

月季‘阿维兰’离体快繁技术

陈永快, 邹 晖, 鞠玉栋

(福建省农业科学院 甘蔗研究所, 福建 漳州 363005)

摘 要: 取‘阿维兰’月季带侧芽幼嫩茎段, 以改良 MS 为基本培养基, 加入不同浓度的 6-BA、NAA 及活性炭, 通过对不同配方条件下月季诱导分化及生长状况的观察, 分析不同生长调节剂浓度以及有无活性炭对其分化及扩繁的影响, 并以不同浓度的 IBA 和 NAA 进行生根培养。结果表明, ‘阿维兰’月季离体侧芽诱导的适宜培养基为改良 MS + 6-BA 2.0mg/L + NAA 0.3mg/L; 最适增殖培养基为改良 MS + 6-BA 2.0mg/L + NAA 0.1mg/L; 最适生根培养基为改良 1/2MS + NAA 0.5mg/L。

关键词: ‘阿维兰’月季; 组织培养; 6-BA; NAA

中图分类号: S685.12; Q943.1

文献标识码: A

文章编号: 1009-7791(2008)03-0051-04

Technique for Micro Propagation of ‘Aweilan’ Rose

CHEN Yong-kuai, ZOU Hui, JU Yu-dong

(Sugarcane Institute, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Zhangzhou 363005, Fujian China)

Abstract: ‘Aweilan’ rose was cultured on MS medium supplemented with different concentrations of hormones (6-BA and NAA). The induction and growth of plantlets were observed and the effects of the concentration of hormones and active carbon on the differentiation of ‘Aweilan’ rose were studied. The results indicated that culture medium MS with 6-BA 2.0mg/L and NAA 0.3mg/L was good for induction of accessory bud, MS medium with 6-BA 2.0mg/L and NAA 0.1mg/L was favorable for bud-differentiation, and medium 1/2 MS with NAA 0.5 mg/L gave the best result for rooting.

Key words: ‘Aweilan’ rose; tissue culture; 6-BA; NAA

月季(*Rosa chinensis*)属蔷薇科蔷薇属, 是世界四大名花之一, 素有“花中皇后”之称。月季适应性好, 用途广, 既可用于绿化, 也可用于观赏, 还是各类高级食品和化妆品的重要香料原料^[1]。月季对环境适应性较强, 喜温暖凉爽气候和充足阳光, 耐旱, 耐寒, 可连续开花, 以 5~6 月、9~10 月为盛花期。近年来, 随着切花种植业的发展, 对切花月季种苗的需求量越来越大, 传统的扦插或芽接法繁殖种苗已无法满足生产的需求^[2]。而应用现代生物技术进行快速繁殖和工厂化生产, 极具现实意义^[3,4]。本试验以荷兰月季‘阿维兰’为材料进行组织培养, 以期寻找一套有效的培养体系, 为普及、推广该品种提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

剪取‘阿维兰’月季一年生嫩枝, 再剪成长 2~2.5cm 至少带一个侧芽的小段, 用肥皂水洗净, 再用流水冲洗 30min; 然后以 75%酒精浸泡 30s, 用无菌水冲洗 3 遍, 再用 0.1%升汞浸泡 10min, 无菌水冲洗 7~9 遍; 最后适当剪切接种于诱导分化培养基上。

1.2 方法

1.2.1 腋芽诱导 以改良 MS(MS 大量元素及 B5 微量元素为基本配方)为基本培养基, 附加不同浓度的 6-BA、NAA, 设 9 个处理(表 1), 每个处理接种 80 瓶, 每瓶接种 2 个茎段, 其中 40 瓶添加活性炭 0.3mg/ml。

1.2.2 继代增殖培养 将分化 25d 后的腋芽切下, 接种到新的改良 MS 培养基中。设 9 个处理 (表 1), 每个处理接 15 瓶, 每瓶 2 个幼嫩植株, 45d 后统计增殖情况。

1.2.3 生根培养 将继代培养形成的幼嫩植株切下, 接种到生根培养基 (表 2) 中, 每处理 30 瓶, 每瓶 2 株, 共 60 株, 观察其分化过程, 40d 后统计生根数、根长、生根率及生长状况。

1.2.4 培养的环境条件 在改良 MS 基本培养基中加入 10g/L 琼脂, 30g/L 蔗糖, pH5.8~6.0, 培养温度(26±2)℃, 日光灯(1 500~2 000 lx)照射 15h/d。

1.2.5 大田假植

将长约 2cm 的不定芽接种到生根培养基, 培养条件同上。经过生根培养 40d 后, 组培苗移栽到珍珠岩、蛭石、花卉土混合 (2:2:6) 的基质中。

2 结果与分析

2.1 侧芽的诱导分化

月季茎段接种 1 周后, 侧芽开始膨大, 15d 左右逐渐分化成幼芽。由表 3 可知, 随着 6-BA 浓度从 1.0mg/L 增至 3.0mg/L, 萌动茎段数先增后降, 当 6-BA 达到 2.0mg/L 时, 萌动茎段都在 30 以上, 其中 6-BA 2.0mg/L 和 NAA 0.3mg/L 的组合 (A2B2) 萌发数高达 50。而单独看 NAA 浓度由 0.1mg/L 增到 0.5mg/L 的变化, 萌动茎段数却没有一定规律。另外, 在有无活性炭的比较中可以看出, 其茎段萌发的总体趋势比较一致(除个别组合外), 而在茎段萌动和褐化方面则存在显著差别。无活性炭组合中分化率较高, 但褐化现象较严重。从图 1 可以看出, 加入 0.3% 活性炭后, 褐化明显减少, 只有少数茎段产生褐化。而添加活性炭使萌动茎段数减少的原因, 可能是由于活性炭对营养和激素的吸附作用所致。上

表 1 诱导与增殖培养基配比

处理 编号	培养基	培养基配方 6-BA 含量 (mg/L)	NAA 含量 (mg/L)
A1B1	改良 MS	1.0	0.1
A1B2	改良 MS	1.0	0.3
A1B3	改良 MS	1.0	0.5
A2B1	改良 MS	2.0	0.1
A2B2	改良 MS	2.0	0.3
A2B3	改良 MS	2.0	0.5
A3B1	改良 MS	3.0	0.1
A3B2	改良 MS	3.0	0.3
A3B3	改良 MS	3.0	0.5

表 2 生根培养基配方

编号	IBA(mg/L)	NAA(mg/L)	培养基
1	0.5	0	1/2 改良 MS
2	1.0	0	1/2 改良 MS
3	0	0.5	1/2 改良 MS
4	0	1.0	1/2 改良 MS

表 3 不同生长调节剂组合与添加活性炭与否对茎段芽萌动的影响

处理	加活性炭 萌动茎段数	萌动率 (%)	芽状况	不加活性炭 萌动茎段数	萌动率 (%)	芽状况	平均萌动 茎段数
A1B1	17	21.25	细弱	26	32.50	粗壮	21.5
A1B2	20	25.00	细弱	20	25.00	一般	20.0
A1B3	19	23.75	细弱	20	25.00	一般	17.5
A2B1	33	41.25	粗壮	45	56.25	粗壮	39.0
A2B2	43	53.75	粗壮	48	60.00	粗壮	45.5
A2B3	34	42.50	粗壮	42	52.50	粗壮	38.0
A3B1	28	35.00	一般	34	42.50	粗壮	36.0
A3B2	22	27.50	细弱	30	37.25	一般	27.5
A3B3	31	38.75	粗壮	33	41.25	粗壮	32.0
总和	247			298			272.5

注: 平均萌动茎段数指添加活性炭与否的两者平均值。

述实验结果表明, 对于月季茎段的诱导最重要的因素是 6-BA。在 6-BA 2.0mg/L 的水平下, 不仅外植体腋芽萌动率高, 而且形成丛芽比例较大, 被认为是腋芽诱导较适宜的浓度^[5]。上述结果显示, 加入活性炭培养虽萌动茎段较少, 但有效抑制了褐化和污染, 增强植物的长势。综上所述, 本实验最好的组合为: 改良 MS + 6-BA 2.0mg/L + NAA 0.3mg/L (萌动率 60.00% 和 53.75%)。

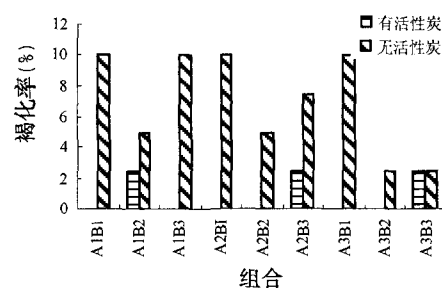


图 1 芽诱导期茎段的褐化率

2.2 增殖培养的效果

由表4可知,当NAA浓度一定时,随6-BA浓度的增加增殖率总体上呈先增后减的趋势。在6-BA为2.0mg/L的条件下增殖倍数最高,尤其是6-BA 2.0mg/L及NAA 0.1mg/L水平下增殖率可达3.06。当6-BA浓度一定时,随NAA浓度的增加增殖率呈下降趋势(其中6-BA 3.0mg/L条件下呈先增后减,这可能与两种生长调节剂之间的比值有关)。再者,从两种调节剂比值看,6-BA和NAA比值在6.0~20.0时,增殖倍数较高,大多数都在2.0以上;而两者比值过高或过低,对嫩茎的增殖都不利,这与相关研究报道^[6,7]一致。以上分析说明,不同生长调节剂的不同浓度对增殖倍数影响程度不同,而以6-BA 2.0mg/L和NAA 0.1mg/L条件下增殖倍数最高,二者比值以6.0~20.0比较合适。

表4 继代增殖培养的效果

组合	6-BA/NAA	比值	接幼嫩植株数(株)	最终增殖数(株)	平均增殖倍数
1	1.0/0.1	10.0	30	62	2.06
2	1.0/0.3	3.3	30	46	1.53
3	1.0/0.5	2.0	30	40	1.33
4	2.0/0.1	20.0	30	92	3.06
5	2.0/0.3	6.6	30	70	2.33
6	2.0/0.5	4.0	30	68	2.26
7	3.0/0.1	30.0	30	60	2.00
8	3.0/0.3	10.0	30	78	2.60
9	3.0/0.5	6.0	30	64	2.13

注:平均增殖倍数 = 最终增殖株数/原接种芽数。

2.3 生根培养的效果

截取幼嫩植株,接到含不同浓度IBA和NAA的生根培养基上。接种植株以2~3cm高为宜,太高通常会出现枯叶等营养不良现象,太矮则长势太弱,转接后容易死亡。植株接种后通常15d伤口愈合,20~30d长出少量小白根,40d时进行观察。由表5可知,NAA 0.5mg/L促根作用最好,生根率达91.7%,根数、根长分别达到5.2条及5.43cm;而NAA浓度为1.0mg/L时,生根率(81.7%),根数(4.5条)及根长(3.54cm)均下降。对于IBA而言,两个浓度的IBA对促根作用的效果均不及NAA。这与马祎^[8]的研究结果相似,但与李青、孙宪芝等^[9,10]的结果不同,具体原因有待进一步研究。在IBA 0.5mg/L时,其生根率虽然达到75.0%,但根数只有3.2条,根长仅3.2cm,且根脆易折断,不利于转瓶;IBA 1.0mg/L时,生根率只有63.3%,根数为3.0条,根长3.50cm,根容易变黑,变脆,严重影响转瓶。因而四个生长调节剂水平中,低浓度(0.5mg/L)的NAA促根效果最理想。

2.4 大田假植

移栽前先在阴凉处炼苗4~6d,然后假植到生产基质中。以珍珠岩、蛭石、花卉土(2:2:6)混合效果较好。移栽时间选择很重要,过早或过晚都不利于生根苗成活^[11],通常在根长2~3cm时最好。

表5 不同浓度生长调节剂对生根的影响

生长调节剂(mg/L)	平均根数(条)	根长(cm)	生根率(%)
IBA 0.5	3.2	3.20	75.0
IBA 1.0	3.0	3.50	63.3
NAA 0.5	5.2	5.43	91.7
NAA 1.0	4.5	3.54	81.7

3 结论与讨论

月季的组培可通过愈伤组织再分化和芽诱导两种。其中以芽诱导培养居多。本实验以‘阿维兰’月季为材料,选取一年生茎段进行芽诱导培养,取材时间从2月下旬到5月中旬,以改良MS为基本培养基,辅以适宜的培养条件。实验表明,合适的培养条件可以取得良好的培养效果。

3.1 ‘阿维兰’月季茎段分化培养最佳条件筛选

通过实验结果分析可知,较合适的‘阿维兰’月季芽诱导培养基为改良MS+6-BA 2.0mg/L+NAA 0.3mg/L+活性炭30g/L,此处理萌发率高,植株粗壮。最佳分化增殖培养基为:改良MS+6-BA 2.0mg/L+NAA 0.1mg/L+蔗糖30g/L+琼脂10g/L,此培养基培养的植株生长旺盛,芽体饱满,平均增殖倍数达3.0以上。最佳生根培养基为:1/2改良MS+NAA 0.5mg/L+蔗糖30g/L+琼脂10g/L,平均根长达5.4cm,生根率91.7%,平均根数5.2根,根系生长健壮。

3.2 活性炭对茎段诱导的影响

实验表明, 活性炭能较好地抑制茎段褐化, 但同时也降低了茎段的分化率, 其原因有待进一步研究。

3.3 取样时间对分化的影响

取样时间对植株分化和再生有一定影响, 最佳取样时间为 4 月上、中旬, 过早或过晚分化率都有所下降^[12], 特别是进入夏季, 不但分化率低, 而且褐化、污染严重。

参考文献:

- [1] 李茹,等. 月季的组织培养和基因转化研究进展[J]. 广西植物, 2003,23(3):243-249.
- [2] 熊芳,等. 月季快速繁殖技术研究[J]. 中南林学院学报, 2006,26(5): 121-124.
- [3] 朝建军,等. 月季的组织培养和快速繁殖[J]. 中国林副特产, 2001(1): 32-33.
- [4] 谭文澄,等. 观赏植物的组织培养[M]. 中国林业出版社, 1991: 147-170.
- [5] 莫磊兴,等. 月季组培快繁技术研究[J]. 四川农业大学学报, 1998,16(4): 439-443.
- [6] 曹孜义,等. 实用植物组织培养技术教程[M]. 甘肃科学技术出版社, 1996: 175-179.
- [7] 项艳,等. 正交试验法在月季离体快繁中的应用[J]. 安徽农业大学学报, 2003,30(3): 299-303.
- [8] 马伟,等. 木本观赏植物离体快速繁殖的关键技术[J]. 北京林业大学学报, 2001,23(增刊): 21-23.
- [9] 李青,等. 藤本月季组织培养快繁研究[J]. 北京林业大学学报, 1999,21(6): 17-21.
- [10] 孙宪芝,等. 树月季‘雪山娇霞’的离体快繁技术研究[J]. 西北林学院学报, 2004,19(4): 74-76.
- [11] 朱鹿鸣,等. 名贵月季试管繁殖与试管苗移栽[J]. 园艺学报, 1985,12(4): 273-276.
- [12] 李艳芳,等. 关于月季初代继代培养时 BA/NAA 量的选择[J]. 商丘职业技术学院学报, 2007(5): 89-91.

《亚热带植物科学》期刊综合评价指标数据

根据中国学术期刊(光盘版)电子杂志社、中国科学文献计量评价研究中心、清华大学图书馆联合出版的《中国学术期刊综合引证报告》, 本刊最近 6 年各项指标数据如下表。

《亚热带植物科学》最近 6 年期刊综合评价各项指标

年份	总被引 频次	影响 因子	5 年影响 因子	即年 指标	他引 总引比	被引 期刊数	被引 半衰期	载文 量	基金 论文比	Web 即年 下载率
2001	52	0.1031	/	0.0588	/	/	>=10	68	/	/
2002	82	0.1742	/	/	0.8415	/	5.8	76	/	/
2003	114	0.2569	/	0.0494	0.8947	/	3.8	81	/	16.63
2004	169	0.3500	0.356	0.0100	0.9467	/	4.1	96	0.48	21.90
2005	244	0.3500	0.410	0.0000	0.9600	140	4.8	98	0.44	21.30
2006	385	0.4860	0.564	0.0430	0.9700	186	4.9	93	0.49	49.80