

# 野生黄蔷薇离体培养再生体系的建立

余晓丽<sup>1</sup>, 王世茹<sup>2</sup>, 褚学英<sup>3</sup>

(1. 武汉工业学院生工系, 湖北武汉 430023; 2. 河南南阳农业学校园艺系, 河南南阳 473000;

3. 南阳师范学院生物系, 河南南阳 473061)

**摘要:** 就野生黄蔷薇的离体培养再生体系进行了研究, 结果表明, 适于黄蔷薇分化的诱导培养基为改良 MS 附加 AgNO<sub>3</sub> 3.0 mg/L、6-BA 1.5 mg/L、NAA 0.5 mg/L、琼脂 6.5 g/L、蔗糖 30 g/L, 最高分化率达 94%, 以改良 MS 附加 AgNO<sub>3</sub> 3.0 mg/L、6-BA 1.5 mg/L、NAA 0.05 mg/L、琼脂 6.5 g/L、蔗糖 30 g/L 作增殖培养基效果最好, 增殖倍数为 4.5; 适于生根的培养基为改良 1/2MS 附加 AgNO<sub>3</sub> 4.5 mg/L、IBA 0.2 mg/L、0.2% 活性炭、琼脂 4.0 g/L、蔗糖 20 g/L, 生根率达 90%。

**关键词:** 黄蔷薇; 组织培养; 离体快繁; 再生; 生长调节物质

**中图分类号:** Q949.751.8 **文献标识码:** A **文章编号:** 1002-1302(2007)03-0117-02

野生黄蔷薇<sup>[1]</sup>, 蔷薇属, 生长在荒山野岭、气候环境恶劣的地方, 其根系强壮, 茎粗壮, 直立性强, 有较强的抗寒性及抗病性, 非常适合作月季砧木。黄蔷薇常规方法繁殖系数低<sup>[2]</sup>, 有关黄蔷薇的组织培养国内外尚未未见报道, 本研究旨在筛选出适于黄蔷薇离体培养再生的最佳培养基, 为野生黄蔷薇的组织培养与离体快繁提供技术参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

黄蔷薇 (*Rosa hugonis*) 采自河南的伏牛山区。

### 1.2 黄蔷薇无菌苗

取当年生带腋芽茎段, 流水冲洗 60~120 min 后, 70% 酒精处理 5~10 s, 再用 0.1% 升汞溶液表面灭菌 10~20 min, 无菌水冲洗 4~5 次, 接种于诱导培养基上。

### 1.3 不定芽的诱导分化

切去无菌苗两端已褪色的组织, 将茎段切成 1.5 cm 左右长的小段, 接种于诱导分化培养基上, 培养基为改良 MS 附加 6-BA 0.5~2.5 mg/L、NAA 0~1.0 mg/L、AgNO<sub>3</sub> 3.5 mg/L、蔗糖 30 g/L、琼脂 6.5 g/L (pH 值 5.8), 每瓶接种 1 个茎段, 共接 30 瓶, 重复 3 次。培养室温度为 22~26 °C, 光强约 25 mol/(m<sup>2</sup>·s), 每天光照 14 h。30 d 继代 1 次。

### 1.4 不定芽的增殖

取无菌苗茎段, 接种到增殖培养基上继代培养。继代培养基为改良 MS 附加 6-BA 1.0~2.5 mg/L、NAA 0~0.1 mg/L、AgNO<sub>3</sub> 3.5 mg/L、蔗糖 30 g/L、琼脂 6.5 g/L。培养条件同上。30 d 继代 1 次。

### 1.5 生根及移栽成苗

切取 2 cm 长的不定芽接种于生根改良培养基上, 生根培养基为 1/2MS 附加 IBA 0~0.2 mg/L、NAA 0~0.2 mg/L、AgNO<sub>3</sub> 4.0 mg/L、蔗糖 20 g/L、琼脂 4.5 g/L、0.2% 活性炭, 培养条件同上。生根苗炼苗后移到过渡基质上。

## 2 结果与分析

### 2.1 不定芽的诱导和分化

根据资料<sup>[3-5]</sup>分析及预试验, 确定 AgNO<sub>3</sub> 的浓度为 3.5 mg/L, 将无菌外植体接种于 1~12 号诱导分化培养基上。30 d 后在 2、6、8、10、12 号培养基上都有不定芽分化, 以 6 号培养基分化率最高, 达 94% (表 1)。

表 1 不同生长调节物质组合对野生黄蔷薇不定芽诱导的影响

培养基 编号	植物生长调节剂及浓度 (mg/L)		接种数	分化数	分化率 (%)
	6-BA	NAA			
2	2.0	0.1	90	70	78
6	2.0	0.5	85	80	94
8	1.5	0.5	89	74	83
10	1.5	0.1	86	76	88
12	1.0	0.1	88	68	77

### 2.2 不定芽的增殖

将不定芽接种于 1~10 号增殖培养基<sup>[6-7]</sup>上,

收稿日期: 2006-11-29

基金项目: 南阳市 2005 年科技攻关项目 (编号: 2005PT063)。

作者简介: 余晓丽 (1963—), 女, 河南南阳人, 副教授, 从事细胞生物学教研工作。Tel: (027) 63492552; E-mail: yxll268@126.com。

30 d 后在 3、5、7、8、10 号培养基上都有不定芽分化,以 7 号培养基的增殖倍数最高,达 4.5 倍(表 2)。

表 2 不同生长调节物质组合对野生黄蔷薇不定芽增殖的影响

培养基 编号	植物生长调节剂及浓度(mg/L)		接种数	分化数	分化率 (%)	平均不 定芽数
	6-BA	NAA				
3	1.0	0.05	86	70	81	3.0
5	1.5	0.05	87	67	77	2.5
7	2.0	0.05	89	79	89	4.5
8	2.0	0.1	90	71	79	2.8
10	2.5	0.1	84	64	76	2.3

### 2.3 生根及移栽成苗

根据资料<sup>[8]</sup>分析及预试验,确定 AgNO<sub>3</sub> 的浓度为 4.0 mg/L,活性炭的浓度为 0.2%,将不定芽接种于 1~6 号生根培养基上,将诱根培养基中琼脂用量减近半,移栽洗根时不易伤根。30 d 后在 2、3、5、6 号培养基上都有根的分化,以 5 号培养基的生根率最高(表 3)。30 d 形成完整的根系后,移植到过渡基质上,30 d 后小苗成活。

表 3 不同生长调节物质组合对野生黄蔷薇不定芽生根的影响

培养基 编号	植物生长调节剂及浓度(mg/L)		接种数	分化数	分化率 (%)	均生 根数
	NAA	IBA				
2	0.1	0	90	70	78	2.4
3	0.2	0	89	74	83	3.5
5	0	0.1	90	81	90	4.3
6	0	0.2	88	71	81	3.0

## 3 结论

在植物组织培养中,生物调节物质的浓度和比值对根、芽的生长影响较大。细胞分裂素 6-BA/生长素 NAA 比值高时,诱导芽的分化;两者比值适中时,产生愈伤组织;比值低时,诱导根的分化。因此,要想在短期内得到大量的组培苗,掌握好 6-BA 和 NAA 的比例是很重要的。在野生黄蔷薇的离体培养中发现,不定芽常出现不同程度的黄化现象。根据资料分析及预试验,在诱导、增殖及生根阶段加入适量的 AgNO<sub>3</sub> 对黄化现象有一定的控制作用。AgNO<sub>3</sub> 对植物再生体系构建的作用机制尚未清楚,目前,一般认为,Ag 离子是较好的乙烯活性抑制剂,能竞争地作用于乙烯作用部位,从而抑制乙烯的产生,

防止外植体产生过多的乙烯对植株再生的抑制作用。在生根阶段有一定量的试管苗出现褐化现象,这是因为组织受到损伤,多酚氧化酶被激活使酚类物质被氧化为醌类物质,它可导致培养材料死亡。我们在培养基中加入活性炭,有效地解除了褐化现象。为了提高工效,降低成本,将诱根培养基中的琼脂减量使用,使培养基呈半液体状态,结果表明,在半液体状态的生根培养基上可提早生根 4 d 左右,移栽洗根较为容易,不易伤根,成活率高。用组织培养的方法不但可大幅度提高野生黄蔷薇的繁殖速率与繁殖频率,而且试管苗移栽植株根系发达、生长健壮、苗木整齐,是批量繁殖和生产商品苗的一种好方法。

综上所述,有利于野生黄蔷薇离体培养细胞分化的诱导培养基为改良 MS 附加 AgNO<sub>3</sub> 3.5 mg/L、6-BA 2.0 mg/L、NAA 0.5 mg/L、琼脂 6.5 g/L、蔗糖 30 g/L;以改良 MS 附加 AgNO<sub>3</sub> 3.5 mg/L、6-BA 2.0 mg/L、NAA 0.05 mg/L、琼脂 6.5 g/L、蔗糖 30 g/L 作为增殖培养基效果最好,增殖倍数为 4.5;利于生根的培养基为改良 1/2MS 附加 AgNO<sub>3</sub> 4.0 mg/L、IBA 0.1 mg/L、0.2% 活性炭、琼脂 4.0 g/L、蔗糖 20 g/L,生根率达 90%。

### 参考文献:

- [1] 李文鲜. 月季[M]. 北京:中国林业出版社,2004:94-95.
- [2] 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.
- [3] Ibrahim R, Debergh H P C. Factors controlling high efficiency adventitious bud formation and plant regeneration from *in vitro* leaf explants of rose[J]. *Scientia Horticulturae*,2001,88(1):41-57.
- [4] 叶贻勋,黄青峰,黄瑞方,等. 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.
- [5] 崔群香,朱士农,刘卫东. 彩色辣椒子叶离体再生培养基的筛选[J]. 江苏农业科学,2005(2):73-74.
- [6] Li X, Krasayansk S F. Somatic embryogenesis, secondary somatic embryogenesis, and shoot organogenesis in *rosa*[J]. *Journal of Plant Physiology*,2002,159(3):313-319.
- [7] Debasis C, Azad M, Datta S K. *In vitro* propagation of rose cultivars[J]. *Indian Journal of Plant Physiology*,2002,5(2):189-192.
- [8] 杨倩,彭春生. 树月季砧木引种驯化与快繁[J]. 北京林业大学学报,2003,25(2):85-93.