+0.1 mg/L 2,4-D. 【Conclusion】 Optimal culture system for *M. armeniacum* to directly induce the bud differentiation was established.

【收稿日期】 2014-09-08

【基金项目】 国家自然科学基金项目(31170652)

【作者简介】 刘妮妮(1989—),女,陕西榆林人,在读硕士,主要从事园林植物分子育种研究。E-mail:15191461927@163.com

【通信作者】 刘雅莉(1960—),女,陕西西安人,教授,博士生导师,主要从事园林植物遗传育种研究。E-mail:lyl6151@126.com

Key words: *Muscari armeniacum*; direct regeneration of floral buds; vegetative buds; tissue culture

葡萄风信子(*Muscari*)是一种多年生春季球根花卉,属于天门冬科风信子亚科葡萄风信子属。葡萄风信子花期较长,其花序小而精致,花色呈现特殊的蓝色,其繁殖方式主要是以退化的鳞茎进行无性繁殖。此外,葡萄风信子是异花授粉植物,其总状花序通常由顶端的不育花和中下部的可育花组成。可育花为两性花,雌雄同体,其既能在蜜蜂等昆虫的帮助下接受异花的花粉,少数情况也能通过自花授粉正常繁殖后代^[1]。一些品种还存在明显的不育性状,如葡萄风信子‘白魔术’(*M. aucheri* ‘White Magic’)。部分濒危品种如渐变葡萄风信子(*M. latifolium*)和天蓝葡萄风信子(*M. azureum*)等的鳞茎在自然条件下几乎不产生子球或产生子球的速度非常缓慢^[2]。目前对该属物种的快繁和保护主要依靠组织培养技术,针对许多品种的葡萄风信子材料已先后建立了较成熟的快繁体系,如 *M. racemosum*^[3]、*M. macrocarpum*^[4]、*M. aucheri*^[5]、*M. azureum*^[6]、*M. mirium*^[7]和 *M. muscarimi*^[2];关于利用愈伤组织^[8-9]和原生质体构建再生体系^[10]也有一些报道,但是有关葡萄风信子直接再分化花芽的研究尚未见报道。葡萄风信子的 40 多个种展现出不同程度的蓝色^[11],为研究单子叶植物蓝色花形成机理提供了理想的材料。但是通常情况下从播种到实生苗开花至少需要 3 年的时间,生长周期较长,这在一定程度上限制了对植物基因功能验证工作的进展,从而限制了利用分子生物技术进行花色育种的进展。

植物外植体直接再生花芽是在离体条件下诱导外植体经历脱分化和再分化过程后形成花器官。已有报道称在布罗瓦利亚花^[12]、石龙芮^[13]、大蒜^[14]、矮通泉草^[15]等植物的愈伤组织中得到了无叶花芽的直接分化。外植体能否再分化出花芽与其自身的发育、营养组分及激素的种类和用量有密切的关系,且在其他条件相同的情况下,激素的种类和用量起着决定性的作用。本研究利用葡萄风信子‘亚美尼亚’花蕾、花萼、花瓣和幼叶为材料,诱导产生愈伤组织,研究外源激素 6-BA、GA₃、玉米素用量及其与 2,4-D 配比对这些材料诱导产生营养芽和花芽的影响,以期葡萄风信子外植体直接再分化研究提供参考。

1 材料与方 法

1.1 材 料

以葡萄风信子‘亚美尼亚’(*Muscari armenia-*

cum)为材料,于 2014-03 取材于西安植物园,并种植于西北农林科技大学种质资源圃。分别采集盛花期不同花序部位的花蕾及花萼、花瓣和幼叶。

1.2 方 法

1.2.1 材料消毒和培养 将所取材料先用自来水冲洗干净,体积分数 75% 酒精浸泡 30 s 后,用质量分数 0.1% 升汞(氯化汞, HgCl₂)消毒,花蕾和花瓣切片消毒 5 min,花萼和幼叶消毒 10 min,然后用无菌水冲洗 4 次,待用。花蕾和愈伤组织(由 MS+0.6 mg/L 6-BA+0.1 mg/L 2,4-D 培养基诱导产生)直接接种到诱花培养基,花萼和幼叶切成 1 cm 大小的切块后再分别接入诱花培养基,花瓣中间纵切成两半接种。接种后的材料放入白天(20±2)℃,夜晚(20±1)℃的环境中培养,28~30 d 转接一次。分别于添加不同外源激素的 MS 培养基中培养,每隔 5 d 将培养物从三角瓶中取出,在连续变倍实体显微镜(SMZ1500)下拍照记录其外观形态变化。

1.2.2 6-BA 对花蕾花芽和营养芽诱导的影响 以 MS 为基本培养基,加入不同质量浓度的 6-BA 进行处理,6-BA 质量浓度设置为 0,0.5,1,2,3 和 4 mg/L,同时加入 2,4-D 0.1 mg/L。各处理的培养基为蔗糖 30 g/L,植物凝胶 3 g/L,pH 5.8。对照组为不添加任何激素的空 MS。花蕾培养在内盛 30 mL 培养基的玻璃瓶中,使用透气封口膜封口。培养 50 d 后,观察记录从花蕾上直接分化花芽的分化率。

1.2.3 GA₃ 对花蕾花芽和营养芽诱导的影响 以 MS 为基本培养基,加入不同质量浓度的 GA₃ 进行处理,GA₃ 质量浓度设置为 0,0.5,1,2,3 和 4 mg/L,同时加入 2,4-D 0.1 mg/L。各处理的培养基为蔗糖 30 g/L,植物凝胶 3 g/L,pH 5.8。对照组为不添加任何激素的空 MS。花蕾培养在内盛 30 mL 培养基的玻璃瓶中,使用透气封口膜封口。培养 50 d 后,观察记录从花蕾上直接分化花芽的分化率。

1.2.4 玉米素(ZT)对花蕾花芽和营养芽诱导的影响 以 MS 为基本培养基,加入不同质量浓度的玉米素,玉米素质量浓度设置为 0,0.05,0.1,0.5,1 和 2 mg/L,同时加入 2,4-D 0.1 mg/L。各处理的培养基为蔗糖 30 g/L,植物凝胶 3 g/L,pH 5.8。对照组为不添加任何激素的空 MS。花蕾培养在内盛 30 mL 培养基的玻璃三角瓶中,用透气封口膜封口。培养 50 d 后,观察记录从花蕾上直接分化花芽的分化率。

1.2.5 外植体诱导花芽和营养芽的比较 以MS+2 mg/L 6-BA+0.1 mg/L 2,4-D 和 MS+2 mg/L 玉米素+0.1 mg/L 2,4-D 为培养基,培养供试花蕾、花瓣、花萼、幼叶及诱导的愈伤,60 d 后观察其诱导组织情况。

1.2.6 分化率的计算 诱导形成花芽(营养芽、根)分化率=诱导形成花芽(营养芽、根)的外植体数/所培养的外植体总数×100%。

2 结果与分析

2.1 葡萄风信子花芽和营养芽发生的形态学观察

2.1.1 花 芽 观察结果显示,不同发育时期的葡萄风信子花蕾外植体在附加 2 mg/L 6-BA,0.1

mg/L 2,4-D 的 MS 培养基上,只有含苞待放的花蕾可以在其基部直接再生花芽(图 1-A,B),其他类型的花蕾都出现褐化死亡现象。离体培养 5~40 d 的花蕾培养物在连续变倍实体显微镜下所观察到的形态变化如图 1-D—I 所示。外植体接种 5~10 d,花蕾基部和花萼、叶片切口处都可以形成愈伤组织(图 1-D),这些愈伤组织进一步发育形成白色或绿色的原基状突起(图 1-E,F)。培养 20 d 后,原基进一步长大并且有颜色形成(图 1-G)。25 d 后,随着进一步发育,花芽已长到肉眼可见,几片扁平状结构合起来形成花蕾(图 1-H)。40 d 后,扁平状合起来形成的花蕾颜色进一步加深,顶端开裂,成簇的花芽向外翻卷(图 1-I)。对照组花蕾内子房逐渐膨大(图 1-C)。

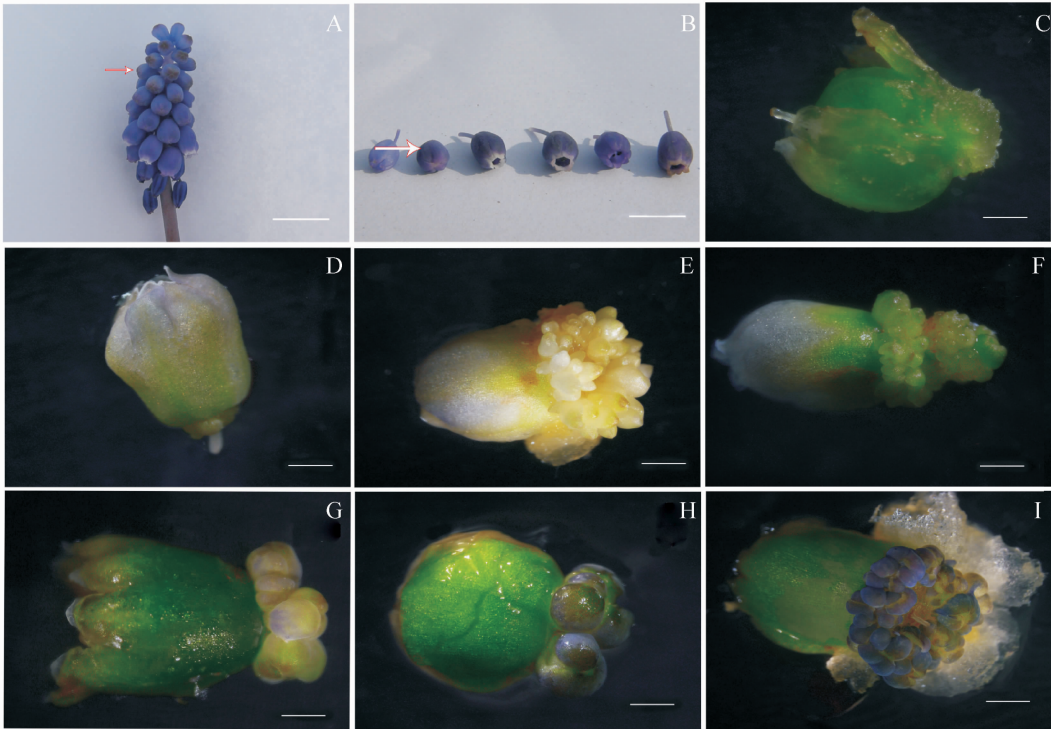


图 1 离体培养葡萄风信子花蕾直接再分化花芽的显微形态观察

A,B. 花蕾外植体材料,箭头所示为诱导花芽的最佳部位,标尺=1 cm;C. 对照组花蕾;
D—I. 花蕾在 MS+2 mg/L 6-BA+0.1 mg/L 2,4-D 培养基中离体培养 5,10,15,20,25,40 d 后的形态;标尺=1 mm
Fig. 1 Micro-morphological changes of direct floral buds regeneration of *Muscari armeniacum* *in vitro*

A,B. Explants,arrow shows the best induction parts of floral buds;Bar=1 cm;C. Floral bud of control;D—I. Micro-morphological changes of young floral buds 5,10,15,20,25,and 40 days after culture *in vitro* at MS+2 mg/L 6-BA+0.1 mg/L 2,4-D medium;Bar=1 mm

2.1.2 营养芽 葡萄风信子外植体在附加 6-BA 和 2,4-D 的 MS 培养基上可诱导营养芽和愈伤组织的发生(图 2-A—I)。培养 1 周后花萼、叶片和花瓣切片边缘均有愈伤组织形成,且愈伤组织表面光滑稍透明;培养时间稍长还可以在外植体表面形成类似的体表愈伤组织。观察这 2 种愈伤组织的特点发现,其均呈肿胀状,因此统称为肿胀状愈伤组织。这些愈伤组织在进一步培养以后表面逐渐形成许多顶

端稍尖的独立个体,完全不透明的乳白色个体为营养芽原基,同时还具有绿色的不定芽(图 2-B)。乳白色原基进一步生长可形成幼叶,幼叶迅速伸长,顶部由乳白色逐渐转变为浅绿色,叶形呈管状(图 2-E)。管状幼叶进一步伸长和加粗,除基部还保持白色外其余部分由浅绿色转为深绿色。初代培养 2 个月后即成为具有小鳞茎的幼苗(图 2-F)。

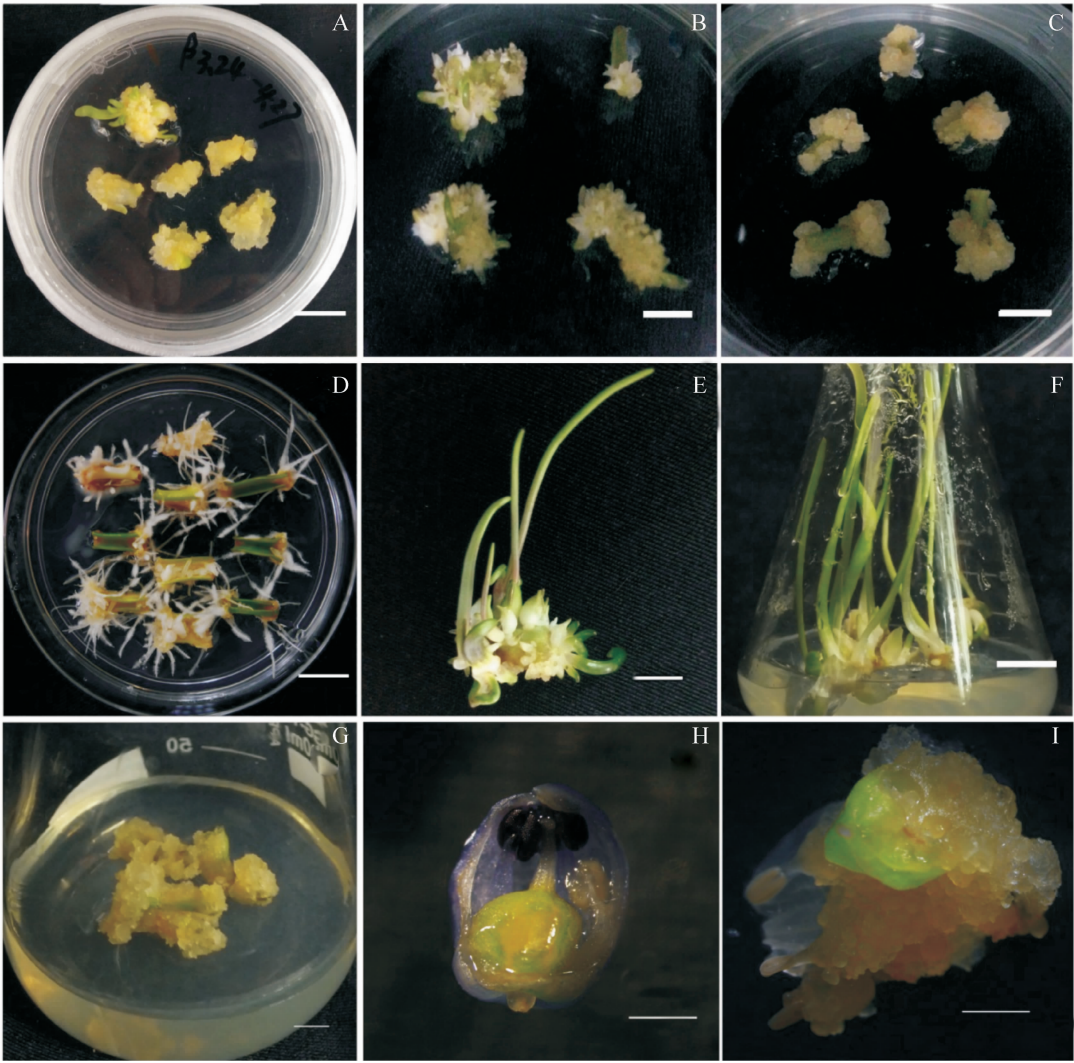


图 2 葡萄风信子花蕾、花萼、幼叶、花瓣切片离体培养直接再生营养芽和愈伤组织

A. 花蕾直接再生不定芽和愈伤组织;B,C. 花萼直接再生不定芽和愈伤组织;D,G. 幼叶直接再生愈伤组织和根毛;

E,F. 不定芽培养 1~2 个月后基部逐渐膨大开始发育成鳞茎;H. 花瓣切块外植体;I. 花瓣切块产生的愈伤组织。标尺=1 cm

Fig. 2 Direct regeneration of floral and vegetative buds from young floral buds,pedicel, young leaf and petal of *Muscari armeniacum* in vitro

A. Direct regeneration of shoots and callus from young floral buds;B,C. Direct regeneration of shoots and callus from pedicel;D,G. Direct regeneration of callus and roots from young leaf;E,F. Shoots for 1-2 months after culture;H. Explants of petal;I. Callus from petal. Bar=1 cm

2.2 外源激素对葡萄风信子再分化花芽和营养芽的影响

为了探索外源激素对离体培养再分化花芽的影响,以葡萄风信子花蕾为外植体进行试验,在培养基中均添加 0.1 mg/L 2,4-D,培养 50 d 后,观察记录从花蕾上直接分化花芽的分化率(表 1)。表 1 结果表明,单独使用 2,4-D 进行处理只能诱导愈伤组织发生。向培养基中添加 6-BA,且 6-BA 质量浓度小于 0.5 mg/L 时,培养的花蕾上无花芽形成,只有愈伤组织和营养芽。在 1 mg/L 6-BA+0.1 mg/L 2,4-D 培养基上,既有营养芽也有花芽,且花芽分化

率为 37.3%;在 2 mg/L 6-BA+0.1 mg/L 2,4-D 培养基上,花芽分化率最高,达 60.2%。进一步计算比较可以看出,当 6-BA 质量浓度大于 2 mg/L 时,营养芽和花芽分化率均有随 6-BA 质量浓度升高而下降的趋势,且分化的花芽和营养芽均不正常,经常呈畸形或玻璃状。当培养基中添加 GA₃ 时,任何质量浓度梯度中都至少有 80%的花蕾外植体分化形成愈伤组织,1 mg/L GA₃+0.1 mg/L 2,4-D 为花蕾愈伤组织诱导的最适培养基,但无营养芽和花芽形成。玉米素和 2,4-D 配合使用时,外植体只能诱导形成愈伤组织,当玉米素质量浓度高于 0.1 mg/L

时,愈伤诱导率为 100%。

表 1 外源激素对葡萄风信子花蕾直接再生花芽的影响

Table 1 Effect of exogenous hormones on direct regeneration of floral buds of *Muscari armeniacum*

外源激素种类 Type of exogenous hormones	激素质量浓度/ (mg · L ⁻¹) Hormone concentration	直接再分化率/% Rate of direct regeneration			
		愈伤组织诱导率 Callus inductivity	花芽分化率 Flower buds frequencies	营养芽分化率 Vegetative buds frequencies	根分化率 Shoots frequencies
6-BA	0	82.4	0	0	32.4
	0.5	100.0	17.1	8.3	11.2
	1	100.0	37.3	21.5	0
	2	20.4	60.2	30.8	0
	3	86.7	25.0	14.4	0
	4	80.0	10.0	10.0	0
GA ₃	0	82.4	0	0	32.4
	0.5	88.6	0	0	0
	1	100.0	0	0	0
	2	95.3	0	0	0
	3	87.5	0	0	0
	4	80.0	0	0	0
玉米素 Zeatin	0	82.4	0	0	32.4
	0.05	85.7	0	0	11.2
	0.1	100.0	0	0	0
	0.5	100.0	0	0	0
	1	100.0	0	0	0
	2	100.0	0	0	0

注:2,4-D 0.1 mg/L,培养 50 d 后,观察记录从花蕾上直接再生花芽和不定芽的频率(被污染的材料未统计在内);数值代表 3 次重复的平均值。
Note:2,4-D 0.1 mg/L,calculated on the 50 day after young floral buds were cultured *in vitro* (The contaminated explants were not calculated). Each value represents the mean of 3 replications.

2.3 葡萄风信子不同器官外植体直接再分化花芽

从表 1 可以看出,花蕾外植体在 MS+6-BA 2 mg/L+2,4-D 0.1 mg/L 培养基上能诱导出花芽,且花芽分化率最高。因此,为了弄清从其他器官上分离的外植体对再分化花芽的影响,选用 MS+6-BA 2 mg/L+2,4-D 0.1 mg/L 培养基对不同器官上分离的外植体进行试验,进一步探讨葡萄风信子各种器官再生花芽的能力;同时以玉米素 2 mg/L

和 2,4-D 0.1 mg/L 的培养基对不同器官上分离的外植体进行试验。结果(表 2)表明,在附加 6-BA 2 mg/L 和 2,4-D 0.1 mg/L 的培养基上,只有花蕾可以诱导形成花芽,幼叶、花萼、花瓣切片和愈伤组织都只能诱导再分化营养芽和愈伤组织。玉米素 2 mg/L 和 2,4-D 0.1 mg/L 的培养基上,所有外植体都只能再分化营养芽或愈伤组织。

表 2 葡萄风信子不同器官离体培养再生诱导情况

Table 2 Floral buds regenerated directly from various organs of *Muscari armeniacum* cultured *in vitro*

培养基 Medium	外植体类型 Type of explants	诱导物类型 Regenrated material
MS+6-BA 2 mg/L+ 2,4-D 0.1 mg/L	幼花蕾 Young floral bud	愈伤、营养芽、花芽 Callus,vegetative buds,floral buds
	花瓣切块 Petal segment	愈伤、营养芽 Callus,vegetative buds
	花萼 Pedicel	愈伤 Callus
	幼叶 Young leaf	愈伤、营养芽 Callus,vegetative buds
	愈伤组织 Callus	愈伤、营养芽 Callus,vegetative buds
MS+玉米素(ZT) 2 mg/L+ 2,4-D 0.1 mg/L	幼花蕾 Young floral bud	愈伤、营养芽 Callus,vegetative buds
	花瓣切块 Petal segment	愈伤、营养芽 Callus,vegetative buds
	花萼 Pedicel	愈伤 Callus
	幼叶 Young leaf	愈伤 Callus
	愈伤组织 Callus	愈伤、营养芽 Callus,vegetative buds

3 讨论与结论

迄今为止,在葡萄风信子中已经清楚了诱导胚

状体、营养芽和根再分化生长素和细胞分裂素的最佳配比^[2,16],但对花芽分化的诱导尚未见报道,在其他植物中虽然已有花芽分化的报道^[17],但进展不

大。从所用的外源激素来看,基本上是 KT(kinetin)或 6-BA 与 IAA 的不同配比。Goh^[18-19] 研究表明,6-BA 可以促进杂种石斛兰整体植株的花芽发端,诱导花芽发生。同时一些研究者发现,适当质量浓度的 6-BA 能够促进植物的花芽分化,但当质量浓度过高或过低时则抑制花芽分化^[20]。可见,不同质量浓度的 6-BA 对花芽分化的影响不同,在使用细胞分裂素时应选择合适的质量浓度。

本研究通过对葡萄风信子‘亚美尼亚’进行组织培养,探讨了不同外植体和外源激素对其离体培养直接再生花芽的影响,结果表明,当 6-BA 质量浓度为 2 mg/L 时,只有花蕾外植体能诱导直接再分化花芽;GA₃ 和玉米素不能诱导花芽。研究结果还表明,MS 培养基中仅附加 2,4-D 只能诱导外植体形成愈伤组织;附加玉米素则能诱导外植体再分化直接形成愈伤组织;附加 GA₃ 只能诱导产生愈伤组织;附加一定比例的 6-BA 与 2,4-D 除能诱导营养芽外,还能诱导形成大量具有蓝色的不正常花芽。

试验中诱导葡萄风信子除花蕾外的外植体产生不正常花芽,经过 2 次继代后长成畸形花芽。造成此结果的原因可能有两种:一是高质量浓度 6-BA 促进花芽分化,抑制其正常开花;二是葡萄风信子属于球根花卉,自然状态下是在夏季花芽分化并经过一段时间的低温春化处理后才正常开花,而本试验中植物材料没有经过低温处理,因此只有花蕾外植体才能诱导出花芽,其他外植体尚需进一步研究。

[参考文献]

[1] Canale A,Benelli G,Benvenuti S. First record of insect pollinators visiting *Muscari comosum* (L.) Miller (Liliaceae-Hyacinthaceae), an ancient Mediterranean food plant [J]. Plant Biosystems,2013,DOI:10. 1080/11263504. 2013. 863810.

[2] Uzun S,Parmaksiz İ,Uranbey S,et al. *In vitro* micropropagation from immature embryos of the endemic and endangered *Muscari muscarimi* Medik [J]. Turkish Journal of Biology, 2014,38:83-88.

[3] Kromer K. The effect of light conditions on regeneration and level of endogenous growth regulators in *Muscari racemosum* L. Mill. bulb-scale sections cultured *in vitro* [J]. Acta Horticulturae,1989,251:173-182.

[4] Ozel C A,Khawar K M,Unal F. *In vitro* axillary bulblet regeneration of Turkish yellow grape hyacinth (*Muscari macrocarpum* Sweet) from twin scale explants [J]. Research Journal of Agriculture and Biological Science,2007,3:924-929.

[5] Uranbey S. Stimulating effects of different basal media and cy-

tokinin types on regeneration of endemic and endangered *Muscari aucheri* [J]. Archives of Biological Science (Belgrade), 2010,62:663-667.

[6] Uranbey S,Ipek A,Caliskan M,et al. *In vitro* bulblet induction from bulb scales of endangered ornamental plant *Muscari azureum* [J]. Biotechnology and Biotechnological Equipment, 2010,24:1843-1848.

[7] Nasircilar A G,Mirici S,Karaguzel O,et al. *In vitro* propagation of endemic and endangered *Muscari mirum* from different explant types [J]. Turkish Journal of Botany,2011,35:37-43.

[8] Suzuki S,Nakano M. Agrobacterium-mediated production of transgenic plants of *Muscari armeniacum* Leichtl. ex Bak [J]. Plant Cell Report,2002,20:835-841.

[9] Mori S,Nakano M. Somatic embryo induction from leaf and flower bud-derived calli in several *Muscari* species and cultivars [J]. Propagation of Ornamental Plants,2004,4:58-62.

[10] Nakano M,Tanaka S,Kagami S,et al. Plantlet regeneration from protoplasts of *Muscari armeniacum* Leichtl. ex Bak [J]. Plant Biotechnology,2005,22:249-251.

[11] Doussi M A,Thanos C A. Ecophysiology of seed germination in *Mediterranean geophytes*. 1: *Muscari* spp. [J]. Seed Science Research,2002,12(3):193-201.

[12] Ganapathy P S. Floral morphogenesis and flowering in aseptic cultures of *Browallia demissa* L [J]. Biologia Plantarum, 1969,11(2):165-174.

[13] Konar R N,Nataraja K. *In vitro* control of floral morphogenesis in *Ranunculus sceleratus* L [J]. Phytomorphology,1964, 14:558-563.

[14] Chaouat L. Flowers formation from callus in garlic(*Allium sativum* L.) [J]. Bull Soc Bot Fr,1983,130(1):9-14.

[15] Raste A P,Ganapathy P S. *In vitro* behavior of inflorescences segments of *Mazus plumilus* [J]. Phytomorphology,1970, 20:367-374.

[16] Azad M A K,Amin M N. Effects of hormonal and basal nutrient medium on *in vitro* regeneration of an ornamental plant *Muscari armeniacum* Leichtlin. ex Baker [J]. Plant Tissue Culture Biotechnology,2012,22:113-126.

[17] Yu H,Ito T,Zhao Y X,et al. Floral homeotic genes are targets of gibberellin signaling in flower development [J]. USA Proceedings of the National Academy of Sciences,2004,101 (20):7827-7832.

[18] Goh C J. Flowering gradient along the stem axis in an orchid hybrid *Aranda deborah* [J]. Ann Bot,1975,39:931-934.

[19] Goh C J. Hormonal regulation of flowering in a sympodial orchid hybrid *Dendrobium Louisae* [J]. New Phytol,1979,82: 375-380.

[20] Nadgauda R S,John C K,Parasharami V A,et al. A comparison of *in vitro* and *in vitro* flowering in bamboo; *Bambusa arundinacea* [J]. Plant Cell Tissue Culture,1997,48: 181-188.