

藤本月季组织培养初报

杨永花¹,张美玲²,张新瑞³,廖伟彪⁴

(1. 兰州市园林科学研究所,甘肃 兰州 730070; 2. 甘肃农业大学理学院,甘肃 兰州 730070;

3. 甘肃农业大学草业学院,甘肃 兰州 730070; 4. 甘肃农业大学农学院,甘肃 兰州 730070)

摘要:以MS为基本培养基,附加不同浓度的6-BA、NAA、KT等植物生长调节剂,对藤本月季“莫扎特”品种的组培快繁技术进行了研究,同时在4-10月进行了试管苗移栽基质筛选试验.结果表明:适宜的诱导培养基为MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.05 mg/L,腋芽萌发率达220%,平均芽高为2.6 cm;增殖培养基以MS+KT 0.5 mg/L+NAA 0.5 mg/L效果最好,增殖系数达4.2,且芽生长健壮;最适宜的生根培养基为1/2MS+IBA 0.1 mg/L,生根率可达95%,且根粗壮发达.在移栽试验中,最佳的移栽基质为蛭石,且每年适宜在5、6月和9月进行试管苗移栽,其移栽成活率高达90%~95%.

关键词:藤本月季;组织培养;MS培养基

中图分类号: S 685.12

文献标识码: A

文章编号: 1003-4315(2008)05-0063-04

Preliminary report on tissue culture and rapid propagation of climbing rose

YANG Yong-hua¹, ZHANG Mei-ling², ZHANG Xin-rui³, LIAO Wei-biao⁴

(1. Garden Institute of Lanzhou, Lanzhou 730070, China; 2. College of Science, Gansu Agricultural University,

Lanzhou 730070, China; 3. College of Prataculture, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China;

4. College of Agronomy, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China)

Abstract: The effects of different concentrations of 6-BA, IAA, NAA, and KT were studied on the establishment of subcultures and rooting cultures of climbing rose (*Rosa chinensis* cv. Mozart). The results showed that the suitable induction culture media was MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.05 mg/L, for the sprouting rate of axillary bud up to 220% and average growth height of bud was 2.6 cm. The optimum medium for multiplication was MS+KT 0.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L, with the multiplication coefficient up to 4.2, and the buds grew strongly. 1/2MS+IBA 0.1 mg/L was the optimum medium for rooting, with rooting percentage was 95%, the roots developed well. Transplanting survival rate was obviously high with vermiculite as media. The transplanting survival rate was up to 90%~95% in May, June and September.

Key words: climbing rose; tissue culture; MS medium

藤本月季(*Rosa Chinensis*)为蔷薇科蔷薇属攀缘植物,是近年来国外选育出的可用于城市园林绿化的1个新的月季品种^[1].其三季开花,花朵繁多,2a

后单杆可萌生分枝50个以上,每个分枝可着花5-6朵,略加修剪可形成圆球状、圆柱状、拱门形、花海、花山等景观^[2].藤本月季抗热、耐寒^[3]、耐盐碱^[4]、抗旱、抗病,花持久,再生能力强,为近年来城市垂直绿化美化中不可替代的优良品种.藤本月季目前采用扦插和嫁接繁殖法,繁殖系数低,速度慢,且价格昂贵.本试验开展了藤本月季组培快繁技术的研究,旨在为藤本月季找到一种快速有效的繁殖方法.

作者简介: 杨永花(1967-),女,甘肃人,高级工程师,研究方向为园林植物.

通讯作者: 廖伟彪(1976-), E-mail: liaowb@gsau.edu.cn

资助基金: 兰州市科技局科技攻关项目(编号: 05-1-39).

收稿日期: 2007-10-29

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为兰州市园林科学研究所品种圃内藤本月季‘莫扎特’二年生植株,选择生长健壮、无病虫害植株的当年生枝条中段(带饱满而未萌发的腋芽)为外植体.将选取的外植体剪去叶片、保留叶柄,用自来水冲洗干净后,在超净工作台上将其剪成 10 cm 长带腋芽的茎段,放入高温灭菌的瓶中,加入 75 % 的酒精浸摇 30 s,然后倒出酒精,用 0.1 % 的升汞溶液消毒 8~10 min,用无菌水冲洗 5 次,待接种^[5].

1.2 腋芽的诱导培养

用镊子拽去消毒茎段上的叶柄,使腋芽裸露,再将茎端切成长 1.5 cm 的单芽小段,接种于诱导培养基:MS+6-BA0.5 mg/L;MS+6-BA1.0 mg/L;MS+6-BA0.5 mg/L+NAA0.05 mg/L;MS+6-BA1.0 mg/L+NAA0.1 mg/L 中,每个处理重复 3 次,每个重复接种 30 个单芽小段,接种 3 d 后观察芽萌发情况.芽高为叶腋到芽顶端的长度.

1.3 芽的增殖继代培养

将已萌发长至 1.5 cm 的丛生芽切成单芽,转接到增殖继代培养基:MS+6-BA0.5 mg/L+NAA0.05 mg/L;MS+6-BA0.5 mg/L+NAA0.1 mg/L;MS+6-BA1.0 mg/L+NAA0.1 mg/L;MS+KT0.5 mg/L+NAA0.1 mg/L 中,每个处理接种 40 个单芽,接种 7 d 后观察离体芽的增殖情况.

1.4 试管苗的生根培养

将继代培养中生长健壮、高 2 cm 以上的无根苗切成单株(较矮的芽接种于培养基中进行继代增殖培养),转接到生根培养基:1/2MS;1/2MS+NAA0.05 mg/L;1/2MS+NAA0.1 mg/L;1/2MS+IBA0.1 mg/L 中,每个处理接种 40 个单株,接种 3 d 后观察幼苗的生根情况.

1.5 炼苗与移栽

将根系生长良好的试管苗在室内揭开封膜口炼苗 2~3 d,然后轻轻取出试管苗,用温水洗净根部粘附的培养基,在高效日光节能温室中,移栽于厚度达 15 cm 的栽培基质苗床中.选用的栽培基质分别为:蛭石;珍珠岩;蛭石+珍珠岩(1:1);蛭石+珍珠岩+泥碳(1:1:1),经高锰酸钾彻底消毒.从 4 月下

旬开始到 10 月中旬为止,每月进行 1 次移栽试验,每个处理均为 100 棵苗.幼苗栽植后用 1 g/kg 的多菌灵溶液浇湿基质,遮荫保湿,移栽 20 d 后统计幼苗成活率^[6].

1.6 培养条件

MS 培养基中蔗糖为 30.0 g/L,1/2 MS 培养基中蔗糖为 20.0 g/L,琼脂均为 3.8 g/L,pH5.8,培养温度为(25±2)℃,光照强度 2 000~2 500 lx,光照时间 10~12 h/d^[7].

2 结果与分析

2.1 腋芽的诱导培养

藤本月季‘莫扎特’的茎端在接种 3 d 后腋芽开始萌动,但萌芽率及芽的生长情况因培养基内激素浓度的不同而异.由表 1 可知,培养基 MS+6-BA0.5 mg/L 和 MS+6-BA1.0 mg/L 中由于只加入了细胞分裂素(6-BA),诱导产生的丛生芽数、腋芽萌发率和平均芽高均显著低于培养基 MS+6-BA0.5 mg/L+NAA0.05 mg/L($P<0.05$).培养基 MS+6-BA0.5 mg/L+NAA0.05 mg/L 中细胞分裂素和较低浓度的生长素(NAA)配合使用有利于腋芽的萌发,腋芽萌发率高达 220 %,平均芽高 2.6 cm,且丛生芽生长健壮.培养基 MS+6-BA1.0 mg/L+NAA0.1 mg/L 中生长素浓度增大,腋芽萌发率下降至 95 %,平均芽高 2.01 cm,且丛生芽长势一般.综上所述,以萌芽率及芽的生长情况作为评价标准,MS+6-BA0.5 mg/L+NAA0.05 mg/L 为藤本月季“莫扎特”品种诱导的适宜培养基.

2.2 不定芽的增殖继代培养

由表 2 可知,培养基 MS+6-BA0.5 mg/L+NAA0.05 mg/L 由于生长素(NAA)浓度偏低而增殖芽数较少,增殖系数显著低于其它培养基($P<0.05$).培养基 MS+6-BA0.5 mg/L+NAA0.1 mg/L 和 MS+6-BA1.0 mg/L+NAA0.1 mg/L 中随着 6-BA 和 NAA 浓度的增加,增殖芽数增多,增殖系数分别达 2.7 和 2.2,且芽生长健壮.培养基 MS+KT0.5 mg/L+NAA0.1 mg/L 中将 6-BA 更换为 KT,增殖芽和增殖系数均明显提高,且显著高于其它培养基($P<0.05$),芽生长健壮,同时在芽基部不断有不定芽萌动的迹象.由此可见,培养基 MS

+KT0.5 mg/L+NAA0.1 mg/L 即可实现芽的高效增殖,又能保证分化出的芽健壮生长,可视为藤本月季‘莫扎特’最适宜的增殖继代培养基^[8-10].

2.3 试管苗生根培养

从表 3 可以看出,未使用任何生长素的培养基 1/2MS 中,幼苗培养 10 d 后开始生根,生根率只有 35 %,显著低于其它培养基($P<0.05$),平均生根数为 5 条,且根生长细弱.培养基 1/2MS+NAA0.05 mg/L 和 1/2MS+NAA0.1 mg/L 中加入了生根激素 NAA,其生根率分别提高到 50 %和 85 %,平均

根数分别达 6 条和 10 条,幼苗培养 8-10 d 开始生根,且以培养基 1/2MS+NAA0.1 mg/L 中幼苗根系发达,质量高.培养基 1/2MS+IBA0.1 mg/L 中加入 IBA 作为生根激素,幼苗生根效果明显好于加入 NAA 的培养基,生根率达 95 %,显著高于培养基 1/2MS 和 1/2MS+NAA0.05 mg/L($P<0.05$),且其平均根数为 12 条,幼苗培养 6 d 即开始生根,小苗长势良好,根粗壮,根系发达.因此,适合藤本月季‘莫扎特’品种生根的最佳培养基为 1/2MS+IBA 0.1 mg/L.

表 1 不同培养基对腋芽诱导的影响
Tab.1 Effects of different medium on axillary bud induction

培养基	供试芽数/个	丛生芽数/个	腋芽萌发率/%	平均芽高/cm	芽生长情况
MS+6-BA0.5 mg/L	90	76 ^b	85 ^b	1.84 ^{bc}	生长健壮,丛生芽少
MS+6-BA1.0 mg/L	90	63 ^b	70 ^b	0.84 ^c	生长一般,丛生芽极少
MS+6-BA0.5 mg/L+NAA0.05 mg/L	90	198 ^a	220 ^a	2.6 ^a	生长健壮,丛生芽多
MS+6-BA1.0 mg/L+NAA0.1 mg/L	90	85 ^b	95 ^b	2.01 ^{ab}	生长一般,丛生芽少

注:具有不同字母者差异显著($P<0.05$).

表 2 不同培养基对芽继代增殖的影响
Tab.2 Effects of different medium on multiplication of axillary bud

培养基	供试芽数/个	增殖芽数/个	增殖系数	芽生长情况
MS+6-BA0.5 mg/L+NAA0.05 mg/L	40	60 ^c	1.5 ^c	增殖芽少,长势一般
MS+6-BA0.5 mg/L+NAA0.1 mg/L	40	108 ^b	2.7 ^b	增殖芽较多,生长健壮
MS+6-BA1.0 mg/L+NAA0.1 mg/L	40	88 ^b	2.2 ^b	增殖芽较少,生长健壮
MS+KT0.5 mg/L+NAA0.1 mg/L	40	168 ^a	4.2 ^a	增殖芽极多,生长健壮

注:具有不同字母者差异显著($P<0.05$).

表 3 不同培养基对苗生根培养的影响
Tab.3 Effects of different medium on rooting cultures

培养基	供试芽数/个	生根苗数/株	生根率/%	平均根数/条	芽生长情况
1/2MS	40	14 ^c	35 ^c	5 ^b	根少且生长细弱
1/2MS+NAA0.05 mg/L	40	20 ^b	50 ^b	6 ^b	根少且生长细弱
1/2MS+NAA0.1 mg/L	40	34 ^a	85 ^a	10 ^a	根粗壮,根系发达
1/2MS+IBA0.1 mg/L	40	38 ^a	95 ^a	12 ^a	根粗壮,根系发达

注:具有不同字母者差异显著($P<0.05$).

2.4 移栽成活情况

由图 1 可知,4 个栽培基质处理均在 5、6 月和 9 月移栽成活率较高,幼苗生长健壮,新叶黑而亮;而 4、7、8 月和 10 月的移栽成活率相对较低,幼苗生长细弱.这可能与气温的高低有关.5、6 月和 9 月气温适中(20~30 ℃),有利于试管苗的移栽;4、10 月气温偏低(20 ℃以下),而 7、8 月气温偏高(30 ℃以上),均不利于试管苗的移栽.4 个处理中,以栽培基质采用蛭石的处理每个月的试管苗移栽成活率最

高,其中又以 5 月份最高,达到了 95 %,7 月份最低,为 74 %.栽培基质采用蛭石+珍珠岩的处理在 9 月份的移栽成活率最高,达 90 %,8 月和 10 月最低,仅有 67 %.栽培基质为珍珠岩和蛭石+珍珠岩+泥碳的处理在所有月份的移栽成活率均较低,珍珠岩栽培基质的处理在 5 月份移栽成活率最高,达 78 %,8 月最低,达 47 %;蛭石+珍珠岩+泥碳栽培基质处理的成活率 5 月最高,达 74 %,7 月最低,达 42 %.可见,藤本月季“莫扎特”品种最适宜的移栽

基质为蛭石,常规管理每年适宜在 5、6、9 月进行试管苗移栽,移栽成活率可达 90 %~95 %.

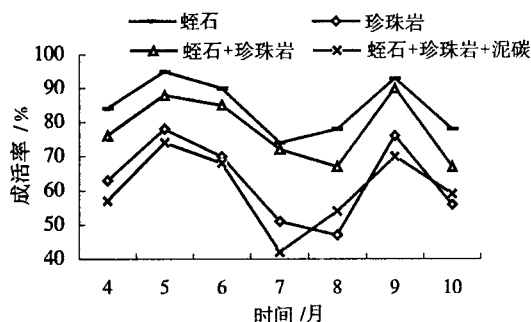


图 1 不同栽培基质对试管苗移栽成活率的影响

Fig. 1 Effects of transplanting media on transplanting survival rate at different months

3 讨论与小结

试验结果表明,在藤本月季‘莫扎特’的诱导培养中需较低浓度的细胞分裂素(6-BA)和生长素(NAA),适宜的诱导培养基为 MS+6-BA0.5 mg/L+NAA0.05 mg/L;增殖培养阶段细胞分裂素选用 KT 要比 6-BA 更适宜芽的增殖,最佳的继代增殖培养基为 MS+KT0.5 mg/L+NAA0.1 mg/L;生长素 IBA 作为生根激素,幼苗生根效果要比 NAA 更好,最佳的生根培养基为 1/2MS+ IBA 0.1 mg/L.

在试管苗移栽试验中,气温和栽培基质均对试管苗的移栽成活率影响显著^[11,12].5、6 月和 9 月气温适中(20~30 ℃),试管苗的移栽成活率均较高,气温偏低(20 ℃以下)或偏高(30 ℃以上)都不利于试管苗的移栽.蛭石通气保水,是试管苗移栽的最佳栽培基质,且适宜在 5、6 月和 9 月移栽,成活率可达 90 %~95 %;珍珠岩虽透气,但保水性太差,而泥碳吸水力过强,根系因水分过多而易腐烂,两者均导致移栽成活率下降^[13].

通过试验初步认为,采用组培快繁技术可生产出根系发达、生长健壮的批量优质藤本月季商品苗,

满足生产的需求.但本试验只是对藤本月季‘莫扎特’1 个品种进行了研究,因此该技术在其它品种上的应用还有待进一步的研究.

参考文献

- [1] 马 进,王小德.天目山乡土木本藤本植物资源特征及园林应用[J].东北林业大学学报,2005,33(4):78-80
- [2] 陈 明.几种新型藤本月季的观赏性状及园林应用[J].西南园艺,2006,(7):46-47
- [3] 张 涛,段大娟,王振一,等.5 种藤本月季抗寒性比较研究[J].西北林学院学报,2006,(5):81-83
- [4] 杨永花,张志霞,廖伟彪,等.四种藤本月季的耐盐性比较[J].甘肃农业大学学报,2007,42(2):81-83
- [5] 白文苑,沈慧敏.苍耳愈伤组织诱导及继代培养研究[J].甘肃农业大学学报,2006,41(1):65-68
- [6] 杨永花,朱亚灵.丰花月季组培快繁技术研究初报[J].甘肃农业科技,2000,(5):45-46
- [7] Marks T R, Simpson S E. Factors affecting shoot development in apically dominant Acer cultivars *in vitro* [J]. Journal of Horticultural Science, 1994, 69(3): 543-511
- [8] 雷 颖.黄海棠的组织培养和快速繁殖[J].甘肃农业大学学报,2003,38(3):357-360
- [9] 雷加容,余金龙,余 敖.甘薯的组织培养[J].甘肃农业大学学报,2006,41(1):113-115
- [10] 翟建中,顾梅俏,程荣昌,等.金合欢组织培养和快速繁殖的研究[J].园艺学报,2006,28(2):149-152
- [11] Hydman S E. Stimulation of root initiation from cultured rose shoots through the use of reduced concentrations of mineral salts[J]. Hortscience, 1982, 17: 82-83
- [12] Chabaud M, Clotilde L, Cornne M, et al. Transformation of barrel medic (*Medicago truncatula*) by Agrobacterium tumefaciens and regeneration via somatic embryogenesis of transgenic and plants with the Mt ENOD12 nodulin promoted fused to the gus reporter gene[J]. Plant Cell Report, 1996, 15: 305~310
- [13] Hutteman C A, Preece J E. Thidiazuron: a potent cytokinin for woody plant tissue culture[J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 1993, 33: 105~119