

树月季‘雪山娇霞’的离体快繁技术研究

孙宪芝, 赵惠恩

(山东农业大学 园艺学院, 山东 泰安 271018)

摘要:对我院自育的优良树月季品种‘雪山娇霞’的离体快繁技术进行了研究。试验表明,最佳的外植体是春季的越冬芽。最佳的启动培养基是 MS + 6-BA 0.5 ~ 1.0 mg/L + NAA 0.05 ~ 0.1 mg/L, 其诱导率可高达 96%, 继代培养基用 MS + 6-BA 1.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L 时, 可保证较高的增殖率和良好的生长状况, IBA 生根效果优于 NAA 和 IAA, 以 1/2MS + IBA 0.1 ~ 0.3 mg/L 为最佳。组培苗的瓶外生根可降低生产成本并缩短繁殖周期。

关键词:树月季; 快繁; MS 培养基

中图分类号:S685.12 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-7461(2004)04-0074-03

Rapid Propagation of Tree Rose ‘Xueshan jiaoxia’ in Vitro

SUN Xian-zhi, ZHAO Hui-en

(School of Horticulture, Shandong Agricultural University, Tai'an, Shandong 271018, China)

Abstract: Rapid propagation of tree rose ‘Xueshan jiaoxia’ in vitro was studied. The experiment showed that the optimum explant was the axillary buds on branches after dormancy. The best medium for the shoots was MS + 6-BA 0.5 ~ 1.0 mg/L + NAA 0.05 ~ 0.1 mg/L, the max shooting rate could reach 96%, the best proliferation medium was MS + 6-BA 1.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L, IBA was better than NAA and IAA for rooting, and 1/2MS + IBA 0.1 ~ 0.3 mg/L was optimum. Rooting of plantlets out of bottle could reduce cost and shorten period of propagation.

Key words: rose; rapid propagation; MS medium

‘雪山娇霞’是马燕、陈俊愉等 1992 年在月季的远缘杂交育种中从大量的杂交后代中选育出来的, 亲本是‘白雪山’和 No. 8401^[1]。10 a 的栽培观察证明, 该品种健花、抗逆性强, 生长健壮, 直立性强, 增粗生长良好, 自然生长就可形成树状, 克服了国外嫁接树月季的诸多缺点。自根树月季的培育、开发将成为国际上树月季研究的新热点。本研究是将‘雪山娇霞’扩大繁殖, 尽快向国内外推广。

1 材料与方 法

试验材料取自北京林业大学梅菊圃‘雪山娇霞’的成年株, 分别取成熟、半成熟枝条及其嫩梢; 取材时间为春、夏、秋三季。

将采回的枝条去掉叶片, 剪切成单芽小段, 冲刷后或直接在无菌条件下将材料投入到 70% 的酒精中 30 s 左右, 用无菌水涮洗一遍, 滤纸吸干水分, 然

后用 0.1% 的升汞消毒 8 ~ 10 min 或 5% 的次氯酸钠消毒 15 ~ 20 min。将外植体从消毒液中取出后尽快用无菌水冲洗 3 ~ 4 次, 每次冲洗用水不应少于 100 mL^[2]。

基本培养基选用 MS, 附加葡萄糖 30 g/L、琼脂 6 g/L, pH 值 5.6 ~ 5.8, 试验过程中采用的分裂素是 6-BA, 生长素是 NAA、IAA、IBA。培养基分装后 121℃ 高压蒸气灭菌 20 min。将处理好的外植体接到启动培养基上, 培养 14 ~ 20 d 后将萌芽剪切下转入继代培养基, 培养 25 ~ 40 d 后, 即可壮苗生根。对外源激素对扩增系数及生根的影响进行研究, 每处理重复 3 次。培养温度 24 ± 1℃, 光照强度 1 500 lx, 光照时数为 12 h/d。组培苗出瓶后的栽培基质为珍珠岩、蛭石、草炭土及其不同比例的混合物。

2 结果与分析

收稿日期: 2003-12-29

作者简介: 孙宪芝(1974-), 女, 山东东营人, 硕士, 主要从事园林植物遗传育种方面的研究。

2.1 材料的采集

试验中发现,健壮枝条中上部的芽均可用,新梢接种后腋芽迅速发育继而萌发,培养3周后与枝条中部饱满芽的大小无差别,且叶色浓绿,长势旺盛。可能是因为嫩梢内本身的激素浓度较高,顶端优势强,促进了其快速发育;此类材料带菌较少,可适当缩短消毒时间以防止其受到伤害。若选用花后的枝条,则以花后3~6 d的枝条最好,花后时间过长的枝条营养消耗殆尽,不能使用。选择外植体最好的时期是春季和秋季(表1),因为秋季的枝条生长健壮,芽体饱满;而春季的芽体经过上一年的发育和一个冬天的孕育,内源激素含量高,具有很强的生命力,用不加激素的MS培养基进行启动培养也表现良好。

表1 不同季节外植体成活率比较

Table 1 The surviving rate comparing of explants in different seasons

取材季节	接种数/个	污染率/%	成活率/%	生长情况
春	80	20	96.9	健壮,丛生芽多
夏	80	27.5	86.2	较细弱
秋	80	12.5	92.9	健壮

2.2 材料的处理

试验证明,在保证成活的基础上节段越短越有利于芽的萌发。采回的材料如果不粘有污泥等,则不用洗衣粉水刷洗和流水冲洗,而直接投入消毒液进行消毒,因为腋芽在柄基的保护下本身比较洁净,水洗后水中的细菌反倒会随水流渗入到腋芽内部,消毒时无法将其杀死;而且,长时间的冲洗使细胞壁变薄,更易被消毒药物伤害。

2.3 外源激素对外植体生长、分化和生根的影响

2.3.1 外源激素及浓度对启动培养的影响 预试验发现,启动培养中较有效的激素组合是6-BA和NAA。试验中选用了5种激素浓度组合,结果表明,启动培养基中6-BA^{*}和NAA的最佳浓度分别是0.5~1.0 mg/L和0.05~0.1 mg/L(表2)。6-BA的用量大于2 mg/L时开始抑制芽的生长。

表2 6-BA、NAA对‘雪山娇霞’茎段诱导培养的影响

Table 2 The effect of 6-BA, NAA on the induction of shoot

代号	培养基 /mg·L ⁻¹	接种茎 段数	诱导率 /%	生长情况
M1	6-BA0.5+NAA0.03	20	85	健壮,叶色略黄
M2	6-BA0.5+NAA0.05	24	96	健壮,叶色浓绿
M3	6-BA1.0+NAA0.1	32	92	健壮,叶色浓绿
M4	6-BA2.0+NAA0.1	38	90	节间短
M5	6-BA3.0+NAA0.2	24	84	节间缩短,呈簇生状

2.3.2 外源激素及浓度对增殖培养的影响 增殖试验发现,有效的6-BA增殖浓度为0.5~1.5 mg/

L,再提高其浓度增殖系数无明显增加,所用的3种生长素中,以NAA增殖系数最高,且生长健壮,NAA浓度以小于0.1 mg/L为好(图1),浓度过高会使外植体基部长出大块的愈伤组织,而丛生芽数降低,基部出现枯叶,下次转瓶时要切除愈伤去除枯叶,且基部被愈伤埋住的丛生芽在分离时容易被剪碎;但当NAA浓度降至0.05和0.01 mg/L而6-BA浓度为0.5 mg/L时会有部分芽长出根,影响丛生芽的数量;在月季扩繁中使用IAA未见有大块愈伤的形成,在合适浓度下增殖系数比用NAA略低,但丛生芽节间几乎不伸长,致使叶簇生成莲座状,难以分开,且分瓶后长势差,不宜采用;用IBA进行扩繁丛生芽者极少,在浓度0.05mg/L时就有1/3的苗生出根。

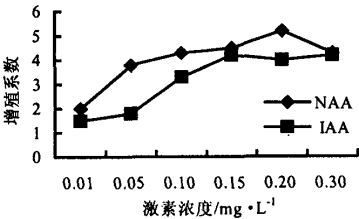


图1 不同NAA与IAA浓度对增殖系数的影响

Fig.1 The effect of NAA and IAA on proliferation coefficient

2.3.3 外源激素及浓度对生根培养的影响 月季组培苗生根常用的激素有NAA和IBA,各种培养基对‘雪山娇霞’生根的影响差异明显(表3、图2)。其中,最有效的培养基配比为1/2MS添加IBA(0.1~0.3 mg/L),在以NAA为生长素的培养基上生根情况较差,在芽基部长出大量愈伤可能是其生根差

表3 不同培养基对生根的影响

Table 3 The effect of media on the rooting of plantlets

代号	培养基	生根率/%	生根特点
M6	1/2MS+NAA0.1	80	根数量少而长,健康
M7	1/2MS+NAA0.3	88	根数量少而长,健康
M8	1/2MS+NAA0.5	72	根数量少,细弱(有大块愈伤长出)
M9	1/2MS+IBA0.1	92	根数量多,短而健壮
M10	1/2MS+IBA0.3	96	根数量多,短而健壮
M11	1/2MS+IBA0.5	98	根数量多,但不能伸长,在苗基端成疙瘩状

的主要原因之一^[3]。对二者生根效果的报道说法不一,如李青^[4]等在藤本月季快繁中得到的结论是IBA效果优于NAA,而马祎^[5]等在微型月季的快繁中发现NAA的生根效果优于IBA。另外,该品种在

任何培养基中生根时侧根均偏少,在主根长到一定长度后在瓶内对其进行剪切,大大促进了侧根的萌发,同时提高了移栽成活率。

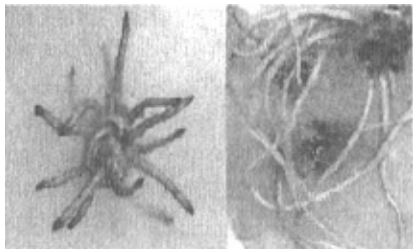


图2 IBA与NAA生根情况对比

Fig. 2 Comparison of rooting between IBA and NAA

2.4 移栽

生根后的苗移栽时期很重要,过早根太嫩影响成活,过晚则根老化移栽后不利于根恢复生长。移栽前可进行短期的开瓶炼苗,以增强幼苗对外界新环境的适应能力,但在开瓶期间往往有杂菌落入瓶中,试验证明,开瓶8 d后幼根就有因杂菌大量繁殖而软化腐烂者,温度过高时更为严重。为避免此类情况,可在实际操作中免去炼苗的步骤,而在合适的时期将幼苗从瓶中取出,洗净根部琼脂后直接过渡移栽入栽培基质中。移栽后的前期保持80%~90%的空气湿度(可用聚乙烯薄膜覆盖),温度20~25℃,并定期喷洒1/4MS营养液和浓度为800~1 200 mg/kg的杀菌剂即可保证苗的成活。如此操作不仅省去了炼苗的麻烦,而且减少了污染,提高了成活率。栽培基质以珍珠岩与草炭土1:1混合为最好(表4)。

表4 不同移栽基质对成活率及生长状况的影响

Table 4 The effect of media on the survive of plantlets

栽培基质	成活率/%	生长状况
草炭土	71	色深绿,生长慢
1 蛭石:1 草炭土	86	苗细弱
1 珍珠岩:1 草炭土	92	良好
3 珍珠岩:1 草炭土	78	较弱
1 珍珠岩:3 草炭土	82	良好

3 讨论

组培中选用合适的激素配比时既要考虑到增值系数的大小也要照顾到丛生芽的质量,因为扩增系数过大(如大于5时)则会出现芽细弱、节间拉长、叶柄较长、不易生根或生根后移栽时不易成活等问题;而且最佳的激素配比并不是一成不变的,不同取材时期其最佳比例也是有所变化的,因为外植体自身所含内源激素的量是随季节而变化的。另外,不同的继代时间间隔、培养基的pH值、继代数等也都会对培养结果造成一定影响。

组培成本高一直是组培技术在生产中广泛应用的一大限制因素,为此,研究中进行了组培苗瓶外生根试验。即将扩繁出的壮苗剪成3~4 cm长的节段,用激素处理后插入消过毒的基质中。激素选用了瓶内生根效果良好的NAA与IBA和普通ABT生根粉,基质选用了蛭石和珍珠岩的混合物,培养温度为23~25℃,空气湿度80%~85%。插穗的激素处理采用了高浓度速蘸和低浓度浸泡2种方式。结果显示,IBA对‘雪山娇霞’瓶外生根的效果优于NAA和ABT,速蘸的效果优于浸泡。该技术即可节省快繁过程中的部分费用,又可缩短生产周期,是一种很好的发展方向,值得进一步研究和推广。

参考文献:

- [1] 马燕. 刺玫月季育种的系统研究[D]. 北京林业大学, 1992.
- [2] 韩慧君, 黄善武. 商品月季生产技术[M]. 北京: 中国林业出版社, 2002.
- [3] 徐振华. 月季试管苗生根的形态解剖学观察[J]. 园艺学报, 1998, 25(4): 405-407.
- [4] 李青, 苏雪痕, 李湛东. 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.
- [5] 马祎, 刘青林. 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.