

# “月季杂 3”愈伤诱导的初步研究

尤 扬, 贾 文 庆, 周 建

(河南科技学院, 河南 新乡 453003)

**摘 要:**以“月季杂 3”为试材,研究了不同外植体、基本培养基及植物生长调节剂对诱导愈伤组织的影响。结果表明:适宜诱导愈伤的基本培养基为 MS+2,4-D 2.5 mg/L;诱导愈伤组织最佳的外植体为小叶;幼嫩叶片、暗培养等条件有利于愈伤组织的形成。

**关键词:**月季;愈伤组织;诱导

**中图分类号:**S 685.12 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)08-0125-03

月季(*Rosa chinensis*),原产于我国,是我国十大名花之一。国内外关于月季组织培养的报道很多,多是通过直接或间接的器官发生途径和体细胞胚发生途径进行研究,特别是以叶片、茎段、花瓣和花丝等为外植体在一些月季品种的植株再生研究上已经取得了一定进展<sup>[1]</sup>。但月季的再生受基因型的影响很大,不同的品种在愈伤诱导、胚状体及芽器官等的发生方面差异很大,且要获得相对高频率的再生植株的技术尚未成熟<sup>[2]</sup>。因此,仍需加强月季植株再生研究,探索通过组织培养途径加快育种步伐和提高种苗的繁殖速度,早日实现月季种苗工厂化生产以满足市场的需求。为月季的组培快繁技术和再生体系的研究以及增殖推广、遗传转化、培育新品种奠定基础,对种质资源保存、供应种苗提供重要意义和研究价值。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

小复叶及小叶取自上海园林科研所组培室的月季品种“月季杂 3”(德国月季(*Rosa* L)与红刺玫(*Rosa multiflora* var. *cathayensis*)的杂交)生长 2~3 个月左右的无菌苗。

### 1.2 试验方法

1.2.1 不同激素浓度、不同培养条件对愈伤组织诱导的影响 将“月季杂 3”生长 2 个月的无菌苗的小叶(从复叶上剪取,不做处理。下同)接种于(MS+2,4-D,加入植物凝胶 2 g/L,蔗糖 30 g/L。pH 调至 5.84~5.85。)培养基上,添加 2,4-D 的浓度分别为:1.0、1.5、2.0、2.5、3.0 mg/L。暗培养和光照培养 16 h 条件下,各接种 15 个平板,每平板接种 5~6 个外植体。20 d 后观察愈伤组织的生长状况并统计其愈伤组织诱导率。

**第一作者简介:**尤扬(1973-),男,河南罗山人,硕士,讲师,现主要从事园林植物的教研工作。E-mail: youyang1028@126.com。

**基金项目:**河南科技学院重点科研基金资助项目(050122)。

**收稿日期:**2011-12-05

1.2.2 不同外植体对愈伤组织诱导的影响 将生长 45 d 的无菌苗的小叶和小复叶,接种到 MS+2,4-D 2.5 mg/L 培养基上,暗培养和光照培养 16 h 条件下,每个处理接种 6 个平板,每平板接种 5~6 个外植体。每隔 2 d 观察 1 次愈伤组织分化、生长状况,20 d 后观察愈伤组织的生长状况,并统计其愈伤组织诱导率。

1.2.3 不同生长时期、不同部位的外植体对愈伤组织诱导的影响 将生长 2~3 个月左右的无菌苗的小叶接种到 MS+2,4-D 2.5 mg/L 培养基上(暗培养),每个处理接种 6 个平板,每平板接种 5~6 个外植体。20 d 后观察愈伤组织的生长状况,并统计其愈伤组织诱导率。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同激素浓度、不同培养条件对诱导愈伤组织的影响

由表 1 可知,不同浓度的 2,4-D 对“月季杂 3”的小叶愈伤组织的分化、生长状况有明显的差异。观察发现,小叶的愈伤组织最早是在叶柄处产生的,接种后 8 d 叶柄基部开始膨大,12 d 后大部分叶柄基部出现膨大,产生点状透明愈伤组织。试验结果表明,2,4-D 浓度为 2.5 mg/L 时,愈伤组织生长状况较好且诱导率较高。即“月季杂 3”诱导愈伤组织的最佳培养为 MS+2,4-D 2.5 mg/L。当 2,4-D 浓度越接近 2.5 mg/L 时,诱导率越高,且随浓度不同的变化诱导率呈现“低-高-低”的变化。由表 1 可知,月季小叶在同浓度条件下,暗培养的愈伤组织诱导率均高于光照培养。光照培养条件下愈伤组织分化、生长较缓慢。

**表 1 激素浓度和培养条件对愈伤组织诱导的影响**

2,4-D 浓度/mg · L <sup>-1</sup>	全暗培养		光照培养 16 h	
	诱导率/%	生长状况	诱导率/%	生长状况
1.0	37	+	25	-
1.5	44	+	33	-
2.0	56	++	43	+
2.5	87	+++	68	++
3.0	62	++	52	+

注:“-”表示生长,“+”表示生长一般,“++”表示生长良好,“+++”表示生长最好。下同。

## 2.2 不同外植体对诱导愈伤组织的影响

由图 1 可知,在暗培养和光照培养条件下,小叶愈伤组织诱导率均高于小复叶。与小复叶相比,小叶更有利于分化愈伤组织。小叶在培养基 MS+2,4-D 2.5 mg/L 上愈伤组织诱导率最高。在暗培养条件下,小叶接种 5~6 d 后在叶柄处产生了肉眼可见的点状愈伤组织,而小复叶在接种 7~9 d 后才产生基部膨大。光照条件下的愈伤生长缓慢,诱导率低。从长势来看,小叶也优于小复叶(图 2)。

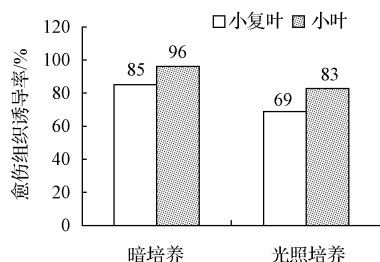


图 1 小复叶、小叶的愈伤组织诱导率

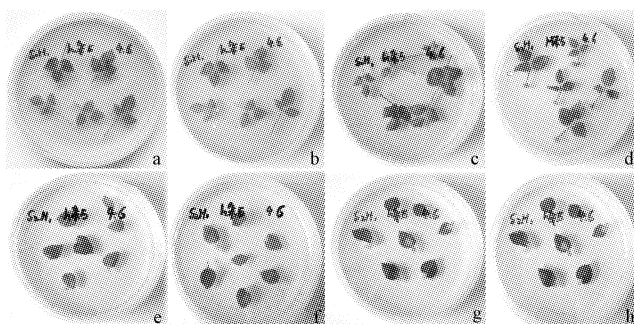


图 2 “月季杂 3”在培养基 MS+2,4-D 2.5 mg/L 上的生长状况  
注:a 和 e:3 d;b 和 f:8 d;c 和 g:12 d;d 和 h:18 d。

## 2.3 不同生长时期、不同部位的外植体对诱导愈伤组织的影响

由表 2 可知,在进行愈伤组织诱导时,植物叶片幼嫩程度的不同,对愈伤组织的诱导也有影响。幼嫩小叶诱导愈伤组织褐化率最低、诱导率最高。在生长 2 个月左右的无菌苗中,中部小叶(顶生第 6 片和第 7 片叶)的诱导率最高,比上部 4~5 片叶和下部 8~9 片的诱导率高出 19%、32%;在生长 3 个月的无菌苗中,上部小叶(顶生第 3 片和第 5 片叶)的诱导率最高。比中部 5~7 片叶的诱导率高出 12%,比下部 7~9 片高出近 2 倍(40%)。观察中发现,生长 2 个月的无菌苗从植株顶部往下取材,其诱导率呈现“低-高-低”的变化;生长 3 个月的无菌苗从植株顶部往下取材,呈下降趋势。

表 2 叶片幼嫩程度对诱导愈伤组织的影响

生长时期	外植体部位	接种数/个	诱导率/%	生长势
2 个月	上部 4~5 片叶	35	78	+
	中部 6~7 片叶	30	97	++
	下部 8~9 片叶	33	65	+
3 个月	上部 3~5 片叶	38	88	++
	中部 5~7 片叶	42	76	+
	下部 7~9 片叶	40	48	+

## 3 结论与讨论

该试验表明,在基本培养基中添加生长剂 2,4-D 有利愈伤组织的诱导,2,4-D 的最佳浓度为 2.5 mg/L,适宜诱导愈伤的培养基为 MS+2,4-D 2.5 mg/L。光照在诱导愈伤组织过程中起重要作用,光通过调节糖代谢中关键酶的活性来调节糖代谢水平,使其协同参与对愈伤组织生长、分化的调节。该试验在光照和黑暗条件下分别进行“月季杂 3”小叶愈伤组织的诱导培养。观察发现,暗培养条件下愈伤组织分化、生长比光照培养下提前 5~6 d,可能是光照强度较强、光照时间长所引起的,造成了光抑制现象,影响了愈伤分化、生长的速度。说明一定时间的暗培养对月季小叶诱导愈伤有显著的促进作用。该试验表明,“月季杂 3”的小叶在暗培养的环境下更有利于愈伤组织的形成,其适宜的培养基为 MS+2,4-D 2.5 mg/L。

愈伤组织的形成与否和长势好坏除与培养基成分、光照条件、生长调节剂种类及添加量有关外,也受外植体的取材部位不同及生长时期不同(幼嫩程度)等诸多因素的共同影响。外植体的取材部位不同,愈伤组织的分化、生长速度不一样。该试验结果表明,小叶较小复叶分化生长快,愈伤诱导率高。说明叶片诱导愈伤时受多种因子的影响,也可能与材料的基因型有关。生长幼嫩的小叶有利于愈伤组织的诱导;愈伤组织的生长、分化状况良好。

## 参考文献

- [1] 刘军,丰震,赵兰勇,等.影响月季叶片愈伤组织诱导因素的初步探讨[J].山东林业科技,2004(3):15-16.
- [2] 刘会超,郭丽娟,贾文庆.月季组织培养研究进展[J].河南科技学院学报,2009(7):45-46.
- [3] 林娅,郑玉梅,刘青林.影响月季愈伤组织诱导和分化的因素[J].分子植物育种,2006,4(2):223-227.
- [4] 高莉萍,包满珠.月季-萨蔓莎愈伤组织的诱导及植株再生[J].园艺学报,2005,32(3):534-536.
- [5] 张常青,洪波,王海琴,等.地被月季‘Royal Bassino’高频再生体系的建立[J].园艺学报,2005,32(6):1065-1069.
- [6] 毕艳娟.植物生长调节剂对丰华月季茎段培养的影响[J].河北农业技术师范学院学报,1994,8(3):26-29.
- [7] 朱鹿鸣,金韵琴,周娟芳,等.名贵月季试管繁殖和试管苗移栽[J].园艺学报,1985,12(4):273-276.
- [8] 叶贻勋.月季的离体快速繁殖技术[J].福建农业大学学报,2000,29(2):172-175.
- [9] 林玉红.月季试管苗繁殖的研究[J].甘肃农业科技,1994(1):36-37.
- [10] 周俊彦,郭扶兴.苯基脲衍生物的细胞分裂素活性[J].植物生理学通报,1998(4):7-13.
- [11] Rout G R, Debata B K, Das P. *In vitro* clonal multiplication of roses [J]. Proc Natl Acad Sci, 1990, 60: 311-318.
- [12] Schneider J H M, Jacob J J S, van de Pol P A, et al. *Rosa multiflora* Ludiek, a rootstock with resistant features to the root lesion nematode *Pratylenchus vulnus* [J]. Scientia Horticulturae, 1995, 63: 37-45.
- [13] 张冬梅.花灌木新秀红刺玫[J].园林,2005(12):32.
- [14] 郑先波,夏国海,崔红,等.无籽西瓜种苗愈伤组织诱导研究[J].河南农业大学学报,2003,37(1):39-43.

# 鸡冠花的离体快繁及试管开花研究

梁 艳, 杨晓杰, 刘 敏, 范震宇, 朱 琨

(齐齐哈尔大学 生命科学与农林学院, 黑龙江 齐齐哈尔 161006)

**摘 要:**以鸡冠花种子培育的试管苗带腋芽的茎段为试材, 探讨不同外源激素(6-BA、NAA、KT、PP<sub>333</sub>)对鸡冠花快速繁殖及试管成花的影响。结果表明:MS+1.0 mg/L 6-BA+0.05 mg/L NAA 为最佳的鸡冠花不定芽诱导培养基, MS培养基中添加 1.0 mg/L KT 和 0.2 mg/L NAA 时诱导试管开花的效果最好, 基本培养基中(MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L)添加 0.5 mg/L PP<sub>333</sub> 开花情况最好。

**关键词:**鸡冠花; 快繁; 试管开花

**中图分类号:**S 681.303.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)08-0127-04

鸡冠花(*Celosia cristata*)花序顶生、显著, 形状色彩多样, 具有较高的观赏价值, 是重要的露地花坛花卉及品质优良的切花、干花材料, 同时鸡冠花在药用和食用方面具有很好的应用前景。目前对于鸡冠花市场需求量较大, 但由于鸡冠花为异花授粉植物, 品种间极易混杂, 造成种性退化, 且鸡冠花采用传统的播种繁殖, 繁殖系数低, 近年来国内应用的鸡冠花种源多为国外引进的 F<sub>1</sub> 代种子, 价格较高。为保持鸡冠花的优良性状, 该研究应用组织培养技术探讨了鸡冠花的快速繁殖技术, 同时研究在试管内诱导试管苗开花的技术, 对鸡冠花的工厂化生产的应用具有指导意义, 为研究植物的生殖发育提供了理想的试验体系, 同时试管花卉作为新型的观赏植物具有较大的市场潜力<sup>[1-2]</sup>。

**第一作者简介:**梁艳(1979-), 女, 在读博士, 讲师, 研究方向为园林植物生物技术。E-mail:liangyanyanliang@126.com。

**基金项目:**黑龙江省教育厅基金资助项目(11551544)。

**收稿日期:**2012-02-01

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

以矮生鸡冠花品系“和服”的种子为试材, 先将种子用添加洗衣粉的自来水浸泡 10 min, 再用自来水冲洗 30 min, 置于超净工作台上, 用 75%酒精漂洗 30 s, 用无菌水冲洗 3 次, 再用 0.1%升汞溶液浸泡 10 min, 无菌水冲洗 5~6 次, 将消毒后的种子接种在添加 0.1%活性炭的 MS 培养基上, 将种子经无菌培养 20 d 获得的试管苗作为试材。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 鸡冠花的快繁** 切取生长相对一致的经种子培养无菌苗 2~3 cm 带腋芽的茎段接入 MS 培养基, 蔗糖 30 g/L, 琼脂 7 g/L, pH 5.6, MS 培养基中添加激素浓度分别为 6-BA 0、0.5、1.0 mg/L 和 NAA 0、0.05、0.10、0.20 mg/L, 其它培养条件不变。培养条件: 温度(25±2)℃, 光照强度 1 500~2 000 lx, 光照时间 12 h/d。每处理接种 10 个, 3 次重复, 接种后定期观察记录试管苗生长情况。

## Study on Inducing Callus to the ‘Rose-3’

YOU Yang, JIA Wen-qing, ZHOU Jian

(Henan Institute of Science and Technology, Xinxiang, Henan 453003)

**Abstract:** The ‘rose-3’ was used as test materials to study the effects of different hormone concentration, basic medium and plant growth regulator on the leaves callus induction. The results showed that appropriate callus induction of basic medium for the best callus induction medium MS+2,4-D 2.5 mg/L. The best callus induction explant for small blade; young leaves and culture in dark were good for callus induction.

**Key words:** *Rosa chinensis*; callus; induction