

重瓣红玫瑰组织培养中培养基和培养条件的筛选

陈宇杰, 朱俊兆, 杨思学, 丁沃娜*

(宁波大学 科学技术学院, 浙江 宁波 315212)

摘要:为解决重瓣红玫瑰繁殖周期长, 不能满足日益增长的市场需求, 以山东平阴地区培育的一种重瓣玫瑰作为实验材料, 利用其带腋芽茎段为外植体, 进行腋芽初代培养、继代培养、无菌苗的生根及移栽, 探索其诱导、增殖、生根的最佳培养基配比及培养条件。结果表明, 重瓣红玫瑰诱导芽的最佳培养基配比为 MS culture medium (MS)+6-苄氨基腺嘌呤(6-BA) $1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +萘乙酸(NAA) $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +蔗糖 $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ +0.8%琼脂; 芽增殖的最佳培养基配比为 MS+6-BA $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +NAA $0.25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +蔗糖 $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ +0.8%琼脂; 最佳生根培养基为 1/2MS+吲哚丁酸(IBA) $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +蔗糖 $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ +0.8%琼脂+黑暗条件培养。

关键词: 重瓣红玫瑰; 带腋芽茎段; 激素; 组织培养

中图分类号: Q94-331

文献标志码: A

文章编号: 1001-5132 (2019) 01-0001-05

玫瑰含有丰富的氨基酸和维生素, 以超出苹果 700 多倍的维生素 C 含量成为维生素 C 之王^[1]。经过鞣制及蒸馏得到的玫瑰色素保留了玫瑰的营养, 可与其他食材完美融合, 使玫瑰制品成为富有营养的食物。重瓣红玫瑰是一种在中国被广泛食用的玫瑰。山东平阴的重瓣红玫瑰花瓣香甜, 极具芬芳, 被誉为“中国传统玫瑰的代表”。但传统的玫瑰繁殖方法与大部分人工培育的植物一样, 一般采用扦插、嫁接、分株、压条等无性繁殖, 所需周期长、产量有限, 远远不能满足市场需求^[2]。

植物快繁是一种利用植物细胞的全能性来进行快速繁殖的技术, 又被称为植物组织立体快繁技术。通过无菌操作将优良植物或难以繁殖、繁殖速度缓慢的植株的带腋芽茎段、茎尖、叶片等器官、组织或细胞进行离体培养, 经历初代、继代、生根、驯化等一系列流程快速获得完整再生植株^[3]。

目前, 国内外有关玫瑰组织培养的研究报道较少。1984 年黄钦才等^[4]对重瓣玫瑰的芽进行离体培养, 在 1/2MS+BA $0.5 \sim 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +2,4-D $0.5 \sim 2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +CH $500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 培养基上获得丛生苗; 1990

年潘立刚^[5]首次利用玫瑰的茎尖培育出再生植株; 同年, Ishioka 等^[6]研究表明, 用含 NH_4NO_3 的培养基诱导愈伤组织形成不定芽、生长素和细胞分裂素协同作用能促进玫瑰芽的形成; 1991 年 Matthews 等^[7]用节间组织建立胚质悬浮培养后游离原生质体, 从原生质体培养出小植株; 2001 年马纯艳等^[8]以叶片为外植体诱导愈伤组织, 得出玫瑰叶片愈伤组织诱导的最佳培养及组成; Dohm 等^[9]试验了 50 个玫瑰品种, 发现生长素、细胞分裂素必须分开使用才能产生再生植株; 2003 年于福科^[10]团队研究了玫瑰组培快繁中的关键步骤后提出外植体灭菌的最佳条件及各培养阶段培养基的最佳压力强度; 同年, 杨博等^[11]研究了光照对玫瑰组织培养过程中褐化的影响, 最终发现遮阴处理能影响总酚的合成, 控制总酚的含量, 从而减少玫瑰组培过程的褐化现象; 2015 年徐立军等^[12]研究了不同浓度的植物生长调节剂组合对大马士革玫瑰无菌芽的启动、诱导、增殖、生根的影响; 同年, 靳松等^[13]对食用玫瑰墨玉的快繁技术做了研究, 发现横竖两种接种方式对初代培养有较大影响, 横接更有利

收稿日期: 2018-06-19.

宁波大学学报(理工版) 网址: <http://journalg.nbu.edu.cn/>

基金项目: 宁波市自然科学基金 (2017A610291)。

第一作者: 陈宇杰 (1989—), 男, 浙江宁波人, 助理研究员, 主要研究方向: 植物分子生物学。E-mail: chen_yujie@nbu.edu.cn

*通信作者: 丁沃娜 (1981—), 女, 浙江舟山人, 博士/副教授, 主要研究方向: 植物分子生物学。E-mail: dingwona@nbu.edu.cn

于芽的诱导和生长; 2016 年余志杰^[14]研究了牟平野生玫瑰组培各阶段的最佳激素组合, 并提出了最佳取材时间及最佳消毒方法; 同年, 闫钊^[15]提出了保加利亚玫瑰组培的最佳取材部位为枝条的中上部; 2017 年赵伟巍^[16]对保加利亚玫瑰组培的增殖阶段进行了研究, 发现 N-(2-氯-4-吡啶基)-N'-苯基脲(CPPU)是其最佳的细胞分裂素。

平阴重瓣红玫瑰是唯一入选中国药食同源食材的玫瑰品种, 有广阔的市场前景, 也是习栽品种。但植株抗性较差, 易得锈病, 传统的栽培方式远远不能满足市场需求。然而, 目前还没有关于平阴重瓣红玫瑰组织培养方面的详尽研究。为提高玫瑰繁殖的速度, 解决优良玫瑰品种微体快繁的技术难题, 缓解目前玫瑰传统繁殖方式不能满足市场需要的困境, 本研究以平阴重瓣红玫瑰的带腋芽茎段为实验材料, 对其微体快繁技术体系进行系统研究, 以期和平阴重瓣红玫瑰的快繁技术和遗传转化体系提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

2017 年 10 月在宁波天胜花鸟市场购买 20 株山东平阴重瓣红玫瑰作为实验材料, 于 2017 年 10 月至 2018 年 4 月在宁波大学植物分子生物学实验室进行实验。实验培养条件为: 温度(25±1)℃, 光照 1 500~2 000 lx, 并每天保持约 12 h 的光照^[12]。

1.2 实验方法

1.2.1 实验材料处理

挑选生长健壮、无病虫害的枝条进行消毒剪切。除去枝条上多余的小刺和侧芽。将枝条放置于流水下冲洗 30 min, 之后用软毛牙刷沾取洗衣粉反复刷洗, 在刷洗过程中将枝条上的灰尘刷洗干净, 且不损伤腋芽, 最后再放置在流水下冲洗 30 min, 用滤纸吸干, 放置杯中备用^[17]。

将清洗干净的外植体放置于清洁的培养皿中, 剪成 1.5~2.0 cm 至少带 1 个腋芽的茎段。将茎段放置烧杯中, 加入自来水及洗衣粉浸泡 10 min, 在流水中冲洗干净, 并用滤纸吸干水分备用。注意上切口平剪, 下切口斜剪^[18]。

1.2.2 外植体消毒

将剪切完的带腋芽茎段带入经紫外灯灭菌 1 h

的超清工作台中, 用 75% 的酒精消毒 30 s, 0.1% 的升汞(加几滴吐温去除茎段表面的绒毛)浸泡 5 min, 再用无菌水冲洗, 重复 5 次, 直至将表面的消毒液全部冲洗干净, 最后用无菌滤纸吸干植物表面水分^[19]。

1.2.3 初代培养

在 MS 和 1/2MS 培养基中加入不同质量浓度的 6-BA 及 NAA 进行初代培养, 共 8 组, 记为 C1~C8 组(表 1)。每天观察并记录外植体芽诱导情况, 30 d 后统计诱导率和外植体上诱导出的芽的高度。每个处理接种 10 瓶, 每个瓶接种 3 个外植体。

表 1 初代培养基试验设计方案

编号	培养基	6-BA/(mg·L ⁻¹)	NAA/(mg·L ⁻¹)
C1	MS	0.5	0
C2	MS	0.5	0.1
C3	MS	0.5	0.5
C4	MS	1.0	0.1
C5	MS	1.0	0.5
C6	MS	1.5	0.1
C7	MS	1.5	0.5
C8	1/2MS	1.5	0.1

1.2.4 增殖培养

初代培养后, 当观察到初代培养带腋芽的茎段上长出 2~3 cm 不定芽后, 将不定芽切下并去除多余的老化和黄化部位, 重新插入以 MS 和 1/2MS 为基本培养基, 添加不同质量浓度的 6-BA 和 NAA 的增殖培养基中^[20], 共 4 组, 记为 Z1~Z4 组(表 2)。30 d 后记录芽高度, 并计算每组的增殖系数。

表 2 增殖培养基试验设计方案

编号	培养基	6-BA/(mg·L ⁻¹)	NAA/(mg·L ⁻¹)
Z1	MS	1.0	0.05
Z2	MS	1.0	0.25
Z3	MS	2.0	0.05
Z4	1/2MS	2.0	0.05

1.2.5 生根培养

取增殖培养后所得的壮硕的 3 cm 以上的无菌苗, 洗净无菌苗底部残留的增殖培养基。之后将其转入含有不同质量浓度的 IBA 激素的生根培养基中, 同时改变光照处理的时间, 共 8 组, 记为 G1~G8 组(表 3)。30 d 后对生根率进行统计, 以了解各种因素对生根培养的影响^[21]。

表 3 生根培养基试验设计方案

编号	培养基	IBA/(mg·L ⁻¹)	暗处理/d
G1	MS	0.5	0
G2	MS	1.0	0
G3	1/2MS	0.5	0
G4	1/2MS	1.0	0
G5	1/2MS	1.0	5
G6	1/2MS	1.0	10
G7	1/2MS	1.0	15
G8	1/2MS	1.0	20

1.2.6 驯化与移栽

经过 30 d 的生根培养, 待根长至 2~3 cm, 苗高至 5 cm 后即可进行炼苗。保持室温 25℃, 将培养罐盖子旋开一半, 放置 3 d 后, 将盖子全部打开, 继续放置培养 3 d。开盖炼苗完成后, 取出生根苗, 洗净生根苗根部的培养基, 并多次用温水冲洗, 冲洗完成后移栽至市面上购买的通用型营养土。定期向叶面及根部喷水, 保持基部湿润。必要时用 3%~5% 的多菌灵喷洒, 以去土壤中导致腐烂的病菌^[22]。移栽培养 1 月后, 即可得到完整植株, 而且有很高的成活率。

2 结果与分析

2.1 初代培养

根据表 1, 在 MS 和 1/2MS 培养基中加入不同质量浓度的 6-BA 和 NAA 进行初代培养, 3 周后统计外植体启动数量, 并计算启动率(表 4)。

启动率=(启动数/未污染且未褐化致死的外植体总数)×100%。

表 4 不同组合条件对外植体启动率的影响

编号	总数/株	污染数/株	玻璃化或褐化/株	启动数/株	启动率/%	最高芽长/cm
C1	30	3	0	15	55	1.0
C2	30	5	1	15	63	3.2
C3	30	1	0	17	58	3.2
C4	30	5	0	18	72	3.8
C5	30	0	6	6	25	1.2
C6	30	5	0	23	92	4.2
C7	30	0	0	23	76	3.7
C8	30	2	7	13	62	3.6

从表 4 可看出, 当 6-BA 的质量浓度从 0.5 mg·L⁻¹

增加至 1.5 mg·L⁻¹ 时, 重瓣红玫瑰茎段腋芽的启动率呈上升趋势; 当 NAA 的质量浓度从 0 增加至 0.5 mg·L⁻¹ 时, 重瓣红玫瑰茎段腋芽的启动率呈先升后降的趋势。当 6-BA 的质量浓度达到 1.5 mg·L⁻¹, 且 NAA 的质量浓度为 0.1 mg·L⁻¹ 时, 启动率最高达 92%, 培养罐内的苗生长健壮且颜色嫩绿。但随着 NAA 质量浓度增加至 0.5 mg·L⁻¹ 时, 反而抑制了试管苗的启动率。当基本培养基改成 1/2MS 时, 相同激素条件下培养相同时间, 玫瑰芽的启动率远远低于当基本培养基为 MS 培养基时。

值得注意的是 C5 组实验产物, 芽的启动率很低, 但是植物底部切断处能生长出大量愈伤组织, 反而有较高的愈伤组织启动率。

综上所述, 最佳启动初代培养基为 C6 组: MS+6-BA 1.5 mg·L⁻¹+NAA 0.1 mg·L⁻¹+蔗糖 30 g·L⁻¹+0.8% 琼脂。C5 组: MS+6-BA 1 mg·L⁻¹+NAA 0.5 mg·L⁻¹+制糖 30 g·L⁻¹+0.8% 琼脂, 更适合愈伤组织的生长。

2.2 增殖培养

根据表 2, 在 MS 和 1/2MS 培养基中加入不同质量浓度的 6-BA 和 NAA 进行增殖培养。培养 1 月后记录增殖数量, 并计算增殖率(表 5)。

增殖率=继代培养后所产生的茎芽数之比/继代接种时的茎段数目。

表 5 不同组合条件对外植体增殖率的影响

实验组	培养基	6-BA/(mg·L ⁻¹)	NAA/(mg·L ⁻¹)	增殖率	芽高/cm
Z1	MS	1.0	0.05	1.9	2.1
Z2	MS	1.0	0.25	2.2	5.0
Z3	MS	2.0	0.05	4.2	3.2
Z4	1/2MS	2.0	0.05	3.0	2.5

从表 5 可发现, 6-BA 对组培苗增殖培养过程的增殖率的影响很大, 随着 6-BA 质量浓度从 1 mg·L⁻¹ 上升至 2 mg·L⁻¹, 组培苗更为茂盛, 生出的侧芽更多, 增殖系数随之成倍增加。表明 6-BA 主要诱导组培苗形成丛生芽, 增加组培过程中的增殖系数。

芽高分析发现, 对组培苗增殖过程中增殖芽的高度起到关键作用的影响因素为 NAA 质量浓度。在相同的基础培养基下培养, 添加相同质量浓度的 6-BA, 当 NAA 从 0.05 mg·L⁻¹ 上升至 0.25 mg·L⁻¹ 时, 芽的高度随之上升, 表明适宜质量浓度的 NAA 更适宜无菌苗的伸长。在 Z2 中发现, 再生苗

植株颜色较淡呈现淡绿色, 怀疑有玻璃化现象, 可能是因为培养罐中水汽过多. 相同激素下, 不同的基础培养基呈现不同的效果, MS 的增殖效果优于 1/2MS(表 5). 综上表明, 较为适宜的增殖培养条件为: MS+6-BA $2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +NAA $0.25\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +蔗糖 $30\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ +0.8%琼脂.

2.3 生根培养

根据表 3, 在 MS 和 1/2MS 培养基中加入不同质量浓度的 IBA 进行生根培养. 1 个月后记录组培苗的根长和生根率(表 6). 从表 6 可发现, IBA 的质量浓度从 $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 上升至 $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 组培苗的生根率也随之上升, 且当基本培养基为 1/2MS 生根培养的效果更佳. 值得关注的是, 从 G4~G8 组可得出, 黑暗处理的天数对该品种玫瑰的生根率和生根数量没有太大的影响, 但随着黑暗处理天数的增加, 对应组的根的最长长度也随之增加.

表 6 不同组合条件对外植体生根的影响

编号	生根率/%	平均根数/根	最长根长/cm
G1	32	3	1.8
G2	40	3	2.0
G3	64	4	2.3
G4	83	3	2.2
G5	85	5	2.4
G6	82	4	3.0
G7	78	4	3.4
G8	82	4	4.5

由此可得, 黑暗处理有助于重瓣红玫瑰根的伸长. 综合比较, 最佳的生根培养条件为 G8 组: 1/2MS+IBA $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +蔗糖 $30\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ +0.8%琼脂, 并处于黑暗条件下生根培养.

2.4 驯化与移栽

将生根培养完成的组培苗经过开盖炼苗 1 周后移栽. 第一星期内每日浇水 3 次, 保证少量多次, 之后每日浇水 1 次. 移栽 1 个月后, 得到生长健壮, 平均芽高在 25 cm 左右的玫瑰苗, 移栽后的组培苗成活率高达 95%.

3 讨论

研究表明, 实验中芽萌发最佳初代培养基为: MS+6-BA $1.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +NAA $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +蔗糖 $30\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ +0.8%琼脂, MS+6-BA $1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +NAA $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +蔗

糖 $30\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ +0.8%琼脂, 则适宜初代培养中愈伤组织的生长. 在初代培养中 6-BA 与 NAA 都是起主要作用的激素, 但 NAA 的过量会抑制其诱导. 最佳增殖培养基为: MS+6-BA $2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +NAA $0.05\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +蔗糖 $30\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ +0.8%琼脂, 6-BA 与 NAA 是不定芽增殖最重要的调节物质, 但两者起到的作用不同, 6-BA 的主要作用是诱导丛生芽的形成, 而 NAA 的主要作用是诱导芽的伸长. 最佳生根条件为: 1/2MS+IBA $1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 并处于黑暗条件下进行生根培养. 在生根培养中起主要作用的激素为 IBA, 黑暗条件对重瓣玫瑰的生根率没有大的影响, 但黑暗的培养条件是影响重瓣玫瑰根长的主要因素, 能大大促进组培苗的根的伸长.

试验发现, 平阴重瓣红玫瑰在组培过程中存在一定程度的褐化及玻璃化问题, 同时有一定数量的污染影响组培工作的效率. 此次实验过程中污染的情况较为严重, 且长菌的组培苗大多滋生的为霉菌, 其原因之一可能是外植体取材时间造成. 4 月至 12 月玫瑰带腋芽茎段外植体的污染率呈现直线上升趋势, 4 月污染率最低, 12 月污染率最高^[23]. 重瓣红玫瑰在 3 月至 5 月刚开始萌发出新枝条, 暴露的时间较短, 接触的细菌灰尘较少, 且春季气候较为凉爽, 细菌滋生较少; 之后 6 月至 9 月气候炎热多雨, 植株因雨水的冲刷沾满泥土还会有腐烂的现象, 该时间段细菌大量滋生, 操作过程中极易生菌, 且盛夏时褐化严重, 一些植株会处于休眠期, 需要对外植体进行数天的低温处理^[24]. 10 月到 12 月玫瑰枝条暴露时间增加, 病菌积累较多, 枝条开始木质化, 霉菌污染较为严重.

在初代培养与继代培养的过程中都出现了不同程度的植株玻璃化现象. 经过对玻璃化植株与正常生长苗生长情况比较发现, 玻璃化组培苗生长罐中普遍有过量的水汽, 且会有水滴沾在培养罐上. 因此推测造成组培过程中植物玻璃化的最大原因可能是容器中水汽过饱和. 适当增加琼脂含量或采用具透气性的封口膜能较大程度解决组培苗玻璃化的现象^[25].

参考文献:

- [1] 杨新征, 杨德, 张跃华. 玫瑰的价值及开发前景[J]. 新疆农业科学, 2004, 41(2): 110-112.
- [2] 张艳秋, 张天静, 孙敏杰, 等. 玫瑰组织培养快繁技术

- [J]. 科技情报开发与经济, 2008, 18(28):124-125.
- [3] 胡选萍. 我国植物组织培养研究进展[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(10):4095-4097.
- [4] 黄钦才, 董茂山, 林静芳. 重瓣玫瑰营养芽离体培养[J]. 植物生理学报, 1984(3):46-47.
- [5] 潘立刚. 玫瑰组织培养及胚状体诱导技术研究[J]. 黑龙江八一农垦大学学报, 1990(2):29-36.
- [6] Ishioka N, Tanimoto S. Plant regeneration from Bulgarian rose callus[J]. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 1990, 22(3):197-199.
- [7] Matthews D, Mottley J, Horan I, et al. A protoplast to plant system in roses[J]. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 1991, 24(3):173-180.
- [8] 马纯艳, 贾景明. 玫瑰叶片愈伤组织诱导的初步研究[J]. 沈阳师范大学学报(自然科学版), 2001, 19(3):59-62.
- [9] Dohm A, Ludwig C, Nehring K, et al. Somatic embryogenesis in roses[J]. Acta Horticulturae, 2001, 547:341-347.
- [10] 于福科. 关于玫瑰组培快繁关键技术的研究[D]. 咸阳: 西北农林科技大学, 2003.
- [11] 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.
- [12] 徐立军, 李志斌, 蒋淑磊, 等. 大马士革玫瑰组织培养技术研究[J]. 河北林业科技, 2015(2):19-21.
- [13] 靳松, 陈泽斌, 夏体渊, 等. 食用玫瑰组培快繁关键技术研究[J]. 西南农业学报, 2015, 28(6):2701-2705.
- [14] 余志杰. 牟平野生玫瑰茎段组织培养技术的研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2016.
- [15] 闫钊. 玫瑰花的组织培养研究[J]. 现代园艺, 2016(7):5-6.
- [16] 赵伟巍. 利用组织培养技术对保加利亚玫瑰快速繁殖的研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2017.
- [17] 邓燕红, 余春香. 玫瑰组织培养研究[J]. 凯里学院学报, 2008, 26(6):104-105.
- [18] 王志, 李鑫, 嵇国春, 等. 冷香玫瑰的组织培养研究[J]. 宁夏农林科技, 2012, 53(6):43-44.
- [19] 顾利利, 潘丹丹, 唐晓倩, 等. 红花玫瑰植物组织培养的研究[J]. 黑龙江农业科学, 2014(12):23-24.
- [20] 康冰, 于福科, 张广军, 等. 应用正交试验筛选玫瑰茎段增殖培养基[J]. 西北植物学报, 2003, 23(4):653-655.
- [21] 卢绪娟, 丰震, 赵兰勇, 等. 平阴玫瑰组培苗多酚含量及多酚氧化酶活性与其生根的关系[J]. 园艺学报, 2007, 34(3):695-698.
- [22] 梁称福. 植物组织培养研究进展与应用概况[J]. 经济林研究, 2005, 23(4):99-105.
- [23] 于守超, 张秀省, 杨重军. 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.
- [24] 由翠荣, 曲复宁, 龚雪琴, 等. 迷你玫瑰组织培养中细菌污染的防止[J]. 植物生理学报, 2004, 40(1):45-47.
- [25] 来文国, 童建新, 方献平. 植物组培中玻璃化现象及其预防措施[J]. 杭州农业与科技, 2012, 3(4):42-43.

Screening of culture media and conditions for tissue culture of *Rose rugosa* cv. Plena

CHEN Yu-jie, ZHU Jun-zhao, YANG Si-xue, DING Wo-na*

(College of Science & Technology, Ningbo University, Ningbo 315212, China)

Abstract: *Rose rugosa* Plena is widely consumed in China. However, traditional breeding methods such as cuttings, layering, and grafting can't satisfy the increasing demand of *Rose rugosa* Plena. The rapid *in vitro* propagation method is one of the important approaches to increase the propagation speed, the cultivation of new varieties, and production yield of roses. This research uses the *Rose rugosa* Plena cultivated in Pingyin, Shandong as the experimental material. Stems with axillary buds were used as explants for primary culture, proliferation culture, rooting culture and transplants. The best culture media and conditions were investigated. It shows that the optimal media for the primary culture, proliferation and rooting of *Rose rugosa* Plena are MS+6-BA $1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +NAA $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +30 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ sucrose+0.8% agar, MS + 6-BA $2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA $0.25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + 30 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ sucrose + 0.8% agar and 1/2MS + IBA $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ + 30 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ sucrose + 0.8% agar + dark, respectively.

Key words: *Rose rugosa* Plena; stem segment with axillary bud; hormone; tissue culture

(责任编辑 史小丽)