doi: 10.3724/CBB-2026-0066

飞寒樱组培快繁及再生技术

牛晓彤[1†], 孟雨[1†], 韦应娟[1], 杨婉玉[1], 沈鑫[2], 蒋冬月[2], 孙苗[1*]

[1]果蔬园艺作物种质创新与利用全国重点实验室, 华中农业大学园艺林学学院, 武汉 430070; [2]浙江省林业科学研究院, 杭州 310023

摘要 为解决飞寒樱(*Prunus campanulata* ‘Feihan’)苗木规模化繁育瓶颈, 以带芽茎段、种子、叶片为外植体, 系统优化外植体消毒、培养基配方及生根移栽等关键技术, 建立高效组培快繁与再生体系。结果表明, 带芽茎段最佳消毒方案为 3 月采集+75%乙醇 30 秒+0.1% $HgCl_2$ 7 分钟(污染率 12.50%、褐化率 29.17%), 最适启动培养基为 1/2MS+2.0 mg·L^{-1} 6-BA +0.2 mg·L^{-1} NAA (萌发率 74.44%), 增殖培养基为 MS+0.5 mg·L^{-1} ZT+0.1 mg·L^{-1} NAA+1.0 mg·L^{-1} GA_3 (增殖系数 3.63); 种子最佳消毒方案为 75%乙醇 30 秒+0.1% $HgCl_2$ 15 分钟+1% PPM 浸泡 4 小时(污染率 6.38%), 萌发培养基为 MS+2.0 mg·L^{-1}6-BA+0.2 mg·L^{-1} NAA+ 2.0 mg·L^{-1} GA_3 (萌发率 87.78%, 增殖系数 3.16); 叶片最佳消毒方案为 75%乙醇 30 秒+0.1% $HgCl_2$ 3 分钟(污染率 14.78%, 褐化率 25.45%), 愈伤诱导培养基为 WPM+0.5 mg·L^{-1} 6-BA +2.0 mg·L^{-1} 2,4-D (诱导率 77.35%), 分化培养基为 MS+1.0 mg·L^{-1} 6-BA+0.2 mg·L^{-1} 2,4-D +2.0 mg·L^{-1} TDZ+200 mg·L^{-1} 水解酪蛋白(分化率 24.44%); 生根培养基为 1/2MS+0.8 mg·L^{-1} IBA+0.2 mg·L^{-1} NAA (生根率 82.22%, 平均根数 9.2 条), 泥炭土:珍珠岩:蛭石(2:1:1, v/v/v)移栽成活率 85.56%。研究建立飞寒樱不同部位外植体组培体系, 为樱亚属植物特定品种的组培技术优化提供理论参考与技术支撑。

关键词 飞寒樱, 组培快繁, 再生体系, 外植体消毒, 培养基优化

牛晓彤, 孟雨, 韦应娟, 杨婉玉, 沈鑫, 蒋冬月, 孙苗 (2026). 飞寒樱组培快繁及再生技术. 植物学报 **61**, 1–12.

钟花樱(*Prunus campanulata*)为蔷薇科李属典型樱亚属(*Prunus* subgenus *Cerasus*)植物(Wang et al., 2026), 由于其开花早、花色浓艳、观赏价值高, 位列四大观赏樱花之一(王运昌等, 2024)。其作为优良的本土树种, 广泛分布于我国的闽、赣、粤等省份, 开发利用潜力巨大(王贤荣和黄国富, 2001)。飞寒樱(*P. campanulata* ‘Feihan’)是从钟花樱中选育出的综合性状优异的栽培观赏品种, 具有花期早、花量大、花色亮粉等优势; 同时, 该品种生长迅速、适应性强、抗病虫害能力突出, 具备良好的产业化开发前景与推广应用价值(胡娜等, 2025)。当前市场对其胸径 4 cm 以上苗木需求旺盛, 苗木单价高, 经济效益好。然而, 现有飞寒樱的研究多集中在园林应用(张艳芳, 2016)和栽培管理(高照亮等, 2021)方面, 关于其繁殖技术的研究相对较少。

除实生繁殖已有一定报道(段晓梅, 2002; 况红玲等, 2020)外, 嫁接繁殖方面仅发现其近缘本种钟花樱适合作为砧木(周玲, 2022), 应用范围较为局限。扦插繁殖与嫁接繁殖相比成活率较低, 长势较慢, 树形直立性偏弱, 对扦插季节、环境、插穗选择等方面有较高的要求(Wang et al., 2005; 邹娜等, 2007), 且插条生根率较低, 易受插条数量的限制(Exadaktylou et al., 2006)。相比之下, 植物组织培养技术具有繁殖系数高、育苗周期短、可周年生产的优势, 是解决樱亚属观赏植物规模化育苗难题的有效途径, 开展飞寒樱等优良观赏品种的组培快繁非常必要(陈传红和古晓斌, 2019)。

樱亚属植物组培研究已取得一定进展, 钟花樱、富士樱(*P. incisa*)、雪落樱(*P. xueluoensis*)等的组培快繁体系相继建立, 明确了外植体选择、消毒方案、植物生长调节剂配比等关键技术参数(王光萍和黄敏仁, 2002; 史港影等, 2014; 雷巾茗, 2020)。以钟花樱为例, 闫道良等(2006)以种子无菌苗为外植体, 建立了完整的钟花樱组培再生体系, 明确 6-苄基腺嘌呤(6-BA)与萘乙酸(NAA)的合理配比可显著提升种子萌发率, 确定了芽诱导的最优激素组合及浓度参数; 王贤荣和荣冬青(2008)在此基础上进一步优化, 通过正交试验验证了不同外植体类型的适配性, 明确带芽茎段为丛生芽诱导的最佳外植体, 叶片为最优愈伤诱导外植体。黄宇翔等(2006)也通过 6-BA 和 NAA 的调配建立了钟花樱的生根培养体系。然而,

收稿日期: 2026-03-26; 接受日期: 2026-06-22

基金项目: 华中农业大学园艺林学学院 SRF 飞寒樱的组织培养和快速繁殖项目(2024YLSRF11)和华中农业大学高层次人才启动经费(11042210014)

† 共同第一作者

* 通讯作者。E-mail: miaosun@mail.hzau.edu.cn

© 植物学报 Chinese Bulletin of Botany

樱亚属不同品种间生物学特性差异显著，导致组培技术通用性较差，如 6-BA 对部分品种芽增殖效果不佳(徐晨捷, 2020)，替换为玉米素(ZT)等特异性植物生长调节剂可能有效改善增殖效果(Cao et al., 2002)；同时，种子内生菌污染、外植体褐化等共性难题的解决方案也需针对性优化(张帆等, 2018；温璐华和武瑞娜, 2020；吕国昊和赵杰堂, 2021)。截至目前，飞寒樱的研究仅集中于栽培管理、嫁接技术等方面(高照亮等, 2021；周玲, 2022)，其组培快繁及再生技术尚未见系统报道，相关核心技术(如不同部位外植体消毒、植物生长调节剂组合优化、愈伤分化调控)仍有待突破，严重制约了产业规模化发展。

针对上述产业痛点与技术欠缺，本研究以飞寒樱带芽茎段、种子、叶片为外植体，系统优化组培再生关键环节，建立高效快繁体系，为飞寒樱规模化育苗及樱亚属植物组培技术优化提供支撑。

1 植物材料

本研究所用飞寒樱(*P. campanulata* ‘Feihan’)外植体采集于武汉市龟山公园樱花栈道(114.28°E, 30.56°N)，2023 年 3–6 月中旬采集茎段、叶片外植体，6 月采集成熟果实，去除果肉晾干后种子可进行 4°C 冷藏储存，经冷层积处理后作为种子外植体(图 1)。

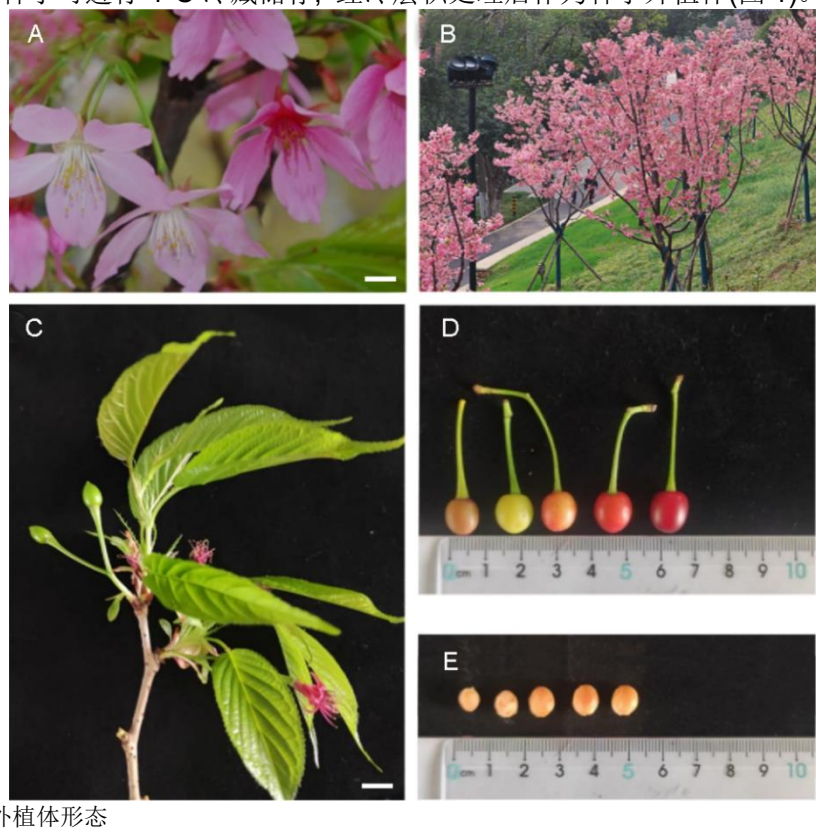


图 1 飞寒樱外植体形态

(A), (B) 花期植株; **(C)** 带腋芽茎段; **(D)** 不同成熟期果实; **(E)** 不同成熟期种子。Bars=1 cm

Figure 1 Morphology of Feihan explants

(A), (B) Plants in flowering period; **(C)** Stem segments with axillary buds; **(D)** Fruits at different maturity stages; **(E)** Seeds at different maturity stages. Bars=1 cm

2 培养基成分与培养条件

2.1 无菌苗获取

带芽茎段：选取健壮枝条，去除叶片并保留 0.5 cm 叶柄，剪切成 2–3 cm 带芽茎段。洗衣粉溶液清洗后流水冲洗 2 小时，转入超净工作台备用；消毒采用 75%乙醇 30 秒搭配 10% NaClO(3、6、8 分钟)或 0.1% $HgCl_2$ (3、5、7 分钟)进行，消毒后的外植体接种至培养基，每瓶接种 1 株，每处理 30 瓶，30 天统计污染率和褐化率；同步探究 3-6 月不同采集时间的消毒效果。

取 4°C 冷藏的种子机械破壳，用洗衣粉溶液浸泡后流水冲洗 1 小时。消毒采用 75%乙醇 30 秒搭配 0.1% $HgCl_2$ (10、12、15 分钟)，结合 1%、2%、4% 植物组培抗菌剂 PPM (plant preservative mixture)浸泡 0、2、4 小时处理，每处理接种 30 枚种子，7 天统计污染率。

选取无病虫害的新鲜叶片，用毛笔清除表面灰尘，洗衣粉溶液浸泡后流水冲洗 1 小时转入超净工作台。用 75%乙醇处理 30 秒后，分别用 10% NaClO (1、3、5 分钟)或 0.1% $HgCl_2$ (1、3、5 分钟)消毒，将消毒后的叶片切成 1 cm × 1 cm 小块，每板接种 5-6 片，每处理 15 板，30 天统计污染率和褐化率。

2.2 芽诱导与增殖

带芽茎段接种于 MS、WPM、1/2 MS 培养基，搭配 6-BA (0.5、1.0、2.0 mg·L^{-1})和 NAA (0.1、0.2、0.3 mg·L^{-1})，30 天统计萌发率；增殖阶段以 MS 为基础培养基，设置 ZT (0.3、0.5、1.0 mg·L^{-1})梯度，搭配 NAA (0.1、0.3、0.5 mg·L^{-1})和赤霉素(GA_3) (0.5、1.0、1.5 mg·L^{-1})，45 天统计增殖系数和有效芽率。

2.3 种子离体萌发

以 MS 为基础培养基，设置 6-BA (1.0、1.5、2.0 mg·L^{-1})、NAA (0.1、0.2、0.3 mg·L^{-1})、GA_3 (1.0、1.5、2.0 mg·L^{-1})梯度组合，45 天统计萌发率和增殖系数。

2.4 愈伤组织诱导与分化

叶片接种于 MS、WPM、1/2MS 培养基，搭配 6-BA (0.5、1.0、2.0 mg·L^{-1})和 2, 4-二氯苯氧乙酸(2,4-D) (1.0、1.5、2.0 mg·L^{-1})，暗培养 5 天后转光照，20 天统计愈伤诱导率；愈伤组织接种于含 6-BA (0.5、1.0、2.0 mg·L^{-1})、2,4-D (0.1、0.2、0.5 mg·L^{-1})、噻苯隆(TDZ) (0.5、1.0、2.0 mg·L^{-1})的 MS 培养基，添加 200 mg·L^{-1} 水解酪蛋白，30 天统计分化率。

2.5 生根培养与移栽

健壮芽苗接种于 1/2MS 培养基，搭配吲哚-3-丁酸(IBA) (0.4、0.8 mg·L^{-1})和 NAA (0.2、0.5 mg·L^{-1})，45 天统计生根率和平均根数；炼苗 2–3 天后，移栽至用 1 000 倍多菌灵液消毒的泥炭土: 珍珠岩: 蛭石(2:1:1, v/v/v)基质中，闷苗箱罩住幼苗，30 天后统计成活率。

2.6 培养条件与数据分析

培养基含蔗糖 30 g·L^{-1}、琼脂 7 g·L^{-1}，pH 5.8–6.0，121°C、1.1 kg·cm^{-2} 灭菌 15 分钟；培养温度(25±2)°C，光周期 16 小时光照/8 小时黑暗，光照强度 37 μmol·m^{-2}·s^{-1}。采用 SPSS 27.0 进行方差分析(ANOVA)和 Duncan 多重比较，并对结果进行总结和描述(P<0.05 为差异显著，P<0.001 为极差异显著，数据以平均值±标准误表示)。

本试验观测统计的各指标计算公式:

污染率=污染的外植体数/接种的外植体总数×100%;

褐化率=产生褐化的外植体数/接种外植体总数×100%;

愈伤组织诱导率=愈伤组织总数/接种的材料总数×100%;

分化率=分化出不定芽的愈伤组织块数/接种总块数×100%;

萌发率=萌发的外植体数/接种的外植体总数×100%;

芽增殖系数=增殖的总芽数/接种的总芽数;

有效芽率=有效芽数(高度＞1 cm 的芽)/增殖的总芽数×100%;

生根率=已生根芽数/接种的总芽数×100%;

平均根数=已生根芽的根总数/生根芽数;

移栽成活率=移栽成活株数/移栽总株数×100%

3 结果与讨论

3.1 不同消毒方案对外植体消毒效果的影响

3.1.1 带芽茎段消毒效果

以 75%乙醇 30 秒预处理后，分别搭配 10% NaClO (3、6、8 分钟)或 0.1% $HgCl_2$ (3、5、7 分钟)对带芽茎段进行消毒，不同处理对带芽茎段的消毒效果存在显著差异(表 1)。

10% NaClO 处理组随着消毒时间延长，外植体污染率从 65.00%显著降至 20.00%，褐化率则从 3.33%升至 22.66%; $HgCl_2$ 处理组呈现相似变化趋势，0.1% $HgCl_2$ 消毒 7 分钟时污染率最低为 12.50%，褐化率达 29.17%。相同消毒时长下，0.1% $HgCl_2$ 消毒效果优于 10% NaClO 处理。方差分析结果显示，0.1% $HgCl_2$ 与 10% NaClO 在带芽茎段消毒效果和茎段褐化率方面均表现出极显著差异(P<0.001)。

此外，采集时间对带芽茎段消毒效果的影响显著(表 2)，随着木质化程度的加深(即，采集时间越晚)，带芽茎段污染率逐渐上升。3 月采集的茎段污染率为 19.43%、存活率达 74.44%，6 月污染率升至 97.78%、存活率为 0。因此，带芽茎段最优消毒方案为: 3 月采集+75%乙醇 30 秒+0.1% $HgCl_2$ 7 分钟。

表 1 茎段消毒体系
Table 1 Disinfection system for stem segments

Treatments	Processing time		Contamination rate (%)	Browning rate (%)
	10% NaClO (min)	0.1% $HgCl_2$ (min)		
1	3	0	65.00±7.26 a	3.33±2.36 b
2	6	0	46.67±4.51 b	8.33±5.53 b
3	8	0	20.00±4.08 c	22.66±9.46 ab
4	0	3	47.33±5.62 b	4.44±2.22 b
5	0	5	21.67±2.89 c	23.33±9.13 ab
6	0	7	12.50±1.60 c	29.17±4.59 a

数据为平均值±标准差; 同列不同小写字母表示差异显著(P<0.05)。
The data are means ± SD; Different lowercase letters in the same column indicate significant differences (P<0.05).

表 2 不同采集时期对带芽茎段消毒的影响
Table 2 Effects of different collection periods on sterilization of bud-bearing stem segments

Collection period	Pollution rate (%)	Survival rate (%)
March	19.43±9.75 b	74.44±8.61 a
April	37.83±17.85 b	58.17±16.84 a
May	83.31±10.02 a	11.11±11.71 b
June	97.78±3.95 a	0.00±0.00 b

数据为平均值±标准差; 同列不同小写字母表示差异显著(P<0.05)。
The data are means ± SD; Different lowercase letters in the same column indicate significant differences (P<0.05).

3.1.2 种子消毒效果

飞寒樱种子内生菌污染严重, 采用 75%乙醇+0.1%$HgCl_2$+PPM 复合消毒策略, 消毒效果显著(表 3)。随着 0.1% $HgCl_2$ 消毒时间的延长, 种子平均污染率显著降低, 结合 4% PPM 浸泡 2 h 时污染率最低仅 6.38%, 表明 PPM 可显著提升种子消毒效能。方差分析显示, $HgCl_2$ 消毒时间、PPM 浸泡时间、PPM 浸泡浓度对种子消毒效果的影响均达极显著水平(P<0.001)。综合消毒效果及经济效益, 处理 7 (75%乙醇 30 秒+0.1% $HgCl_2$ 15 分钟+1% PPM 4 小时)为种子最优消毒方案。

表 3 种子消毒方案优化结果
Table 3 Optimization results of seed disinfection protocols

Treatments	0.1% $HgCl_2$ (min)	PPM concentration (%)	PPM time (h)	Contamination rate (%)
1	10	1	0	66.67±10.18 a
2	10	2	2	39.66±5.32 b
3	10	4	4	26.48±1.77 bcd
4	12	1	2	31.00±3.79 bc
5	12	2	4	16.09±3.30 cde
6	12	4	0	35.19±2.89 b
7	15	1	4	14.78±2.48 de
8	15	2	0	28.29±4.63 bcd
9	15	4	2	6.38±2.34 e

数据为平均值±标准差; 同列不同小写字母表示差异显著(P<0.05)。
The data are means ± SD; Different lowercase letters in the same column indicate significant differences (P<0.05).

3.1.3 叶片消毒效果

以 75%乙醇和 10% NaClO 溶液或 0.1% $HgCl_2$ 为消毒剂, 不同消毒处理效果差异显著(表 4)。污染率随消毒时间延长下降, 叶片褐化率则随消毒时间的延长而升高。方差分析结果表明, 两种消毒剂类型对叶片污染率的影响存在极显著差异(P<0.001), 对褐化率的影响也存在显著差异(P=0.0179)。多重比较显示, 在相同处理时间下, 0.1% $HgCl_2$ 处理的消毒效能优于 10% NaClO, 但两者的褐化率无显著差异。综合以上表现, 0.1% $HgCl_2$ 3 分钟处理组的叶片污染率 14.78%、褐化率 25.45%, 平衡效果最优, 为叶片最优消毒方案。

表 4 叶片消毒方案优化结果

Table 4 Optimization results of leaf sterilization protocol

Treatments	10% NaClO time (min)	0.1% $HgCl_2$ time (min)	Pollution rate (%)	Browning rate (%)
1	1	0	56.13±2.20 a	9.67±1.64 c
2	3	0	32.36±6.01 b	26.07±5.00 ab
3	5	0	27.32±3.06 bc	30.66±2.29 a
4	0	1	53.86±5.45 a	11.94±2.80 bc
5	0	3	14.78±9.32 c	25.45±8.16 ab
6	0	5	11.39±2.74 c	31.67±4.19 a

数据为平均值±标准差; 同列不同小写字母表示差异显著(P<0.05)。

The data are means ± SD; Different lowercase letters in the same column indicate significant differences (P<0.05).

3.2 不同处理对芽诱导与增殖的影响

‘飞寒樱’的带芽茎段在大部分处理条件下均能诱导出芽苗, 但其萌发率和生长状态存在差异(图 2A–I)。处理 9 的萌发率最高, 达 74.44%, 但其对腋芽萌发的影响与除处理 4、7 外的各处理均无显著差异(表 5)。方差分析表明, 培养基类型(P=0.945)和 NAA (P=0.87)对飞寒樱腋芽萌发率的影响均未达到显著水平; 而 6-BA 对萌发率的影响存在极显著差异(P<0.001), 随着 6-BA 浓度的升高, 芽诱导率上升。综合萌发率与芽体状态, 确定处理 9 (1/2MS+6-BA 2.0 mg·L^{-1} +NAA 0.2 mg·L^{-1})为飞寒樱带芽茎段的最优启动培养方案。

增殖阶段, 切取诱导培养基上生长健壮的芽苗, 接种于添加 ZT、NAA 和 GA_3 的 MS 培养基中进行增殖培养, 约 15 天后长出新芽(图 2J–R)。其中处理 4 (MS+0.5 mg·L^{-1} ZT+0.1 mg·L^{-1} NAA+1.0 mg·L^{-1} GA_3)的增殖系数最高(表 6), 达 3.63, 且芽体生长健壮, 有效芽率为 69.66%, 故确定该组合为最优增殖培养基。方差分析结果显示, 在增殖系数方面, ZT 和 GA_3 的影响均达到极显著差水平(P<0.001), NAA 的影响达到显著水平(P=0.011); 而在有效芽率方面, 仅 NAA 表现出显著影响(P=0.006), 而 ZT 和 GA_3 的影响均不显著(P>0.05)。

表 5 带芽茎段启动培养基优化结果

Table 5 Optimization results of starter medium for bud-bearing stem segments

Treatments	Culture medium	6-BA (mg·L^{-1})	NAA (mg·L^{-1})	Germination rate (%)	Growth state
1	MS	0.5	0.1	46.67±11.71 ab	+
2	MS	1	0.2	48.89±4.01 ab	+
3	MS	2	0.3	62.22±10.94 a	+++
4	WPM	0.5	0.2	32.22±7.78 b	+
5	WPM	1	0.3	59.45±6.41 ab	++
6	WPM	2	0.1	70.00±8.82 a	+++
7	1/2MS	0.5	0.3	32.22±6.19 b	+
8	1/2MS	1	0.1	47.78±11.76 ab	+
9	1/2MS	2	0.2	74.44±1.11 a	+++

+表示长势一般, ++表示长势良好, +++表示长势旺盛。

+ indicates moderate growth, ++ indicates good growth, and +++ indicates vigorous growth.

表 6 芽增殖培养基优化结果

Table 6 Optimization results of bud propagation medium

Treatments	ZT (mg·L^{-1})	NAA (mg·L^{-1})	GA_3 (mg·L^{-1})	Proliferation coefficient	Effective bud rate (%)	Growth status
1	0.3	0.1	0.5	1.77±0.12 ef	59.90±3.93 d	++
2	0.3	0.3	1	2.08±0.07 e	61.86±3.77 cd	++
3	0.3	0.5	1.5	1.53±0.09 f	80.51±0.86 a	+
4	0.5	0.1	1	3.63±0.13 a	69.66±1.57 bc	+++
5	0.5	0.3	1.5	3.31±0.07 b	71.44±1.40 b	+++
6	0.5	0.5	0.5	2.87±0.11 cd	71.03±1.38 b	++
7	1	0.1	1.5	2.80±0.10 cd	60.55±4.28 d	++
8	1	0.3	0.5	2.57±0.08 d	64.63±4.80 bcd	+++
9	1	0.5	1	2.94±0.17 c	67.06±1.84 bcd	++

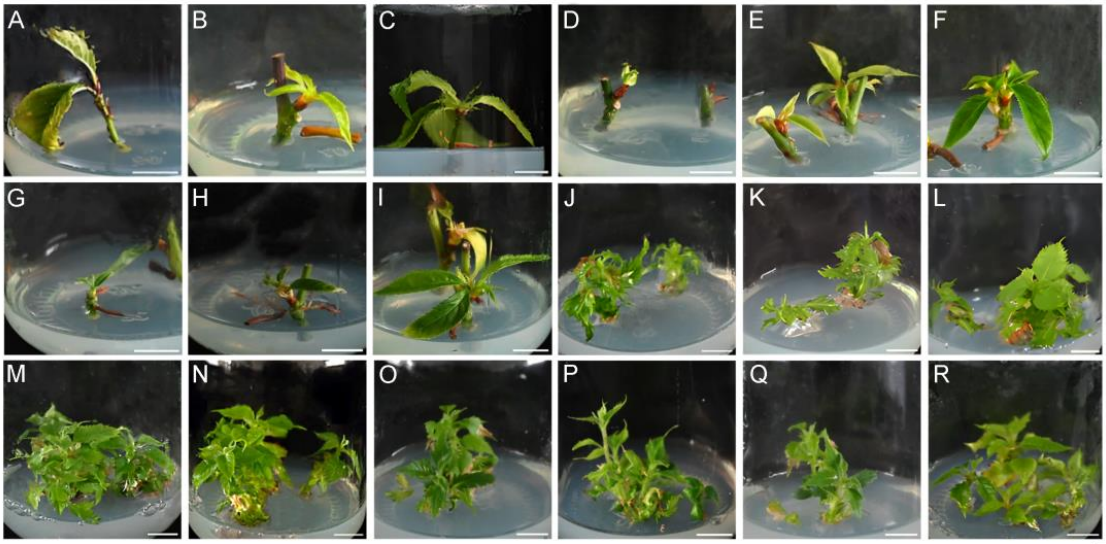


图 2 不同培养基中飞寒樱芽诱导与增殖的生长情况
(A)–(I) 对应表 5 中的不同诱导配方(处理 1–9); **(J)–(R)** 对应表 6 中的不同增殖配方(处理 1–9)。Bars=1 cm
Figure 2 Growth status of Feihan bud induction and proliferation in different media
(A)–(I) correspond to the different induction formulas in Table 5 (treatments1–9); **(J)–(R)** correspond to the different proliferation formulas in Table 6 (treatments1–9). Bars=1 cm

3.3 不同植物生长调节剂组合对种子萌发的影响

不同组合对种子萌发的影响差异较大(表 7)。其中以处理 5(MS+2.0 mg·L^{-1} 6-BA+0.2 mg·L^{-1} NAA+2.0 mg·L^{-1} GA_3)处理的种子萌发率最高，达 87.78%，显著优于处理 7 以外的其他各处理。接种 4–5 天后，即观察到培养基中有部分种胚子叶开始转绿(图 3C)，种子逐渐开始萌发；接种 10–20 天内可观察到 2-3 片真叶展开(图 3D)；接种 30 天后可见部分成形的无菌芽(图 3F)；至接种 45 天时，全部种子完成萌发。

方差分析结果表明，6-BA 对种子萌发的影响达显著水平(P=0.036)，总体呈现先升后降的趋势，在浓度为 2.0 mg·L^{-1} 时平均萌发率最高；而 NAA 和 GA_3 对种子萌发的影响均不显著(P>0.05)。综合各项指标，处理 5 (MS+2.0 mg·L^{-1} 6-BA + 0.2 mg·L^{-1} NAA + 2.0 mg·L^{-1} GA_3)为种子萌发的最优组合。

表 7 种子萌发培养基优化结果
Table 7 Optimization results of seed germination medium

Treatments	6-BA (mg·L^{-1})	NAA (mg·L^{-1})	GA_3 (mg·L^{-1})	Germination rate (%)
1	1	0.1	1	54.92±9.48bc
2	1	0.2	1.5	40.89±7.56cd
3	1	0.3	2	23.89±4.45d
4	2	0.1	1.5	47.78±9.24bc
5	2	0.2	2	87.78±2.56a
6	2	0.3	1	46.74±10.07bc
7	3	0.1	2	68.89±4.01ab
8	3	0.2	1	48.21±8.21bc
9	3	0.3	1.5	53.23±2.72bc

数据为平均值±标准差；同列不同小写字母表示差异显著(P<0.05)。
The data are means ± SD; Different lowercase letters in the same column indicate significant differences (P<0.05).

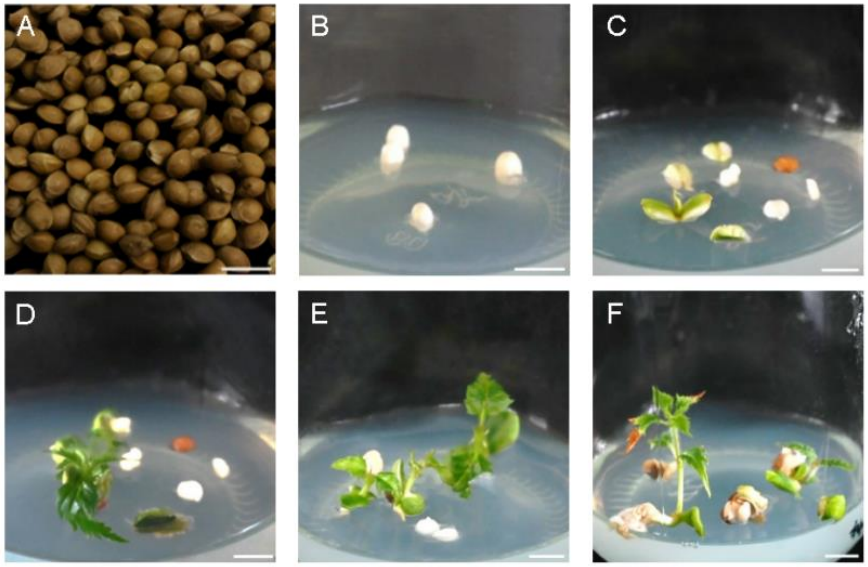


图 3 飞寒樱种子萌发状态

(A) 飞寒樱种子状况; **(B)–(F)** 表 7 中处理 5 的生长状态, **(B)** 刚接种时; **(C)** 接种 4–5 天后; **(D)** 接种 10 天后; **(E), (F)** 接种 25 天后。Bars=1 cm

Figure 3 Germination status of 'Feihan' seeds

(A) Seeds overview; **(B)–(F)** Growth status under treatment 5 in Table 7, **(B)** just after inoculation; **(C)** 4–5 d after inoculation; **(D)** 10 d after inoculation; **(E), (F)** 25 d after inoculation. Bars=1 cm

3.4 不同处理对愈伤组织诱导与分化的影响

如表 8 所示, 所有处理均可诱导出愈伤组织。多重比较结果表明, 处理 5 和处理 7 的愈伤组织诱导率均处于较高水平, 处理 7 显著高于其余七个处理(P<0.05), 各处理间的愈伤组织质量亦差异明显。其中以处理 7 (WPM+0.5 mg·L^{-1} 6-BA+2.0 mg·L^{-1} 2,4-D)的诱导效果最佳, 诱导率达 77.35%。方差分析结果显示, 不同培养基类型对愈伤组织诱导率的影响未达到显著水平(P=0.436), 但不同培养基类型对愈伤组织质量的影响存在明显差异。以 WPM 培养基诱导出的愈伤组织质量最优, 结构致密, 颜色偏浅黄、乳白色, 多为胚性愈伤组织(图 4G–I)。此外, 6-BA 浓度对诱导率的影响亦不显著(P=0.175), 而 2,4-D 浓度的影响达到显著水平(P=0.022), 在 2,4-D 各浓度梯度中, 2.0 mg·L^{-1} 处理组的诱导率最高, 总体呈现随浓度升高而增加的趋势。

将愈伤组织接种到分化培养基后, 处理 1、4、5、8 均能诱导不定芽分化。多重比较结果表明, 处理 5 (MS+1.0 mg·L^{-1} 6-BA+0.2 mg·L^{-1} 2,4-D+2.0 mg·L^{-1} TDZ)的愈伤分化效果最佳, 分化率达 24.44%, 显著高于除处理 4 和 8 以外的所有处理(表 9)。培养过程中, 不同处理的愈伤组织发育状态存在差异: 部分愈伤组织表面出现零星的绿色, 随时间推移逐渐增多, 后续少部分绿色愈伤进一步分化出芽; 而未分化出芽的愈伤组织则逐渐发黑萎缩, 随着培养时间延长褐化死亡(图 4J–R)。

表 8 愈伤诱导培养基优化结果

Table 8 Optimization results of callus induction medium

Treatments	Culture medium	6-BA (mg·L^{-1})	2,4-D (mg·L^{-1})	Induction rate (%)
1	MS	0.5	1	39.09±10.48 b
2	MS	1	1.5	40.18±7.73 b
3	MS	2	2	54.07±5.70 b
4	1/2MS	0.5	1.5	51.63±6.76 b
5	1/2MS	1	2	56.77±8.31 ab
6	1/2MS	2	1	37.13±11.98 b
7	WPM	0.5	2	77.35±4.44 a
8	WPM	1	1	31.79±3.44 b
9	WPM	2	1.5	51.53±2.77 b

数据为平均值±标准差; 同列不同小写字母表示差异显著(P<0.05)。

The data are means ± SD; Different lowercase letters in the same column indicate significant differences (P<0.05).

表 9 愈伤分化培养基优化结果
Table 9 Optimization results of callus differentiation medium

Treatments	6-BA (mg·L^{-1})	2,4-D (mg·L^{-1})	TDZ (mg·L^{-1})	Induced differentiation rate (%)
1	0.5	0.1	0.5	4.44±2.22 b
2	0.5	0.2	1	0.00±0.00 b
3	0.5	0.5	2	0.00±0.00 b
4	1	0.1	1	15.56±4.44 ab
5	1	0.2	2	24.44±12.37 a
6	1	0.5	0.5	0.00±0.00 b
7	2	0.1	2	0.00±0.00 b
8	2	0.2	0.5	13.31±3.85 ab
9	2	0.5	1	0.00±0.00 b

数据为平均值±标准差; 同列不同小写字母表示差异显著(P<0.05)。
The data are means ± SD; Different lowercase letters in the same column indicate significant differences (P<0.05).

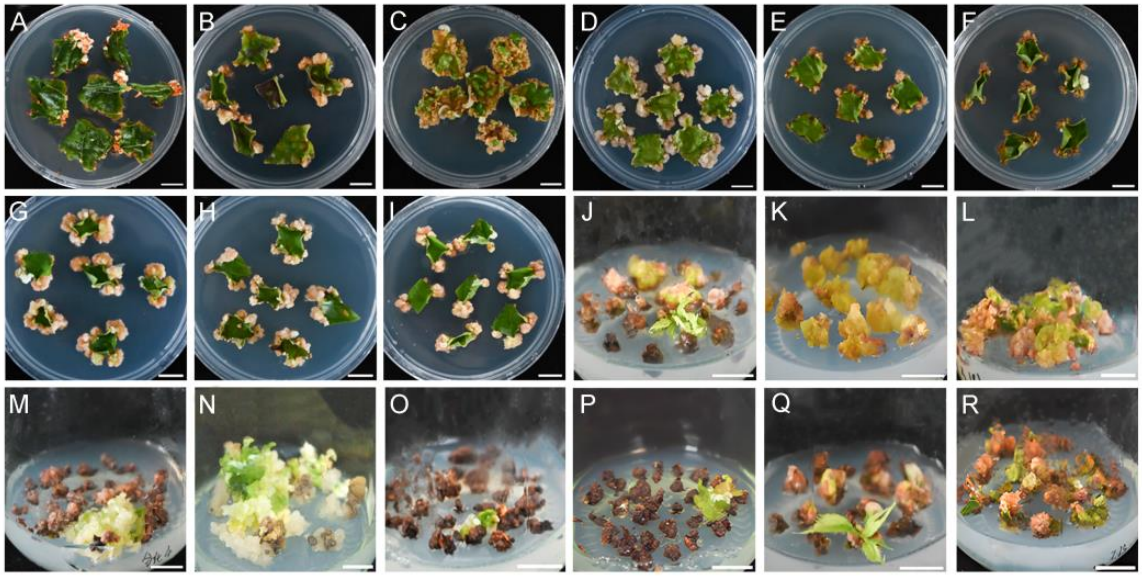


图 4 不同处理下飞寒樱叶片愈伤诱导与增殖情况
(A)–(I) 对应表 8 中的不同愈伤诱导配方(处理 1–9); **(J)–(R)** 对应表 9 中的不同愈伤分化配方(处理 1–9)。Bars=1 cm
Figure 4 Callus induction and proliferation of ‘Feihan’ leaves under different treatments
(A)–(I) correspond to the different callus induction formulas in Table 8 (treatments1–9); **(J)–(R)** correspond to the different callus differentiation formulas in Table 9 (treatments1–9). Bars=1 cm

3.5 生根移栽

选择生长良好的继代苗进行生根培养, 每种处理均可成功生根, 并具有发达的根系(图 5A–D)。其中, 处理 3 (1/2MS+0.8 mg·L^{-1} IBA+0.2 mg·L^{-1} NAA)处理下, 芽苗生根率 82.22%、平均根数 9.2 条(表 10), 对不芽生根较处理 1、2 有显著的促进作用, 平均根数显著优于其他各处理, 为最佳生根培养基。移栽至基质泥炭土: 珍珠岩: 蛭石(2:1:1, v/v/v)中, 成活率达 85.56%, 植株生长旺盛, 茎段逐渐木质化(图 5E–G)。

表 10 生根培养基优化结果
Table 10 Results of root induction medium optimization

Treatments	IBA (mg·L^{-1})	NAA (mg·L^{-1})	Average root number	Rooting rate (%)
1	0.4	0.2	7.7±0.24 b	60.00±3.85 bc
2	0.4	0.5	5.0±0.24 c	48.89±4.44 c
3	0.8	0.2	9.2±0.20 a	82.22±2.22 a
4	0.8	0.5	4.8±0.21 c	71.11±5.88 ab

数据为平均值±标准差; 同列不同小写字母表示差异显著(P<0.05)。
The data are means ± SD; Different lowercase letters in the same column indicate significant differences (P<0.05).

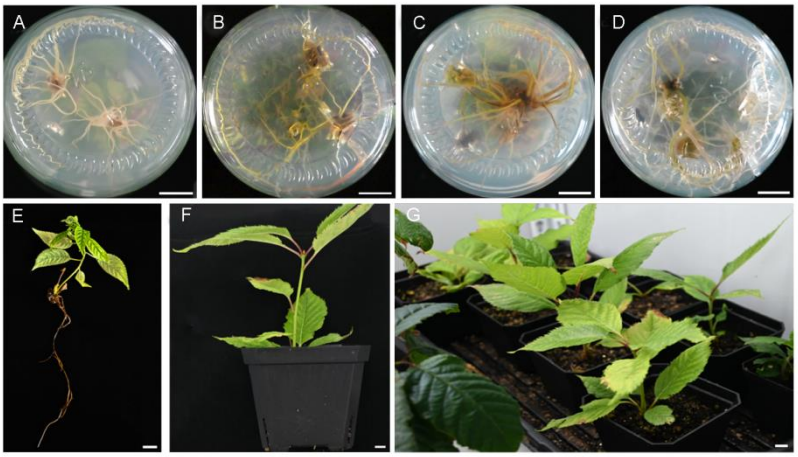


图 5 飞寒樱生根培养与移栽

(A)–(D) 表 10 中不同处理(处理 1**–4**)的生根情况; **(E)** 移栽时根系状态; **(F)** 栽 30 天后; **(G)** 幼苗移栽整体状态。Bars=1 cm

Figure 5 Rooting culture and transplanting of Feihan

(A)–(D) Rooting status under different treatments in Table 10 (treatments1**–4**); **(E)** Root status just after transplantation; **(F)** 30 d After transplantation; **(G)** Overall status of plantlets after transplantation. Bars=1 cm

3.6 讨论

外植体消毒是木本植物组培成功的关键, 其效果受消毒剂类型、处理时间、外植体状态等多重因素影响(王娜等, 2025; 杨越, 2025)。本研究发现, 0.1% $HgCl_2$ 消毒污染率最低, 显著优于 10% NaClO, 这与雷巾茗(2020)在富士樱上的研究结果一致, 可能因 $HgCl_2$ 杀菌谱更广, 对植物组织深部污染的控制效果更优。针对种子内生菌污染问题, 本研究采用 $HgCl_2$+PPM 复合消毒方案将污染率降至 6.38%, 且明确 PPM 浸泡时间是影响消毒效果的关键因素, 而浸泡浓度影响相对较小, 这与孙亚玲等(2023)在萝卜种子消毒中的研究结论相符, 为木本植物种子内生菌污染控制提供新参考。

外植体采集时间对消毒效果影响显著, 其内部存菌率随木质化程度的增加而上升, 3 月采集的带芽茎段木质化程度低, 内生菌积累较少, 污染率相对较低, 消毒后存活率达 74.44%, 而 6 月采集的茎段污染率高达 97.78%, 该结果与付影(2008)提出的顶芽为最佳培养材料的研究结论相符合。因此, 木本植物组培需严格控制取材时间, 避免木质化程度过高导致的消毒困难。

邹娜等(2007)研究表明, MS 培养基适用于多个樱亚属植物的诱导与增殖, 本研究因此以 MS 为基础, 采用 MS、1/2MS、WPM 为基本培养基进行筛选。结果表明, 3 种培养基在飞寒樱不定芽诱导率方面不存在显著差异, 但 WPM 培养基上诱导的芽数量较多, 且成活率较高(70.00%); 这与王光萍和黄敏仁(2002)的研究结果不同, 反映出樱亚属品种组培可能存在适应性差异。

樱亚属植物芽诱导与增殖常用 6-BA 为核心细胞分裂素, 其余 TDZ、激动素(KT)等研究报道较少(陈传红和古晓斌, 2019), 而生长素类调节剂则以 NAA、IBA 等应用较为广泛。本研究选用 6-BA、NAA 作为诱导芽萌发的调节剂, 结果表明 6-BA 对带芽茎段萌发率的影响具有极显著差异, 这与李晓玲等(2014)关于低浓度 6-BA 可促进组培苗芽体萌发和继代生长的研究结论相符。飞寒樱腋芽萌发适宜的 6-BA 浓度阈值为 1.0–2.0 $mg·L^{-1}$, 这与钟花樱腋芽最适诱导浓度基本一致; 在增殖培养阶段, 前人研究得出钟花樱的最适增殖培养基为 MS+1.0 $mg·L^{-1}$ 6-BA+0.05 $mg·L^{-1}$ NAA+0.5 $mg·L^{-1}$ GA_3, 增殖倍数可达 3.70 (黄锦荣等, 2016)。但本研究预试验发现, 1.0–2.0 $mg·L^{-1}$ 6-BA 处理飞寒樱芽增殖系数仅 1.5–2.0, 效果不佳, 这与徐晨捷(2020)在红花高盆樱(*P. cerasoides*)上的研究发现一致。改用 ZT 后, 增殖系数显著提升, 最高达 3.63, 可能因飞寒樱对 6-BA 的敏感性较弱, 而 ZT 能更高效地促进细胞分裂和芽分化(Cao et al.,2002)。这一结论为樱亚属植物组培中 6-BA 不敏感品种提供了替代方案。

樱亚属植物的组织培养中, 愈伤组织诱导不定芽相对困难, 目前仅见钟花樱、富士樱、郁金樱(*P. serrulata* ‘Grandiflora’)、雪落樱有成功分化的报道(付影, 2008; 史港影等, 2014;

雷巾茗, 2020; 罗钱等, 2021)。本研究结果表明, 培养基类型对飞寒樱叶片愈伤组织诱导率的影响未达到显著水平。但从愈伤组织质量来看, WPM 培养基表现更优, 诱导产生的愈伤组织多为结构致密的胚性愈伤组织, 而 1/2MS 培养基诱导的愈伤多为非胚性愈伤, 分化能力较弱, 难以进一步分化形成不定芽。这与王光萍和黄敏仁(2002)在钟花樱上的研究结果相异, 反映出樱亚属不同品种可能由于遗传背景不同, 对培养基的需求差异显著。此外, 2,4-D 对愈伤诱导率影响显著, 且整体呈现 2,4-D 浓度升高, 愈伤诱导率呈上升趋势。但当 2,4-D 浓度为 0.5 mg·L^{-1} 时, 愈伤组织分化率为 0, 表明高浓度 2,4-D 可能会抑制后续分化, 这与罗钱等(2021)对郁金樱愈伤诱导的研究结论相一致。因此愈伤诱导需平衡诱导率与分化潜力。在生根培养中, 本研究得出飞寒樱的最适生根培养基为 1/2MS+0.8 mg·L^{-1} IBA+0.2 mg·L^{-1} NAA, 生根率可达 82.22%, 该结果与闫道良等(2006)在钟花樱中筛选的最适生根条件基本一致。

本研究建立飞寒樱多外植体组培体系, 可实现全年不同时期均有适宜外植体材料可用的目标: 带芽茎段适合春季规模化育苗, 夏季可利用低温储存的种子外植体进行离体萌发培养, 叶片愈伤再生为遗传转化提供了受体系统, 丰富了木本观赏植物组培技术体系。移栽阶段, 泥炭土: 珍珠岩: 蛭石(2:1:1, v/v/v)的混合基质成活率达 85.56%, 该配比透气保水性能均衡, 可直接应用于生产。

与现有樱亚属植物组培技术相比, 本研究创新点在于建立品种快繁技术、优化复合消毒方案及明确 ZT 替代 6-BA 的增殖效果, 但愈伤分化率较低(24.44%), 未来可通过添加抗氧化剂、调整培养条件进一步优化, 提高再生效率。

致谢 感谢武汉市龟山公园惠赠的实验材料。

作者贡献声明

牛晓彤: 设计试验方案、完成主要实验、数据分析及论文初稿撰写; 孟雨: 参与外植体消毒、愈伤诱导实验及论文撰写; 韦应娟: 负责种子萌发和芽增殖实验; 杨婉玉: 参与生根培养和移栽实验; 沈鑫: 提供试验材料鉴定支持, 论文修改; 蒋冬月: 协助数据分析, 论文修改; 孙苗: 构思实验、指导论文写作、修改及资金支持。

利益冲突: 所有作者均声明不存在利益冲突

Conflict of Interests: The authors declare that there is no conflict of interests

©The author(s) 2026. This is an open access article under the CC BY-NC-ND 4.0 license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/)

参考文献

陈传红, 古晓斌 (2019). 植物生长调节剂在樱花组织培养中的影响研究进展. 现代园艺 **42**(23), 14–15, 18.

段晓梅 (2002). 樱花繁殖综述. 思茅师范高等专科学校学报 (03), 82–85.

付影 (2008). 钟花樱离体繁殖技术体系研究. 硕士论文. 福州: 福建农林大学.

高照亮, 朱建军, 隽加香, 李秀芬 (2021). 复合肥配施微生物菌剂对‘飞寒樱’苗木生长影响效果研究. 上海农业学报 **37**(05), 116–120.

胡娜, 侯世星, 夏国栋, 陈思, 张继明 (2025). 樱花早花品种‘飞寒樱’在北京地区的适应性评价. 中国农学通报 **41**(10), 81–88.

黄锦荣, 谢金兰, 张冬生, 朱昔娇, 钟奕灵, 陈桂琼, 范剑明 (2016). 钟花樱组织培养繁殖研究.林业与环境科学 **32**(05), 89–92.

黄宇翔, 刘金燕, 卓小丽, 王肇剑 (2006). 福建山樱花组培快繁研究. 中国农学通报 (08), 162–164.

况红玲, 聂超仁, 徐海芹, 张兵, 徐建刚 (2020). 8个樱花品种播种育苗技术研究. 湖北林业科技 **49**(01), 25–26.

雷巾茗 (2020). 樱花组培快繁与扦插繁殖研究. 硕士论文. 北京: 北京林业大学.

李晓玲, 卢绪志, 边震, 龙丽坤 (2014). 山樱花组培快繁技术研究. 林业科技 **39**(05), 1–3.

罗钱, 张燕莎, 欧静 (2021). 郁金樱愈伤组织诱导及植株再生. 植物学报 **56**, 451–461.

吕国昊, 赵杰堂 (2021). 植物组织培养中褐化现象的控制措施. 农村经济与科技 **32**(13), 50–52.

史港影，南程慧，伊贤贵，张开文，王贤荣 (2014). 雪落樱再生体系的建立. 南京林业大学学报(自然科学版) **38**(S1), 20–24.
孙亚玲，刘辰，刘贤娴，牛蕴华，何启伟 (2023). 植物组培抗菌剂 PPM 对萝卜种子消毒及无菌苗生长的影响. 中国瓜菜 **36**(09), 116–122.
王光萍，黄敏仁 (2002). 福建山樱花的组织培养及植株再生. 南京林业大学学报 (02), 73–75.
王娜，杨柳，赵国栋，李昱莹，侯小改，郭丽丽 (2025). 重要木本植物组织培养技术研究进展. 上海农业学报 **41**(01), 131–142.
王贤荣，黄国富 (2001). 中国樱花类植物资源及其开发利用. 林业科技开发 (06), 3–6.
王贤荣，荣冬青(2008). 钟花樱组织培养中多因子正交试验研究. 安徽农业大学学报 (02), 169–173.
王运昌，谢金兰，张冬生，陈新强，刘丽，范剑明 (2024). 钟花樱种质资源分布与品种选育研究现状. 热带农业科学 **44**(11), 83–89.
温璐华，武瑞娜 (2020). 植物组培内生菌污染的防治措施. 防护林科技 (02), 83–85.
徐晨捷 (2020). 几种樱属植物的快繁技术研究. 硕士论文. 贵阳: 贵州大学.
闫道良，王贤荣，钦佩，宰学明，王光 (2006). 钟花樱组织培养再生体系的建立. 林业科技开发 (03), 21–24.
杨越 (2025). 杏属植物组织培养技术的研究进展. 林业科技 **50**(01), 24–29, 70.
张帆，叶露，董姬妃，万雪琴，钟宇 (2018). 高盆樱桃的组培快繁研究. 南京林业大学学报 **42**(03), 111–116.
张艳芳 (2016). 常见樱花品种及其园林应用. 园林 (04), 72–75.
周玲 (2022). 砧木种类和嫁接方法对飞寒樱嫁接效果的影响. 绿色科技 **24**(21), 142–145.
邹娜，曹光球，林思祖 (2007). 观赏樱花繁殖技术研究进展. 西南林学院学报 (06), 42–46.
Cao X, Hammerschlag FA, Douglass L (2002). A two-step pretreatment significantly enhances shoot organogenesis from leaf explants of highbush blueberry cv. Bluecrop. *Hort Sci* **37**, 819–821.
Exadaktylou E, Thomidis T, Tsipouridis C, Grout B (2006). Factors influencing the rooting of Gisela 5 (*Prunus cerasus* × *Prunus canescens*) cherry rootstock hardwood cuttings. *Aust J Exp Agric* **46**, 1633–1637.
Wang XQ, Liu X, Lu ZJ, Xiong T, Zhang LG, Omollo WO, Zhang XR, Wang MM, Zhang J, Xu Z, Hu GW, Liu BB, Hodel RGJ, Wen J, Chen ZD, Sun M (2026). Nuclear phylogenomics reveals trait- and environment-associated patterns of diversification in *Prunus* s.l. (Rosaceae). *Mol Phylogenet Evol,* 108633.
Wang Z, Zhou L, Zeng L (2005). A study of vegetative propagation of *Prunus campanulata*. *J Cent S For Coll* **25**(3), 82–84.

Study on Tissue Culture Rapid Propagation and Regeneration Technology of *Prunus campanulata* ‘Feihan’

Xiaotong Niu[1†], Yu Meng[1†], Yingjuan Wei[1], Wanyu Yang[1], Xin Shen[2], Dongyue Jiang[2], Miao Sun[1*]

[1]State Key Laboratory of Germplasm Innovation & Utilization of Horticultural Crops, College of Horticulture and Forestry Sciences, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China; [2]Zhejiang Academy of Forestry, Hangzhou 310023, China

INTRODUCTION: *Prunus campanulata* ‘Feihan’ is an excellent ornamental cherry cultivar with high landscape application value. However, large-scale seedling propagation is restricted by traditional asexual reproduction methods with low efficiency, and a systematic and efficient tissue culture system remains lacking. To address bottlenecks such as explant contamination and browning during *in vitro* culture, establishing a complete regeneration system is of great significance for commercial seedling production and germplasm conservation.

OBJECTIVE: Stem segments with axillary buds, seeds and leaves of *P. campanulata* ‘Feihan’ were used as explants to systematically optimize key technical parameters including disinfection, medium formulation, callus induction and differentiation, adventitious

bud proliferation, rooting and transplanting. This study was conducted to establish a stable multi-explant tissue culture system, so as to provide technical support and a theoretical reference for the rapid propagation of related *Cerasus* plants.

RESULTS: The optimal disinfection for axillary stem segments was 75% ethanol 30 s+0.1% $HgCl_2$ 7 min with 12.50% contamination and 29.17% browning. The optimal initial medium was half-strength Murashige and Skoog (1/2MS)+2.0 mg·L^{-1} 6-benzylaminopurine (6-BA)+ 0.2 mg·L^{-1} 1-naphthaleneacetic acid (NAA), and the proliferation medium was MS+0.5 mg·L^{-1} zeatin (ZT)+0.1 mg·L^{-1} NAA+1.0 mg·L^{-1} gibberellic acid (GA_3). For seeds, disinfection with 75% ethanol 30 s+0.1% $HgCl_2$ 15 min+1% PPM 4 h showed the lowest contamination rate at 6.38%. For leaves, the optimal disinfection was 75% ethanol 30 s+0.1% $HgCl_2$ 3 min. The highest callus induction rate reached 77.35% on Woody plant medium (WPM)+0.5 mg·L^{-1} 6-BA+2.0 mg·L^{-1} 2,4-dichloropHenoxyacetic acid (2,4-D), and the differentiation rate was 24.44% on MS+1.0 mg·L^{-1} 6-BA+0.2 mg·L^{-1} 2,4-D+ 2.0 mg·L^{-1} thidiazuron (TDZ)+200 mg·L^{-1} casein hydrolysate. The optimal rooting medium was 1/2MS+0.8 mg·L^{-1} IBA+0.2 mg·L^{-1} NAA, with a transplanting survival rate of 85.56%.

CONCLUSION: A complete and efficient *in vitro* regeneration system of *P. campanulata* 'Feihan' based on multiple explants was successfully established, which effectively alleviated explant contamination and browning. This system provides a feasible technical scheme for factory seedling production and lays a foundation for germplasm innovation and genetic improvement of *Cerasus* subgenus plants.



Schematic diagram of *in vitro* regeneration pathways for *Prunus campanulata* 'Feihan' using multiple explants. From left to right: Stem segments with axillary buds were used for direct organogenesis; Seeds were used for direct germination; Leaf explants were used for indirect organogenesis.

Key words *Prunus campanulata* 'Feihan', tissue culture rapid propagation, regeneration system, explant disinfection, medium optimization

Niu XT, Meng Y, Wei YJ, Yang WY, Shen X, Jiang DY, Sun M (2026). Study on tissue culture rapid propagation and regeneration technology of *Prunus campanulata* 'Feihan'. *Chin Bull Bot* **61**, 1–12.

† These authors contributed equally to this paper

* Authors for correspondence. E-mail: miaosun@mail.hzau.edu.cn

（责任编辑：白羽红）

通讯作者简介

孙苗，教授，硕/博士生导师，果蔬园艺作物种质创新与利用全国重点实验室固定研究人员。主要从事观赏植物系统演化与多样性保护研究，聚焦蔷薇类植物起源演化与关键性状形成机制，为园艺种质创新提供理论依据。先后赴美国佛罗里达大学、密歇根大学访问研究。以通讯作者/第一作者在 *Nature*、*Nature Communications*、*PNAS* 等期刊发表论文多篇，参编专著 5 部。现任中国花卉协会专家委员会委员，*Horticulture Advances* 科学编辑，《园艺学报》编委，*Systematic Biology*、*Molecular Phylogenetics and Evolution*、*Taxon* 等期刊审稿专家。

© 植物学报 Chinese Bulletin of Botany