

# 丰花月季再生体系的建立

赵培培, 车代弟, 王金刚, 樊金萍, 龚东芳\*

(东北农业大学园艺学院, 哈尔滨 150030)

**摘要:** 分别以丰花月季叶片、叶柄和茎段为外植体, 进行了愈伤组织的诱导及植株再生的研究。结果表明, 丰花月季诱导愈伤组织最佳激素浓度配比是  $1/2MS+2, 4D 5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}+BA 1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ; 所得到的愈伤组织在  $MS+6-BA 1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}+2, 4D 2.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}+GA_3 1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  的培养基上继代保存两个月后于  $MS+NAA 0.02 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}+TDZ 1.8 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}+KT 1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  上分化出不定芽; 不定芽在  $1/2MS+IBA 0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  上的生根率为 91.25%。

**关键词:** 丰花月季; 愈伤组织; 植株再生; 组织培养

**中图分类号:** S685.12; S601 **文献标识码:** A

丰花月季(*Rosa chinensis* var. *floribunda*)是世界栽培种类较多的多年生木本花卉之一, 具有分布广、适应性好、栽培容易等优点。建立高效的植株再生体系是利用月季基因工程技术对其进行遗传改良的基础。目前, 国外研究者们通过直接或间接的器官发生途径和体细胞胚发生途径, 以叶片、茎段、花瓣和花丝等为外植体在许多月季品种的植株再生上都获得了成功<sup>[1-5]</sup>。

本研究选择丰花月季品种为材料, 进行组培快繁技术和再生体系的研究, 为月季的遗传转化及培育新品种奠定基础。

## 1 材料与方 法

植物材料选用东北农业大学园林系提供的丰花月季, 原初苗取自荷兰, 定植于东北农业大学温室。试验于 2004~2006 年在东北农业大学进行。

**丰花月季无菌苗:** 从当年生枝条上剪取长为 1~2 cm 带有饱满但未萌发腋芽的茎段, 自来水冲洗干净后, 先用 75%酒精消毒 30 s, 再用 5%次氯酸钠消毒 8~10 min, 无菌水冲洗 4~5 次, 然后接种于诱导培养基上。腋芽萌发后, 从基部剪切, 转入增殖培养基  $MS+BA 3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}+NAA 0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  中。

**不同外植体再生试验:** 分别选取叶盘、叶柄及约 0.5 cm 长嫩幼茎作外植体, 接种在  $1/2MS$  附

加不同浓度 2, 4D 和 6-BA 的诱导愈伤培养基中, 在黑暗条件下分别培养 5~20 d 后, 将外植体转接到附加不同浓度的 IBA、TDZ 和 KT 的再生培养基中进行再生培养, 培养条件为: 温度  $(23 \pm 1) \text{ }^\circ\text{C}$ , 光周期(昼/夜)16 h/8 h, 光照强 2 000 lx。

**生根实验:** 不定芽长到 5 cm 时, 将不定芽切下转接到不同的生根培养基中进行生根培养。

## 2 结果与分析

### 2.1 愈伤组织的诱导

在丰花月季愈伤组织诱导时, 本试验采用 3 种外植体: 叶片、叶柄和茎段。经过 30 d 观察发现, 3 种外植体经过培养均诱导获得了愈伤组织。诱导得到的愈伤组织形态上差异不明显, 愈伤组织多数呈乳黄色, 部分呈绿、白色, 松散程度不一。

由表 1 可知, 不同的激素及激素浓度直接影响着愈伤组织的诱导率、状态和质地。 $1/2MS+2, 4D 5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  和  $1/2MS+2, 4D 10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  的培养基所诱导出的愈伤组织带有不定根(见图 I-1);  $1/2MS+2, 4D 5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}+BA 1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  的诱导率达到 100%, 并且所得愈伤呈乳黄色、质地疏松、表面光滑(见图 I-2)。因此认为诱导丰花月季愈伤组织的最佳培养基为  $1/2MS+2, 4D 5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}+BA 1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

### 2.2 愈伤组织的保存及分化

将由叶片、叶柄和茎段诱导出的愈伤组织转入含  $MS+6-BA 1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}+2, 4D 2.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}+GA_3 1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  的培养基上, 产生大量新的愈伤组织, 所扩增出的

收稿日期: 2007-03-22

作者简介: 赵培培(1981-), 女, 黑龙江人, 硕士研究生, 研究方向为园林植物与观赏园艺。

\*通讯作者 E-mail: shufangong@yahoo.com

愈伤组织颗粒细小, 状态均一, 生活力强, 适合于长期保存(见图 I-3、I-4)。

选取继代两个月的愈伤组织转接到含有 NAA、TDZ、KT 的分化培养基上进行再生培养, 在培养基 MS+NAA 0.02 mg·L<sup>-1</sup>+TDZ 1.8 mg·L<sup>-1</sup>+KT 1 mg·L<sup>-1</sup> 上, 约 5% 的愈伤组织在培养 30 d 后分化出不定芽(见图 I-5)。

### 2.3 不定芽的生根培养

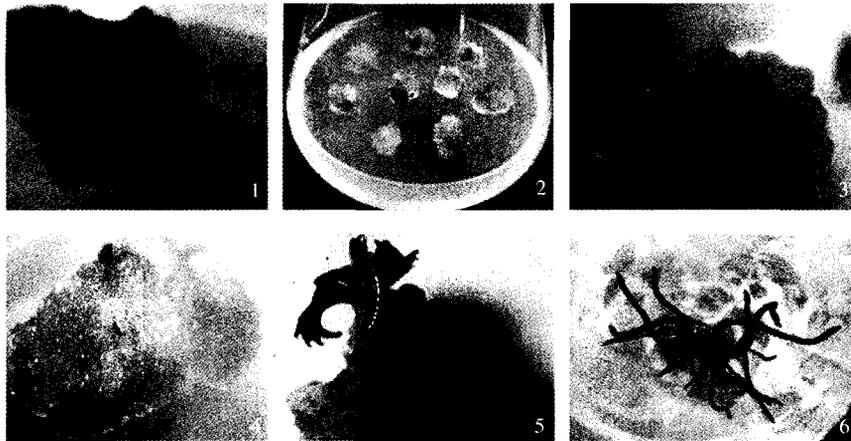
当不定芽长到 5 cm 时进行生根培养, 生根培养 20 d 后统计生根率, 具体情况见表 2。

4 种生根培养基中, MS+IBA 0.5 mg·L<sup>-1</sup> 的生根率最高(94%), 但根较细弱, 而 1/2MS+IBA 0.5 mg·L<sup>-1</sup> 生根率达到 91.25%, 且根较粗壮。因此最佳生根培养基为 1/2MS+IBA 0.5 mg·L<sup>-1</sup>(见图 I-6)。

表 1 不同培养基对愈伤组织诱导率的影响

Table 1 Effect of different medium on ratio of induction callus

试验号 No.	6-BA (mg·L <sup>-1</sup> )	2, 4D (mg·L <sup>-1</sup> )	愈伤诱导率(%) Average induction rate	备注 Remark
1	0	2.5	73.5	白色, 透明, 柔软
2	0	5.0	82.0	乳白, 透明, 有不定根
3	0	10.0	98.0	褐化, 有不定根
4	0.5	2.5	85.0	乳白, 透明, 柔软
5	0.5	5.0	100.0	淡黄, 透明, 柔软
6	0.5	10.0	100.0	淡黄, 透明, 柔软
7	1.0	2.5	97.0	白色, 致密
8	1.0	5.0	100.0	淡黄, 透明, 疏松
9	1.0	10.0	100.0	淡黄, 透明, 疏松



1-有不定根的愈伤组织; 2-愈伤组织的形成; 3、4-继代保存后的愈伤组织; 5-从愈伤组织上诱导出的不定芽; 6-生根  
1-Callus with adventitious shoot; 2-Callus formation; 3, 4-Subculture of the callus; 5-Adventitious buds induced from the callus; 6-Rooting

图版 I 丰花月季再生的不同阶段

Plate I Different phase of *Rose floribunda* regeneration

表 2 生根率比较

Table 2 Comparison of rooting percentage

培养基编号 No.	处理 Treatment	接种芽数 Total buds	生根芽数 Total rooting buds	生根率(%) Rate of rooting
1	MS+IBA 0.5 mg·L <sup>-1</sup>	80	75	94.00
2	MS	80	68	85.00
3	1/2MS+IBA 0.5 mg·L <sup>-1</sup>	80	73	91.25
4	1/2MS	80	60	75.00

### 3 讨 论

在植物的组织培养中,愈伤组织的形成与外植体的选择和外源激素作用密不可分。Rout 等以 Landora 材料,在近轴面的叶柄和中脉处产生的愈伤诱导率高达 92%;茎切端处产生的愈伤率为 76%<sup>[2]</sup>。

本试验采用叶片、叶柄和茎段诱导得到的愈伤组织,其诱导率和形态差异均不明显。高莉萍等使用高浓度的生长素能诱导产生有生活力的愈伤组织<sup>[4]</sup>,本试验在研究过程中发现单独使用高浓度的 2,4D 诱导愈伤时易形成不定根,若在 2,4D 中添加低浓度的 BA 可以改善这种现象。

在月季的再生研究中,利用 6-BA、TDZ、2,4D、NAA 等植物生长调节剂配比和不同培养条件的组合,通过愈伤组织、发生体细胞胚胎发生、器官直接发生等途径获得了再生芽,但其主要问题是品种和外植体依赖性强,芽再生率低<sup>[5]</sup>。本研究中将继代两个月的愈伤组织转接到分化培养基上,约 5%

的愈伤组织分化出不定芽,不定芽的诱导率仍比较低。在以后的研究中希望通过优化培养基及培养条件,能够提高愈伤组织植株的再生率,使该再生体系更加完善。

#### [参 考 文 献]

- [1] 林姪,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.
- [2] Rout G R, Samantaray S, Mottley J, et al. Biotechnology of the rose: a review of recent progress[J]. Scientia Horticulturae, 1999, 81: 201-228.
- [3] Xu M L, Li X Q, Schuyler K. DNA-methylation alterations and exchanges during *in vitro* cellular differentiation in rose (*Rosa hybrida* L.)[J]. Theor Appl Genet, 2004, 109: 899-910.
- [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.

## Establishment of rose(*Rosa chinensis* var. *floribunda*) regeneration system

ZHAO Peipei, CHE Daidi, WANG Jingang, FAN Jinping, GONG Shufang

(College of Horticulture, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

**Abstract:** Plant regeneration system was established from the callus tissue which was induced from leaf, leaf-stalk and stem segments of *Rose floribunda*. The result showed that the callus was obtained when cultured on 1/2MS medium with 2,4D 5 mg·L<sup>-1</sup>, 6-BA 1 mg·L<sup>-1</sup>. After the callus was maintained on MS medium with 6-BA 1 mg·L<sup>-1</sup>, 2,4D 2.5 mg·L<sup>-1</sup> and GA<sub>3</sub> 1 mg·L<sup>-1</sup> for two months, adventitious buds could be induced from the callus on MS medium with NAA 0.01 mg·L<sup>-1</sup>, TDZ 1.8 mg·L<sup>-1</sup> and KT 1 mg·L<sup>-1</sup>, and 1/2MS medium with IBA 0.05 mg·L<sup>-1</sup> was the optimum shoot rooting medium with 91.25% rooting.

**Key words:** rose; callus; plant regeneration; tissue culture