

“大马士革”玫瑰茎尖组培快繁技术研究

黄 颖¹, 胡 磊², 谷 晴¹, 王冬良¹

(1. 安徽农业大学 园艺学院, 安徽 合肥 230036; 2. 安徽城市管理学院 艺术系, 安徽 合肥 230041)

摘 要:以“大马士革”玫瑰茎尖为外植体,以 MS 为基本培养基,研究了不同种类及浓度的植物生长调节剂对“大马士革”玫瑰茎尖分生、不定芽增殖及生根培养的影响。结果表明:外源激素 6-BA 和 NAA 在促进诱导茎尖萌发中起重要作用,最适宜组合为 6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L,诱导率达 93.3%;继代培养中,最佳增殖培养基为 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.05 mg/L;最佳生根培养基为 1/2MS+IBA 0.5 mg/L+0.3% 活性炭+0.7% 琼脂+3% 蔗糖。

关键词:“大马士革”玫瑰;组织培养;植物激素

中图分类号:S 685.12 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2014)03-0104-03

“大马士革”玫瑰(*Rosa damascena* Mill. var. *kazanli-ka*)属蔷薇科蔷薇属植物^[1],又名突厥蔷薇,其花香迷人,是油用玫瑰中的上品,因而被广泛种植用以提取玫瑰油。“大马士革”玫瑰精油被认为是玫瑰精油的极品。目前“大马士革”玫瑰是保加利亚种植的主要的玫瑰品种,也是世界公认的优质玫瑰品种^[2]。

“大马士革”玫瑰既无种子,又不易扦插成活,通常只能利用压条和嫁接繁殖^[3-4],繁殖速度较慢,而对“大马士革”玫瑰进行组培快繁,既可以在短期内形成一定的数量,又可以提高种苗的质量,目前有关“大马士革”玫瑰组培快繁的研究较少,为了提高“大马士革”玫瑰的繁殖速度,缓解目前玫瑰传统繁殖方式不能满足市场需要的困境,课题组开展了“大马士革”玫瑰组培快繁技术^[5]研究,以期为“大马士革”苗木扩繁提供技术支持。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试玫瑰“大马士革”采自安徽农业大学农萃园品种圃,选择生长健壮、无病虫害的 2 a 生健壮植株,取当年生枝条顶端的嫩茎,剥取顶芽,作为试验所用的外植体材料。

1.2 试验方法

1.2.1 初代培养物的建立 将取出的外植体材料,先用洗洁精进行表面清洗,之后放在自来水下冲洗 30 min,将放入的洗洁精冲洗干净;转入接种室,先用无菌蒸馏水冲洗 3~5 次,然后用 75% 的酒精冲洗消毒 15 s,再用无菌蒸馏水冲洗 3~5 次,然后用 0.1% 的升汞溶液浸泡 15 min,最后用无菌蒸馏水冲洗 5~7 次(确保将升汞冲洗干净);转入超净工作台,在紫外线灯下杀菌处理 20 min;最后放入无菌培养皿中备用^[5]。在诱导腋芽萌发阶段,植物生长调节物质选用 6-BA 和 NAA^[7],试验设 6-BA 为 0.3、0.6、1.0 mg/L 3 种浓度, NAA 为 0、0.05、0.10 mg/L 3 种浓度。接种时,按常规无菌操作方法,将芽接种至相应的诱导培养基。初代培养以 MS 为基本培养基,均添加 0.6% 琼脂和 3% 蔗糖, pH 5.8~6.0, 温度(24±1)℃, 光照时间 12 h/d, 光照强度 1 000~2 000 lx^[8]。30 d 后统计幼芽萌发及生长情况。

1.2.2 不定芽的继代培养 将已经分化的“大马士革”玫瑰不定芽切割下来,转接至 MS 为基本培养基,以不同 6-BA 和 NAA 作为植物生长调节物质进行调配,试验设 6-BA 为 0.3、0.6、1.0 mg/L 3 个浓度梯度, NAA 为 0、0.05、0.10 mg/L 3 个浓度梯度,共 9 个增殖培养基,每种增殖培养基接种 30 个不定芽,3 次重复。定期观察并记录不定芽增殖情况。

1.2.3 不定芽的生根培养 待不定芽长至 1~2 cm 左右,将其转入以 1/2MS 培养基中,试验设 IBA 0.3、0.5、0.7 mg/L 3 种浓度, 活性炭设 0.1%、0.2%、0.3%、0.4% 4 种浓度。pH 5.8~6.0。试管苗整个过程培养条件,温度(28±2)℃,空气相对湿度 70%~85%左右,光照

第一作者简介:黄颖(1990-),女,硕士研究生,研究方向为花卉栽培及应用。E-mail:454666474@qq.com.

责任作者:王冬良(1973-),女,硕士,副教授,研究方向为花卉栽培及应用。E-mail:wangdongliang@ahau.edu.cn.

基金项目:安徽农业大学第八批大学生科技创新基金资助项目(2010078)。

收稿日期:2013-10-23

时间 10~12 h/d,光照强度 1 500 lx^[9]。每 5 d 观察并记录不定芽生根情况,20 d 后统计根长及苗生长状况。

2 结果与分析

接种 15 d 后,各组试验均不同程度的有愈伤组织形成,但较细微;接种 30 d 后观察有明显的愈伤组织形成,并且在不同浓度的激素处理中愈伤组织生长情况出现细微差异,茎尖有萌发迹象;接种 45 d 后,各个不同浓度的激素处理中愈伤组织的生长情况出现较明显差异,茎尖萌发且各组存在差异;接种 60 d 后观察,各个不同浓度的激素处理中愈伤组织的生长情况出现明显差异,且茎尖萌发状况差异也较明显。

2.1 茎尖的分生萌发状况

接种于培养基中的外植体,1 周后开始膨大疏松,2 周后有少量愈伤组织形成,3 周后分化出绿色小芽点,并逐渐长出小芽,在第 4 周的时间里,小芽快速生长。但各组的萌发分化情况存在差异,试验得出 6-BA 是诱导腋芽的主要因素,NAA 对诱导影响不是很明显,当 6-BA 浓度一定时,NAA 浓度高的芽体分化率较高,由此可见,NAA 浓度较高时,有利于“大马士革”玫瑰的芽体分化。

由表 1 可知,在初代培养中,1-9 号培养基 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.10 mg/L+0.7%琼脂+3%蔗糖,不仅出芽率高,而且表现为丛生芽增殖。接种 15 d 后插入培养基中的茎尖基部有少量愈伤组织形成,接触培养基表面处腋芽原基开始萌动,发生小腋芽,在 21~30 d 内芽分化数基本不变。分化出的芽多为小于 1.0 cm 的芽苞,伸展达到 1.5 cm 长的嫩茎较少。

表 2 不同植物生长调节物质种类和浓度对“大马士革”玫瑰不定芽增殖的影响

培养基	6-BA/mg · L ⁻¹	NAA/mg · L ⁻¹	接种不定芽数/个	形成不定芽数/个	增殖倍数	不定芽生长状况
2-1	0.3	0	30	32	1.07	叶片迅速伸长,几乎不增殖
2-2	0.3	0.05	30	65	2.17	叶片迅速伸长,切口基部形成少量芽点
2-3	0.3	0.10	30	74	2.47	叶片迅速伸长,切口基部形成少量芽点
2-4	0.6	0	30	87	2.90	叶片迅速伸长,切口基部形成少量芽点
2-5	0.6	0.05	30	115	3.83	叶片迅速伸长,较多新芽形成,叶色发黄
2-6	0.6	0.10	30	107	3.57	叶片迅速伸长,新芽形成,有枯叶形成
2-7	1.0	0	30	124	4.13	叶片迅速伸长,新芽形成,有枯叶形成
2-8	1.0	0.05	30	136	4.53	叶片迅速伸长,较多新芽形成,叶色浓绿
2-9	1.0	0.10	30	113	3.77	叶片迅速伸长,切口基部形成少量芽点

2.3 “大马士革”玫瑰不定芽的生根培养

待“大马士革”玫瑰不定芽长至 1.5 cm 左右时,将健壮的不定芽从芽丛上切割下来,转入生根壮苗培养基,按照试验设计进行生根培养,观察试验现象,分析统计生根率。由表 3 可知,接种于生根培养基的无根苗,7 d 左右开

表 1 不同浓度的不同种类植物生长调节剂对“大马士革”玫瑰茎尖的影响

编号	6-BA/mg · L ⁻¹	NAA/mg · L ⁻¹	接种数/个	分化芽数/个	分化率/%
1-1	0.3	0	30	21	70.0
1-2	0.3	0.05	30	22	73.3
1-3	0.3	0.10	30	23	76.7
1-4	0.6	0	30	22	73.3
1-5	0.6	0.05	30	24	80.0
1-6	0.6	0.10	30	25	83.3
1-7	1.0	0	30	25	83.3
1-8	1.0	0.05	30	27	90.0
1-9	1.0	0.10	30	28	93.3

2.2 不同增殖培养基对“大马士革”玫瑰不定芽增殖的影响

表 2 表明,“大马士革”玫瑰不定芽的增殖既与培养基激素的种类和浓度有关,也与增殖苗的生长状况有关。经 20~30 d 培养,芽丛不仅分化出新芽,对其伸长生长也具有明显效果,叶片展开。与初代诱导系数相比,增殖系数有所增加,达到 6~8 倍,1.5 cm 长的芽苗数可达 60%。由于培养物处于最良好的环境条件、营养供应和激素调控下,排除了其它生物的竞争,能够按几何级数增殖。“大马士革”玫瑰丛生芽在 9 种增殖培养基中培养时,增殖的倍数和生长状况差异较大。在培养基 2-5、2-7、2-8 中,“大马士革”玫瑰不定芽的增殖倍数较大,而在其它培养基中增殖情况均不理想。其中,培养基 2-8 较为适合“大马士革”玫瑰不定芽增殖,形成的新芽叶色浓绿、生长快而且增殖能力强;而在 2-6 和 2-7 培养基中,培养物容易出现枯叶现象,继续增殖的能力差。因此,“大马士革”玫瑰组培继代增殖最佳激素配比为:MS + 6-BA 1.0 mg/L + NAA 0.05 mg/L。

始发生不定根,20 d 左右即可发生 5 mm 左右长的健壮根系,平均每株根数 5 条左右。最适宜生根的 IBA 浓度为 0.5 mg/L、最适宜的活性炭添加量为 0.3%,生根率最高,而且根的数量多而壮;高于或低于该添加量,生根率都会有所降低,根的数量也相对较少。因此,适宜“大马士革”

玫瑰生根的培养基配方为:1/2MS+IBA 0.5 mg/L+0.3% 活性炭+0.7% 琼脂+3% 蔗糖。

表 3 不同浓度的不同植物生长调节剂对“大马士革”玫瑰不定芽生根的影响 %

活性炭 /%	IBA/mg·L ⁻¹		
	0.3	0.5	0.7
0.1	81.8	90.9	72.7
0.2	84.1	93.2	77.3
0.3	88.6	97.7	79.5
0.4	86.3	95.4	75.0

3 结论

“大马士革”玫瑰组织培养快速繁殖,外植体以摘花芽后萌发的顶芽茎尖为最好;MS 培养基比较适合“大马士革”玫瑰的组织培养。该研究发现,主要影响“大马士革”玫瑰茎尖萌发的植物激素为 6-BA 和 NAA,高浓度的 6-BA 是“大马士革”玫瑰分化出不定芽的重要条件,而辅以低浓度的生长素则可诱导出增殖能力强的“大马士革”玫瑰不定芽。

该试验最终筛选出最佳初代培养基为 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L;最有利于“大马士革”玫瑰茎尖萌发的培养基为 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.05 mg/L+0.7% 琼脂+3% 蔗糖;生根培养基以 1/2MS+IBA 0.5 mg/L+0.3% 活性炭+0.7% 琼脂+3% 蔗糖效果最好。

采用“大马士革”玫瑰茎尖诱导完整植株的方法,可以不受季节和外界环境限制,在短时间内培育出大量再生植株^[10]。利用植物组织培养方式快速繁殖“大马士

革”玫瑰,既节省外植体材料,又能缩短繁育时间,而且所培育出的植株幼苗健壮不易感病^[11]。从“大马士革”玫瑰的一叶一芽开始繁殖,可直接一次性培育出在自然条件下生长的植株。该试验对于研究“大马士革”玫瑰的茎尖萌发以及植株再生,有一定的参考价值。另外,采用“大马士革”玫瑰茎尖诱导方法进行快速繁殖,变异少,可用于“大马士革”玫瑰种质资源的试管保存,具有其它繁殖方式不可取代的优越性,在“大马士革”玫瑰种质资源保存及种苗生产上已得到越来越广泛的应用。

参考文献

- [1] 丁永南. 怎样种玫瑰[M]. 上海:上海科学技术出版社,1983:11.
- [2] 刘香芬. 月季的栽培[J]. 中国林副特产,2004(8):10-12.
- [3] 林鑫,潘玉兴,刘洪珠. 食用玫瑰栽培技术[J]. 北京农业,2008(8):18-19.
- [4] 王贵森. 花卉栽培实用技术[M]. 福州:福建科学技术出版社,1998:9.
- [5] 赵蓓蓓,刘松,秦岭. 大马士革玫瑰组培快繁体系的初步研究[C]. 合肥:中国园艺学会,2011-10-19.
- [6] 谭文澄,戴策刚. 观赏植物组织培养技术[M]. 北京:中国林业出版社,1991.
- [7] 陈琰芳,钮志东,钮心恪. 月季[M]. 北京:中国农业出版社,2000:8.
- [8] 丁雪珍. 大马士革蔷薇的组织培养与快速繁殖[J]. 山东林业科技,2008(3):51-52.
- [9] 邓燕红,余春香. 玫瑰组织培养研究[J]. 凯里学院学报,2008,12(6):104-105.
- [10] 彭东辉,张启翔,陈龙菊. 紫毛野牡丹组织培养与快速繁殖研究[J]. 福建林学院学报,2010,30(1):6-10.
- [11] 王清连. 植物组织培养[M]. 北京:中国农业出版社,2002.

Study on Tissue Culture and Rapid Propagation on Stem Tip of *Rosa damascus*

HUANG Ying¹, HU Lei², GU Qing¹, WANG Dong-liang¹

(1. College of Horticulture, Anhui Agricultural University, Anhui, Hefei 230036; 2. Anhui Occupational College of City Management, Anhui, Hefei 230041)

Abstract: Taking stem tip of *Rosa damascena* as the explant, different kinds and different concentration of plant hormones in MS that influenced stem tip germination, adventitious bud proliferation and adventitious root were studied. The results showed that exogenous plant hormones 6-BA and NAA played an important role in fostering stem tip germination, and 6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L was the optimum combination, induction rate reached 93.3%; during the subculture, the optimum subculture medium proliferation was MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.05 mg/L; and the percentage of rooting medium was the highest containing 1/2MS+IBA 0.5 mg/L+0.3% activated carbon+0.7% agar+3% sugar.

Key words: *Rosa damascus*; tissue culture; plant hormones