

# “钻石玫瑰”高效再生体系研究

杨冬业<sup>1</sup>, 张丽珍<sup>2</sup>, 李柏林<sup>3</sup>

(1. 桂林医学院, 广西 桂林 541001; 2. 桂林师范高等专科学校 广西 桂林 541001; 3. 广西师范大学 生命科学院, 广西 桂林 541004)

**摘要:** 用 MS 作为基本培养基, 以带芽的“钻石玫瑰”茎段为外植体建立高效再生体系。结果表明: MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L 适合丛生芽诱导, 诱导率达 83%; MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.02 mg/L 适合继代增殖培养, 不定芽的增殖系数可达 5.83; MS+IBA 0.5 mg/L+NAA 0.5 mg/L 适合生根诱导, 诱导率为 95%。

**关键词:** 组织培养; “钻石玫瑰”; 再生

**中图分类号:** S 685.120.36 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2011)09-0154-03

当今市场上玫瑰以大型切花为主, 但有一类小型品种正悄然兴起。因其花枝短小, 花朵如豆扣般大小, 故美其名曰“钻石玫瑰”或“袖珍玫瑰”。“钻石玫瑰”既可以做切花, 又可以做盆花, 给人一种小巧玲珑、天真可爱的感觉。目前市场上的“钻石玫瑰”大多以扦插和嫁接作为繁殖手段, 但繁殖系数低。若以组织培养作为繁殖手段, 则在短期内就可以培育出大量质地优良的种苗, 满足市场需求。现以“钻石玫瑰”为外植体, 旨在构建“钻石玫瑰”的高频再生体系。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

以市场上购进的“钻石玫瑰”矮仙女(红色)品种嫩枝为试材。

### 1.2 培养条件

诱导丛生芽培养基(单位: mg/L, 下同): ①MS+6-BA

3.0+NAA 0.5; ②MS+6-BA 2.0+NAA 0.5; ③MS+6-BA 2.0+NAA 0.2; ④MS+6-BA 2.0+NAA 0.1。继代增殖培养基: ⑤MS+6-BA 2.0+NAA 0.05; ⑥MS+6-BA 1.0+NAA 0.02; ⑦MS+6-BA 1.0+NAA 0.01。生根培养基: ⑧MS+NAA 1.0; ⑨MS+NAA 0.5+IBA 0.5。丛生芽诱导培养基和继代增殖培养基为固体培养基, 每升培养基附加 0.7%琼脂、3%蔗糖 pH 6.0。生根培养基为不加琼脂的液体培养基。蔗糖为 3%培养温度(25±1)℃, 每日光照 2 000 lx, 12 h/d。

### 1.3 试验方法

**1.3.1 丛生芽诱导培养** 剪取当年生优良健壮带芽枝条洗净, 截成适当长度, 先用 70%酒精表面消毒 30 s, 然后放入 0.1%升汞中消毒 10 min, 再用无菌水冲洗 4~5 次, 用滤纸吸干水分, 切成带 1 个芽的 1 cm 左右茎段, 接入诱导丛生芽的培养基中培养。随时观察生长情况, 第 40 天统计结果。

**1.3.2 继代增殖培养** 形成丛生芽后, 切下丛生芽部位, 转接入继代增殖培养基中进行增殖培养。第 25 天统计结果。

**1.3.3 不定芽的生根培养** 待不定芽长至 2~3 cm 高时, 将其从基部切下, 接种到生根培养基上进行生根培

第一作者简介: 杨冬业(1976), 男, 广西昭平人, 硕士, 讲师, 现主要从事细胞工程研究工作。E-mail: gysxk@126.com。

收稿日期: 2011-02-18

## Research of Resist Mini-watermelon Plantlets to be Vitreous

SHI Xiao-yun

(Department of Biology and Chemical, Xingtai University, Xingtai, Hebei 054001)

**Abstract:** Mini-watermelon plantlets was used as test material, through adjusting the test environment and reagent concentrations to resist vitreous plantlets. The results showed that the seal materials of culture containers were cotton fillers, altered temperature treatment, lower concentration of 6-BA, inputted optical PVA can resist plantlets to be vitreous.

**Key words:** mini-watermelon; tissue culture; vitreous

养。第 20 天统计结果。

1.3.4 再生植株的移栽 待小植株根系发达后,进行驯化移栽,首先将瓶口打开,练苗 2~3 d,然后取出植株,小心洗净根部培养基,移栽于营养钵中。

2 结果与分析

2.1 丛生芽的诱导培养

把带芽的茎段接入培养基 7 d 后,基部开始产生少量愈伤组织,顶芽开始生长。2 周后,基部开始形成丛生芽。21~25 d 分化出 3~6 个芽,30~35 d 左右长出高 2~3 cm 具 5~8 片叶的无根苗(表 1)。要使植物组织分化出苗或快速繁殖,选择植物生长物质的种类和调节细胞分裂素与生长素的比例是关键<sup>[1]</sup>。不同浓度配比的生长调节物质对丛生芽的诱导形成稍有不同,①培养基上的外植体萌动较早,形成较多的愈伤组织,但形成有效芽的数量少,可能是由于激素浓度较高的原因,②、③和④培养基上由于细胞分裂素与生长素的比例不同造成了丛生芽的诱导率和丛生苗的生长情况有差异。结果表明,③培养基适合钻石玫瑰丛生芽的诱导,诱导率高达 83%,且苗生长健壮。

表 1 不同生长调节物质对“钻石玫瑰”丛生芽诱导的影响

培养基 序号	激素 mg · L <sup>-1</sup>		接种数 /块	分化丛生 芽数/块	诱导率 /%	生长情况
	6-BA	NAA				
①	3.0	0.5	30	20	67	苗较粗但有愈伤组织
②	2.0	0.5	30	21	70	苗粗壮适中,但数量少
③	2.0	0.2	30	25	83	苗多,且生长健壮
④	2.0	1.0	30	18	60	苗纤细 脆弱

2.2 继代增殖培养

当不定芽长成 2~3 cm 带 5~8 片叶片的小苗之后,即可转入继代培养基。根据激素使用递减原则<sup>[2]</sup>,即可获得较高的增殖系数,同时获得的苗也比较健壮。与诱导丛生芽相比,继代培养基中的 6-BA、NAA 的含量作了一些调整(表 2)。

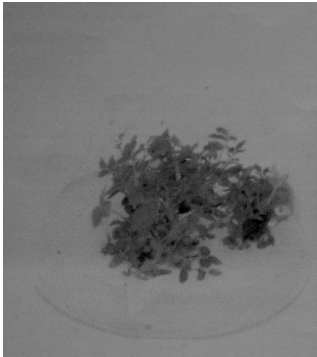


图 1 丛生芽继代增殖培养



图 2 组培苗诱导生根



图 3 组培苗的移栽

表 2 不同生长调节物质对“钻石玫瑰”继代增殖培养的影响

培养基 序号	激素/ mg · L <sup>-1</sup>		接种芽 数/块	增值芽 数/块	增值 系数	生长情况
	6-BA	NAA				
⑤	2.0	0.05	30	148	4.93	苗较粗但节间短 较矮
⑥	1.0	0.02	30	175	5.83	苗健壮,节间适中
⑦	1.0	0.01	30	132	4.40	苗纤细,脆弱

注:增值系数=增值芽数/接种芽数。

在增殖培养过程中,⑤培养基中的苗增殖速度较慢,长出的苗较矮,转接增殖一次需 30~35 d;⑥培养基中由于细胞分裂素与生长素的比例适中,增值系数最大,长出的苗健壮,转接增殖 1 次需 20~25 d。因此,可确定⑥较适合继代增殖培养。

2.3 生根诱导

当继代增殖的无根苗长到 3~4 cm 时,就转接到生根培养基中进行生根诱导。该试验采用液体培养基诱导生根,结果见表 3。

表 3 不同生长调节物质对钻石玫瑰生根诱导的影响

培养基 序号	激素/ mg · L <sup>-1</sup>		根的分化情况			
	NAA	IBA	根的长度/cm	侧根数/根	生长率/%	根的质量
⑧	1.0	0.0	0.5~1.0	3~4	85	纤细、易断
⑨	0.5	0.5	1.0~2.0	4~6	95	较粗、韧性好

培养过程中,第 7 天发现⑨培养基中的苗基部有白点,在第 12 天就长出 0.5 cm 的根,第 20 天长出的根就达 1~2 cm,且粗壮度、韧性均比⑧的要好。因此确认⑨对苗的生根效果更好。

待根长到 2~3 cm 时,将瓶口打开,练苗 2~3 d,然后取出植株,小心洗净根部培养基,移栽于营养钵中,移栽最好选在阴天或下午进行,空气湿度保持在 70%~80%。根据试验结果,⑨的苗成活率在 90%以上,而⑧的苗成活率仅为 80%~85%。

### 3 结论与讨论

利用组织培养技术建立高效再生体系是花卉、经济作物进行工厂化生产的关键。在对“钻石玫瑰”进行组织培养时,采用不同的植物生长调节剂浓度作对比试验。结果表明,不同植物生长调节剂配对外植体的不定芽分化效果不同,分化不定芽阶段,6-BA 与 NAA 的配合使用诱导效果非常明显,当 6-BA 浓度超过 5 mg/L 时,可以诱导出大量的愈伤组织,但形成的苗容易玻璃化,所以在分化阶段 6-BA 浓度应控制在 2 mg/L 以下。缺少 6-BA 或其浓度低于 0.5 mg/L 时,诱导出的不定芽极少甚至没有。生根阶段 NAA 作用最明显,IBA 次之,当 NAA 和 IBA 配合使用时,可以很好提高诱导率。适宜“钻石玫瑰”丛生芽诱导的培养基为:MS+6-BA 2.0+NAA 0.2 诱导率高达 83%;最佳继代增殖培养基为:MS+6-BA 1.0+NAA 0.02,每月继代增殖 1 次,增殖系数为 5.83;最佳生根培养基为:MS+NAA 0.5+IBA 0.5 诱导率为 95%。根据此再生体系可建立工厂化生产,满足市场需求。

在试验过程中遇到的最大问题是外植体的获得与切口褐变。外植体的获得与取材时间、取材部位和消毒剂消毒时间有关。经过反复试验,认为 4~5 月取新生长的嫩梢,用升汞消毒 10 min 效果最好,材料本身比较容易萌发,污染率比较低。接入培养基的外植体除了污染之外,褐变也是一个重要的威胁,于守超等<sup>[3]</sup>、杨博等<sup>[4]</sup>也遇上类似问题,一般来说,“钻石玫瑰”外植体接入培养基后 48 h 内即可见切口表面出现褐变的迹象。为了解决此问题,根据于守超等<sup>[3]</sup>的研究结果,在培养基

中加入 0.1% 活性炭,效果良好。

关于玫瑰的组织培养特别是大型玫瑰的组织培养前人已有报道<sup>[6-7]</sup>。但不同品种玫瑰的培养对培养基的要求也有一定差异。为了使“钻石玫瑰”外繁体系更加完善,适应规模化生产还需在以下几个方面进行深入研究。一是规模化的试管苗炼苗栽培尚需进一步观察研究,探讨成活率高的练苗技术。二是作为规模化、产业化生产,应进一步降低整个生产成本,提高生产效益,为此,还需在培养基的优化等方面进行深入的研究。三是在继代增殖培养过程中出现的变异苗,其生长特性发生了什么样的改变,哪些变异可能有价值,尚需大量试验,并在栽培过程中加以观察和检测。

#### 参考文献

- [1] 陈明霞,张晓丽,龚玉佳,等.“金丰一号”金银花组织培养技术研究[J].北方园艺,2010(23):126-128.
- [2] 张丽珍,徐淑庆,杨冬业,等.青蒿组织培养及其快速繁殖研究[J].生物学通报,2010,45(3):48-50.
- [3] 于守超,赵红霞,卢绪娟,等.紫枝玫瑰组织培养的研究[J].山东农业大学学报(自然科学版),2007,38(3):424-426.
- [4] 杨博,韩振海,张永,等.不同光照强度对玫瑰组织培养中初代培养物褐化的影响[J].中国农学通报,2003,19(6):194-196.
- [5] 于守超,张秀省,杨重军,等.紫枝玫瑰组织培养中抑制褐化措施的研究[J].浙江林业科技,2007,27(5):41-43.
- [6] 孙瑞芳.钻石玫瑰组培快繁技术研究[J].园林科技,2007(4):7-9.
- [7] 赵一鹏,赵兰枝,周岩,等.玫瑰的组织培养技术[J].西南园艺,2002,30(1):35-36.
- [8] 时俊锋,徐凌彦,李枝林,等.墨红玫瑰的组织培养研究[J].现代园艺,2008(8):11-12.

## Study on Effective Regeneration System of *Rosa rugosa*

YANG Dong-Ye<sup>1</sup>, ZHANG Li-Zhen<sup>2</sup>, LI Bo-Lin<sup>3</sup>

(1. Guilin Medical University, Guilin, Guangxi 541004; 2. Guilin Normal College, Guilin, Guangxi 541004; 3. College of Life Science, Guangxi Normal University, Guilin, Guangxi 541004)

**Abstract:** The stems with buds of diamond-rose (*Rosa sp.*) as explants were cultured on MS basal medium. The results showed that MS + 6-BA 2.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L was suitable for inducing adventitious buds, the induced rate reached to 83%. The perfect medium for adventitious shoot proliferation was the MS medium MS + 6-BA 2.0 mg/L + NAA 0.05 mg/L and the proliferation coefficient reached to 5.83. MS + IBA 0.5 mg/L + NAA 0.5 mg/L was the best suitable medium for inducing roots and the induced rate reached to 95%.

**Key words:** tissue culture; *Rosa rugosa*; regeneration.