

# 不同培养基及糖浓度对丰花月季叶愈伤组织诱导的影响

赵松峰

(河南省烟草技工学校 河南 许昌 461000)

**摘要:**以丰花月季叶片为材料,在 MS、Bs、White、WPM 4 种基本培养基和在含不同糖浓度为 0.30、60、90 g/L 的 MS 培养基上,进行愈伤组织的诱导。结果表明:4 种培养基中,MS 培养基的诱导率最高,4 种糖浓度中,以糖浓度为 30 g/L 的诱导率最高。最佳培养基为 MS+6-BA 0.1 mg/L+NAA 0.1 mg/L+糖 30 g/L+琼脂 7.5 g/L。

**关键词:**月季;培养基;愈伤组织;组织培养

**中图分类号:**S 685.12 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2009)04-0056-03

月季(*Rosa chinensis*)为蔷薇科蔷薇属花卉,原产于我国,是我国十大名花之一。于 17 世纪传入欧洲,现已遍布世界各地,目前世界上已有 20 000 多个月季品种,种类数量居所有观赏花卉之首。且多个国家都将它选为国花,我国也有 40 多个城市将月季定为市花<sup>[1]</sup>。目前月季的繁殖技术依旧沿袭了传统的扦插、嫁接等方法,这些方法限制了月季的繁殖量,不能满足月季工厂化大生产发展的需要。而有些名贵品种扦插不易生根,繁殖速度受到很大限制。一些新育出和引进的品种,由于数量极少,短期内难以推广。故对月季组织培养技术的进一步研究及市场化是现在该技术发展的方向。虽然早在 1980 年 Hasegawa<sup>[2]</sup>就以攀援月季“Improved fire”的茎尖或休眠芽为材料,在 MS 培养基上建立了试管苗无性系,且其他一些研究者也先后用月季的茎尖和腋芽诱导出了完整的植株<sup>[3,4]</sup>。尽管国内外关于月季组织培养的报道很多。但目前利用月季的叶进行离体诱导的研究还较少。月季的组织培养技术,茎段培养是最直接、最简便、成苗速度最快的一种手段<sup>[5-9]</sup>,几乎所有研究组织培养的工作者都会利用这种培养方式。该试验旨在通过以月季叶片作为外植体进行培养,研究不同培养基及不同糖浓度对月季叶的诱导并产生愈伤组织,进而分析何种培养基,何种糖浓度更有利于叶的诱导,为组织培养提供有效方法,并为月季基因工程育种奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料及处理

取丰花月季的叶片,用自来水冲洗 1~2 h,去除其表面黏附物后将整个叶片用 75%的乙醇浸泡 30~40 s,

然后放入 0.1%的升汞溶液中杀菌 5 min,再用无菌水冲洗 3~4 次。取灭过菌滤纸,吸干叶片表面水分,最后在无茵的条件下将叶片切成 0.7 cm×0.7 cm 的小叶块,切叶片时选取远离叶脉的靠近叶缘的部分,接入几种不同的培养基中。

### 1.2 方法

**1.2.1 培养基** 培养基种类试验设置 MS、Bs、WPM 和 White 4 种不同培养基激素组合均为 NAA 0.1 mg/L+6-BA 1.0 mg/L,蔗糖 30 g/L,分别调节 pH 值;琼脂粉 7.5 g/L。另一组以 MS 为基本培养基,糖组合浓度为 0.30、60、90 g/L;激素组合均为 NAA 0.1 mg/L+6-BA 1.0 mg/L;琼脂粉 7.5 g/L,调节 pH 值为 6.0。

**1.2.2 培养基的分装** 按常规先将其培养基放入锥形瓶中,每瓶 100 mL,在高压灭菌锅在 121℃下,灭菌 20 min,之后在超净工作台上,将每个锥形瓶分装为 3 个 7.5 cm 直径的培养皿,放入超净工作台中,以便接种。

**1.2.3 外植体接种及培养** 按常规操作方法在超净工作台上将准备好的叶片切成 0.7 cm×0.7 cm 的小块,接种于诱导培养基上,接种密度都为每皿(直径 7.5 cm 培养皿)10 个叶片,再用封口膜封口,然后在温度为(25±1)℃,光强为 1 500~2 000 lx,光周期为 14 h 光/10 h 暗的条件下培养,每天观察试验结果,并记录结果,调查诱导愈伤组织率。该试验采用重复实验的方法,分 3 批,每种培养基倒 3 个培养皿,10 个外植体/皿,每种培养基总共接种的外植体数 90 个。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同培养基对愈伤组织诱导的影响

在测试 MS、WPM、Bs 和 White 4 种培养基对月季叶片的愈伤组织诱导的影响时,第 1 批培养的组织第 2 天外植体即有部分开始脱色变白,第 3 天有部分变黄,大部分有褐变。但是整个试验没有污染。第 2 批和第 3 批培养的组织第 3 天外植体即有部分开始脱色变白,第

作者简介:赵松峰(1969-),男,讲师,现主要从事植物生理学研究  
工作。E-mail: shuji0922@163.com。

基金项目:河南省科技攻关资助项目(0624050023)。

收稿日期:2008-11-16

3 天有部分变黄, 褐变的较少, 大部分叶片为绿色。但是整个试验出现了少数培养基的污染。由表 1 的统计结果可以看出, MS 培养基上愈伤个数最多达到 32 个, 诱导率为 35.5%; B<sub>5</sub> 培养基上愈伤个数达到 27 个, 诱导率为 30%。培养 4 d 后在外植体叶的一端开始膨大, 叶片切口处可见少数绿色愈伤组织, 大小如沙粒, 柔软, 结构

密实。而 WPM、White 在培养第 2 天外植体即有部分开始脱色变白, 第 3 天有部分变黄, 大部分有褐变, 最后枯死。可见 MS、B<sub>5</sub> 2 种培养基对愈伤组织的诱导效果明显, 结果表明 不同培养基对叶片诱导程度可排列为 MS> B<sub>5</sub>> WPM> White。

表 1 基本培养基种类对愈伤组织诱导的影响

| Table 1 The effects of different media on callus induction |                    |                          |                      |                          |           |  |
|--|--------------------|--------------------------|----------------------|--------------------------|-----------|--|
| 培养基编号  | 基本培养基类型            | 外植体总数                    | 愈伤个数                 | 诱导率                      | 长势        |  |
| The No. of media   | The kinds of media | The total of explants/ 个 | The No. of callus/ 个 | The rate of induction/ % | Status    |  |
| 4 5 6 31 32 33 55 56 57                                    | MS                 | 90                       | 32                   | 35.5                     | 绿色愈伤组织    |  |
| 22 23 24 46 47 48 70 71 72                                 | B <sub>5</sub>     | 90                       | 27                   | 30                       | 长成愈伤绿色    |  |
| 19 20 21 43 44 45 67 68 69                                 | WPM                | 90                       | 5                    | 5                        | 褐变 变白, 枯死 |  |
| 16 17 18 41 42 43 64 65 66                                 | White              | 90                       | 2                    | 2.2                      | 褐变 变白, 枯死 |  |

众多培养基中以 MS 培养基的效果为最好, 广泛用于月季的离体快速繁殖中<sup>[7]</sup>。在茎段培养上, 将带有腋芽的嫩茎接种到不添加任何激素类物质的 MS 培养基上, 2 周后, MS 培养基上的腋芽生长。而在诱导生根上, 一般采用无机盐离子浓度较低的 MS 培养基<sup>[8]</sup>。

MS 培养基无机盐的浓度高, 有加速愈伤组织生长的作用, 能满足植物组织对矿物质营养的要求。铵盐和硝酸盐的含量高, 比例比较适合, 不需要添加更多的有机附加物。B<sub>5</sub> 培养基含铵盐较低, 该营养成分可能对不少培养物的生长有抑制作用, 对有些植物如双子叶植物特别是木本植物, 却更加适合生长<sup>[9]</sup>。

试验表明了 MS 培养基对愈伤组织的诱导率最高, 在 B<sub>5</sub> 基本培养基上诱导愈伤组织的诱导率也相当高的。

表 2 不同糖浓度对愈伤组织诱导的影响

| Table 2 The effects of different sugar concentrations on Callus induction |                    |                          |                      |                          |           |  |
|---|--------------------|--------------------------|----------------------|--------------------------|-----------|--|
| 培养基编号   | 基本培养基类型            | 外植体总数                    | 愈伤个数                 | 诱导率                      | 长势        |  |
| The No. of media  | The kinds of media | The total of explants/ 个 | The No. of callus/ 个 | The rate of induction/ % | Status    |  |
| 1 2 3 28 29 30 52 53 54   | 0 g/ L             | 90                       | 0                    | 0                        | 褐变 变白, 枯死 |  |
| 4 5 6 31 32 33 55 56 57   | 30 g/ L            | 90                       | 32                   | 35.5                     | 绿色愈伤组织    |  |
| 7 8 9 34 35 36 58 59 60   | 60 g/ L            | 90                       | 5                    | 13.33                    | 褐变 变白     |  |
| 10 11 12 37 38 39 61 62 63  | 90 g/ L            | 90                       | 2                    | 0                        | 褐变 变白, 枯死 |  |

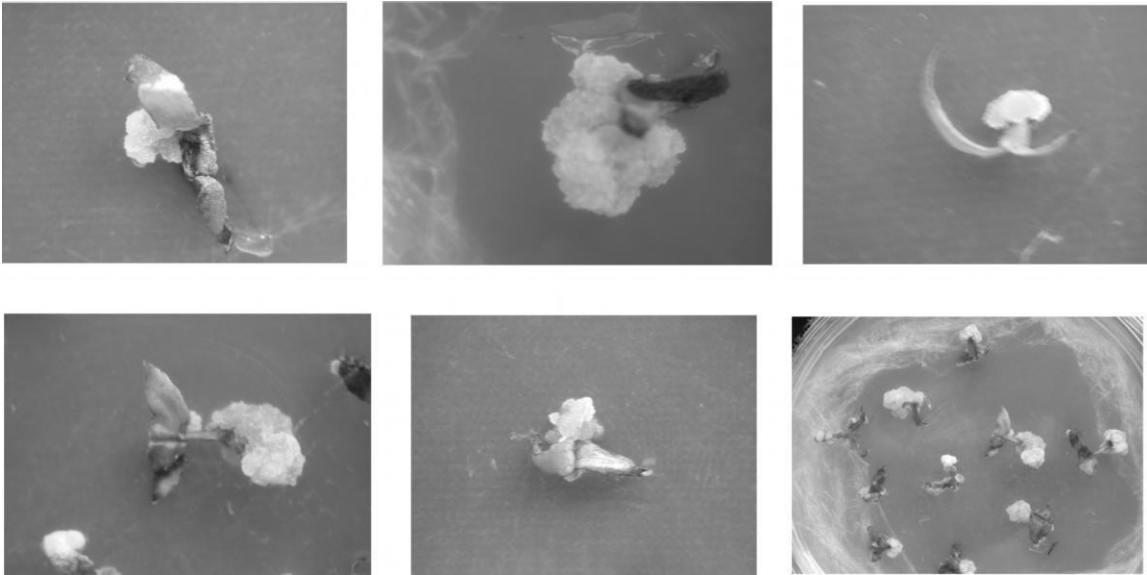


图 1 月季诱导的愈伤  
Fig. 1 The callus induction from leaflet of *Rosa chinensis*

## 2.2 不同糖浓度对愈伤组织诱导的影响

将叶片接种在 4 种不同糖浓度的培养基中, 只有糖浓度为 30 g/L 时大部分长出绿色愈伤组织: 大小如沙粒, 柔软, 结构密实, 而余下不管何种浓度均没有愈伤组织长出, 外植体褐变, 变白, 最后干枯死亡。组培时几乎所有的培养基中都要加入糖。糖作为碳源为细胞提供合成新化合物的碳骨架, 为细胞的呼吸代谢提供底物与能源。培养基的渗透调节也是靠糖来完成的<sup>[10]</sup>。不同类型的月季, 其组培要求的碳源和糖浓度有所不同。月季组培最常用的碳源是蔗糖, 在丰花月季的组织培养中, 初代培养的蔗糖含量为 5%, 继代培养的蔗糖含量为 3% 时培养效果较好<sup>[11]</sup>。而 Scotti 等进行月季继代培养时所用蔗糖浓度为 2%<sup>[12]</sup>。该试验中只有糖浓度 30 g/L 时大部分愈伤组织长出, 而余下不管何种浓度均没有愈伤组织长出, 最终干枯死亡。其原因除与外植体的选择、灭菌时间影响有关外, 主要是因为浓度为 0 g/L 的培养基中没有外植体生长所需的碳源。而浓度为 60、90 g/L 的培养基中含碳过高, 改变了渗透压, 导致无愈伤组织产生, 甚至死亡。

## 3 讨论

众所周知, 不同的培养基所含的营养物质的成分不同, 且同一培养基中不同的糖浓度, 对同一种外植体的作用就会有不同的结果。在植物组织培养中, 外植体愈伤组织的形成与外源激素的作用和培养基的成分等都密不可分, 多种成分的综合使用时, 其组合比例、浓度是组培成功最基本的条件<sup>[13]</sup>。

不同培养基对月季愈伤组织的诱导, 以 MS 效果较好, 诱导率为 35.5%, 叶片愈伤组织生长正常, 增殖快, 呈黄绿色, 该培养基是诱导叶片愈伤组织的最佳培养

基, 而其它的培养基效果都不好。在以 MS 培养基加不同糖浓度对月季叶进行愈伤组织诱导时, 唯以 MS 培养基加糖为 30 g/L 效果最好。

## 参考文献

- [1] 余树勋. 月季[M]. 北京: 金盾出版社, 1992: 1-5.
- [2] Hasegawa P M. Factors Affecting Shoot and Root Initiation from Cultured Rose Shoot Tips [J]. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 1980, 105(2): 216-220.
- [3] 李静. 几种名贵观赏植物的快速繁殖[J]. 河北农业大学学报, 1997, 20(1): 30-36.
- [4] 杨文政, 王宗杰, 刘春柄. 月季名贵品种无性系的快速繁殖及其工厂化生产的研究[J]. 河南农学院学报, 1984(2): 8-15.
- [5] 宫本馥, 罗珍珍, 唐坚志. 丰花月季的组织培养和快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 1992, 28(2): 129-134.
- [6] 鲁雪华, 陈扬春. 月季与玫瑰丛芽增殖的初步探究[J]. 福建农业科技, 1985(1): 45-47.
- [7] 周娟芳, 金韵芳. 月季花快繁及试管苗移栽技术[J]. 江苏农业科技, 1984(10): 33-34.
- [8] 蔡军, 蔡梅英, 钱大莉. 月季多芽苗的诱导及其无性系快速繁殖[J]. 植物生理学通讯, 1984(5): 37-40.
- [9] 王正加, 高云振. 月季组织培养过程中的影响因素[J]. 浙江林业科技, 2003(7): 51-55.
- [10] Scholten H J, Pierik R L M. Agar as a gelling agent: differential biological effects in vitro[J]. Scientia Horticulturae, 1998(77): 109-106.
- [11] 陈维伦. 活性炭在植物组织培养能够的作用[J]. 植物学报, 1988, 5(1): 1-5.
- [12] Scotti Campos P. Mars Propagation of the Drawf R321-330. rose Cultivar "Rosamin" [J]. Scientia Horticulturae, 1990, 43(3): 3-4.
- [13] 吴淑平, 马汉云. 丰花月季组培快繁技术研究[J]. 安徽农业科学, 2006, 34(21): 5642-5643.
- [14] 余小丽, 张乃群. 野生黄刺玫的组织培养和快繁技术研究[J]. 西北林学院报, 2005(3): 93-95.
- [15] 梁海曼. 植物组织培养中与 PH 值变化有关的一些问题[J]. 植物生理学报, 1987(3): 1.

# The Effects of Different Media and Sugar Concentrations on Callus Induction from Leaflet of *Rosa chinensis*

ZHAO Song-feng

(Henan Tobacco Technical School, Xuchang Henan 461000, China)

**Abstract:** *Rosa chinensis* leaflet were treated in MS, Bs, White, the WPM medium and added sugar in MS medium with different concentration, 0 g/L, 30 g/L, 60 g/L, 90 g/L. Callus induction were studied. The result indicated that the induction rate was highest in MS medium, in 30 g/L sugar; The best medium was MS+6-BA 0.1 mg/L+NAA 0.1 mg/L+sugar 30 g/L+agar 7.5 g/L.

**Key words:** *Rosa chinensis*; Medium; Callus; Tissue culture