

红花玫瑰植物组织培养的研究

顾利利,潘丹丹,唐晓倩,张 颖,张 楠

(宿迁学院 教育系,江苏 宿迁 223800)

摘要:为建立玫瑰组织培养体系,研究以红花玫瑰嫩茎为初次诱导外植体,对红花玫瑰的离体培养途径进行研究。结果表明:芽诱导培养基配方为 MS+6-BA $2.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +NAA $0.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +蔗糖 $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ +琼脂 $6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$;增殖培养配方为 MS+6-BA $3.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +NAA $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +蔗糖 $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ +琼脂 $6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$;生根培养配方为 $1/2 \text{ MS}$ +NAA $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +蔗糖 $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ +琼脂 $6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

关键词:玫瑰;嫩茎;组织培养;芽诱导;增殖培养;生根培养

中图分类号:S685.12

文献标识码:A

文章编号:1002-2767(2014)12-0023-02

玫瑰(*Rosa rugosa* Thunb.)原产我国华北及日本和朝鲜,我国各地均有栽培^[1]。为蔷薇科蔷薇属直立灌木,高可达 2 m;茎粗壮,丛生;小枝密被绒毛,并有针刺和腺毛,有直立或弯曲、淡黄色的皮刺,皮刺外被绒毛。花直径 4.0~5.5 cm;花瓣倒卵形,重瓣至半重瓣,芳香,紫红色至白色;花期 5~6 月。玫瑰在我国有数千年的栽培历史,是深受人们喜爱的花卉,同时也是珍贵的药材之一,而且还应用在化工产品和食品工业中。目前,玫瑰主要以扦插、嫁接、压条、分株繁殖为主,繁殖系数低、速度慢。该研究以红花玫瑰嫩茎为材料进行组织培养,建立了玫瑰的组织培养体系,为玫瑰的工厂化育苗提供成熟技术。

1 材料与方 法

1.1 材 料

供试材料为红花玫瑰,当年生幼嫩枝条备用。试验药品及容器包括:MS、6-BA、NAA 以及 50 mL 玻璃三角瓶、500 mL 烧杯和酸度计等。

1.2 方 法

试验于 2012 年于宿迁学院试验基地进行。

1.2.1 外植体的选择 选材时间为 3 月末至 4 月中旬,正值玫瑰萌芽阶段,生长速度快,成活率高。选择无病虫害健壮的玫瑰嫩茎备用。

1.2.2 外植体处理 将备用的幼嫩茎段除去小叶,由于玫瑰茎上密集生长着小刺,需用洗衣粉浸泡 15 min 后用流水冲洗 30 min,并不断搅动。将冲洗后的茎段用滤纸擦干,带入超净工作台,首先用 75% 酒精消毒 30 s(以茎段长度能够完全浸入酒精溶液为宜),无菌水冲洗 3 次,用无菌滤纸吸干水分后再次放入 0.1% 升汞消毒 8 min,无菌水冲洗 5 次,用无菌滤纸吸干水分,切成 1.5~

2.0 cm 茎段,每茎段留侧芽或茎节,并将茎段两端接触消毒液的切口剪去^[2]。

1.2.3 外植体接种、芽的诱导 把灭过菌的幼嫩茎段按照茎段自然生长方向插入 MS 培养基中,配方为蔗糖 $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,琼脂 $6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$;6-BA 浓度分别为 1.5、2.0 和 $2.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$;NAA 浓度分别为 0.1、0.2 和 $0.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,50 d 后统计各处理的增殖率。

1.2.4 继代增殖 从初代培养中萌发的嫩茎切下,作为接种材料进行继代培养。继代培养基以 MS 为基本培养基,添加蔗糖 $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,琼脂 $6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$;6-BA 浓度分别为 2.0 和 $3.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$;NAA 浓度分别为 0.2 和 $0.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,40 d 后统计外植体继代增殖情况。

1.2.5 生根培养 当芽长至 3.0 cm 左右时,转入生根培养基中,配方为蔗糖 $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,琼脂 $6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$;培养基:MS, $1/2 \text{ MS}$;NAA 浓度分别为 0.1、0.2 和 $0.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,30 d 后统计各处理的生根情况,以此来选择适宜的激素浓度。

1.2.6 培养条件 试验材料无特殊说明均在植物组培室中培养,保持培养室温度 $22 \sim 25^{\circ}\text{C}$,光照强度 $1\,000 \sim 2\,000 \text{ lx}$ ^[3],光照 $12 \text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$,环境湿度 60%~80%。

2 结果与分析

2.1 不同激素浓度对芽诱导的影响

由表 1 可知,添加不同浓度 6-BA 和 NAA 时,丛生芽生长情况不一,不同浓度 6-BA 和 NAA 组合在 0.05 和 0.01 水平上均存在显著差异。丛生芽增殖率随着 6-BA 浓度的增加而增加,可见,诱导丛生芽萌发的主要因素是 6-BA。当 6-BA 浓度为 $1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,平均增殖率为 1%,不发生增殖;当 6-BA 浓度为 2.0 或 $2.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,增殖率随着 NAA 浓度的增加而增加;当 6-BA 浓度为 $2.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,NAA 为 $0.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时增殖率最高,为 3.75。因此该研究确定芽诱导培养基配方为 MS+6-BA $2.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +NAA $0.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +蔗糖 $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ +琼脂 $6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

收稿日期:2014-05-15

第一作者简介:顾利利(1990-),女,江苏省淮安市人,学士,从事植物组织培养方面研究。E-mail: 1667747704@qq.com。

表 1 不同激素配方对芽诱导增殖率的影响
Table 1 The effect of different hormone on induced proliferation rate of bud

浓度/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Concentration		平均增殖率/%
6-BA	NAA	Average proliferation rate
1.5	0.1	1.000 fF
1.5	0.2	1.000 fF
1.5	0.3	1.000 fF
2.0	0.1	1.080 eEF
2.0	0.2	1.145 eDE
2.0	0.3	1.255 dD
2.5	0.1	2.065 cC
2.5	0.2	2.355 bB
2.5	0.3	3.075 aA

2.2 不同激素浓度对继代增殖培养的影响

由表 2 可知,不同浓度 6-BA 和 NAA 组合在 0.05 和 0.01 水平上均存在显著差异。当 6-BA 浓度为 $3.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,增殖率随 NAA 浓度的增加而减少;当 6-BA 浓度为 $2.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,增殖率随着 NAA 浓度的增加而增加。因此,增殖培养以 6-BA 浓度为 $3.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,NAA 浓度为 $0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时增殖效果最好,诱导的丛生芽生长粗壮。

表 2 不同激素配方对继代增殖的影响

Table 2 The effect of different hormone on transgenerational proliferation

浓度/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Concentration		平均增殖率/%
6-BA	NAA	Average proliferation rate
2.0	0.2	2.210 dD
2.0	0.3	3.130 cC
3.0	0.2	4.365 aA
3.0	0.3	3.970 bB

2.3 不同激素浓度生根培养的影响

将继代增殖培养基中生长健壮的小茎条转接在生根培养基中,15 d 左右开始有根出现,30 d 左右根可长至 3 cm,茎条上最多生根 10 条。培养基及激素比对生根培养的效果不同,二者组合在 0.05 和 0.01 水平上均存在显著差异。由表 3 可知,MS、1/2 MS 以及 3 种不同 NAA 浓度对玫瑰生根数的影响不同,1/2 MS 培养基优于 MS 培养基。NAA 浓度为 $0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,玫瑰茎条

平均生根数最多。因此玫瑰在生根方面适宜的配方为 1/2 MS+NAA $0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

表 3 不同 NAA 浓度的 MS 培养基对生根的影响

Table 3 The effect of different MS with different hormone on rooting

基本培养基 Minimal medium	浓度/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ Concentration of NAA	平均增殖率/% Average proliferation rate
MS	0.1	4.165 fF
MS	0.2	4.820 eE
MS	0.3	5.225 dD
1/2 MS	0.1	7.870 bB
1/2 MS	0.2	8.035 aA
1/2 MS	0.3	6.510 cC

3 结论与讨论

在进行红花玫瑰外植体采集时,最好选择刚刚萌发,但并未完全萌发时最好。此时较容易进行灭菌,污染率较低。采用外植体的大小对成活率也有影响,一般半木质化的茎条最好,完全木质化诱导生芽不容易启动,不带有木质化的软茎条诱导生芽不启动。移栽时要注意根部的清洗,用清水将粘在根上的培养基洗掉,并保证根部的完整性;培养土要经过灭菌,如果可以高压灭菌最好,若无条件可高温灭菌或药剂灭菌;另外要注意保湿遮阳。

该研究结果表明,芽诱导培养基配方为 MS+6-BA $2.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +NAA $0.3\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +蔗糖 $30\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ +琼脂 $6\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$;增殖培养配方为 MS+6-BA $3.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +NAA $0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +蔗糖 $30\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ +琼脂 $6\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$;生根培养配方为 1/2 MS+NAA $0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +蔗糖 $30\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ +琼脂 $6\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

参考文献:

- [1] 中国植物志编委会. 中国植物志[M]. 北京:科学出版社, 1985:401.
- [2] 张颖,郭晓东,王芳,等. 蝴蝶兰组织培养快繁技术研究[J]. 北方园艺,2010(8):122-124.
- [3] 沈海龙. 植物组织培养[M]. 北京:中国林业出版社,2005: 33-49.

Study on Plant Tissue Culture of Red Rose

GU Li-li,PAN Dan-dan,TANG Xiao-qian,ZHANG Ying,ZHANG Nan

(Education Department of Suqian College,Suqian,Jiangsu 223800)

Abstract: In order to establish tissue culture system of rose,taking nodal segments as explants,the culture way of red rose was studied. The results showed that the optimum initial cultural medium was MS+6-BA $2.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +NAA $0.3\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +sucrose $30\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ +agar $6\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$; The optimum multiplication medium was MS+6-BA $3.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +NAA $0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +sucrose $30\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ + $6\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ agar;The optimum root inducing cultural medium was 1/2 MS+NAA $0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +sucrose $30\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ +agar $6\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$.

Key words: red rose;nodal segments;tissue culture;bud induction;multiplication culture;root culture