

野生黄刺玫的组织培养和快繁技术研究

余晓丽, 张乃群

(南阳师范学院生物系, 河南 南阳 473061)

摘要:以野生黄刺玫为外植体,探讨了不同生长调节物质对外植体分化、增殖和生根的影响,并对栽培基质与移栽技术进行研究。结果表明,利于黄刺玫分化的诱导培养基为 MS + 6-BA $1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$;以 MS + 6-BA $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 作增殖培养基效果最好,增殖率为 5.5;利于生根的培养基为 $1/2\text{MS}$ + IBA $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$;移栽基质为蛭石 + 珍珠岩 + 沙(1:1:1)效果最好,成活率 97%,且苗生长健壮。

关键词:黄刺玫;茎段;快速繁殖;栽培基质

中图分类号:S722.37 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-7461(2005)03-0093-03

Tissue Culture and Rapid Propagation Technique of wild *Rose xanthina*

YU Xiao-li, ZHANG Nai-qun

(Biology Department of Nanyang Teachers' College, Nanyang, Henan 473061, China)

Abstract: Using wild *Rose xanthina* of explants, we studied influencee of different growth regulating substances on explant differentiation, mutiplication and rooting, plant technique and plant materials. The results show that the best medium for induce was MS + 6-BA $1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; that the best medium for the multiplication of medium was MS + 6-BA $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, the multiplication rate was 5.5; the rooting and growing was the best in the medium with $1/2\text{MS}$ + IBA $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; plant material was the best with the vermiculite + pearlite + sand(1:1:1), the survival rste was 97%.

Key words: *Rose xanthina*; shoots; rapid propagation; plant material

黄刺玫(*Rose xanthina*),蔷薇属,落叶灌木^[1],根系繁密,适应性广,生长在山区或林缘。经栽培观察,用其下部茎段(距地 1.5 m 高)作树状月季砧木,其寿命、粗度、抗逆性优于国内其他砧木^[2]。近些年,由于人们对树月季的需求,导致黄刺玫的需求量也逐渐增大,但目前黄刺玫砧木的取得是从山上直接采挖,长久会造成资源匮乏、生态破坏,同时,黄刺玫常规繁殖系数低^[3]。采用植物组织培养方法可以快速繁殖黄刺玫,既可以保护资源、又可以满足市场的需要。本文较为系统地研究了黄刺玫茎段的离体培养和植株再生体系,为通过遗传转化途径进行砧木的种质改良打下了基础。

1 材料与方

1.1 材料

黄刺玫来自国家级自然保护区——河南省内乡宝天曼野生植物。

1.2 材料处理

取当年生带腋芽茎段,清洗干净后用 0.1% 升汞溶液浸泡 10 min 左右,用无菌水冲洗 4~5 次后,接种于诱导培养基上。每瓶接 1 个,每种培养基上接种 30 个,每次处理重复 3 次。

1.3 培养条件

诱导培养基^[4,5]为 MS + 6-BA $0.5 \sim 2.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA $0 \sim 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$;继代培养基^[6]为 MS + 6-BA $0.5 \sim 3.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA $0 \sim 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$;以上培养基均为加琼脂 0.75%,蔗糖 3%。

生根培养基^[7]为 $1/2\text{MS}$ + NAA $0 \sim 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + IBA $0 \sim 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; 0.6%~0.4% 琼脂,蔗糖 2%。

以上培养基均 pH5.8 ~ 6.0, 培养温度 $23^{\circ}\text{C} \pm 2$, 光照 $10 \sim 12 \text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$, 光照度为 2500 lx 。

1.4 试管苗移栽

栽培基质有珍珠岩、草炭、蛭石、沙壤土、腐殖土和砂。设计了 6 个处理, 每处理各 3 盘, 每盘 50 棵苗, 保持相对湿度在 60% ~ 70% 以上, 避免直射光。移栽 30 d 调查幼苗生长情况, 计算成活率。

2 结果与分析

2.1 诱导培养

无菌茎段外植体在 MS 培养基中添加 6-BA $1.0 \sim 2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, NAA $0.1 \sim 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 进行 6 种处理。表 1 中, 5 ~ 10 d 后开始萌动, 经过约 25 ~ 30 d 的诱导培养逐步诱导出丛生芽。

由表 1 可知, 当激素配比为 6-BA 1.5 + NAA 0.1 时有利于不定芽的分化。

表 1 不同生长调节物质组合对野生黄刺玫不定芽诱导的影响

Table 1 Effect of combination of different plant growth regulators on wild *R. xanthina* adventitious bud induction

处理	激素/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$		不定芽生长情况
	6-BA	NAA	
1	2.0	0.1	不定芽萌发率低、愈伤组织较多
2	2.0	0.5	不定芽萌动, 均约有 4 个丛生芽、伴有少量愈伤组织
3	2.0	1.0	愈伤组织较致密, 不定芽少
4	1.5	0.1	不定芽萌动, 均有 6 个丛生芽、芽丛健壮
5	1.0	0.1	约 50% 不定芽萌动, 芽全健壮, 约 50% 发育为愈伤组织
6	1.0	0.5	不定芽萌动, 均约有 3 个丛生芽、伴有愈伤组织

2.2 继代增殖

将诱导出的不定芽, 分别接种在不同浓度的 6-BA 和 NAA 的继代培养基中, 20 d 后观察试管苗增殖生长状况。由表 2 可看出, 在 MS 培养基中, 随 6-BA 浓度的增加, 分化的芽也随之增多。当 6-BA 浓度为 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, NAA 为 $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时丛生苗增殖为 5.5 倍, 最多可达 8 个丛生芽, 生长势最强, 该组合侧芽 6 d 后单个切芽的基部有少量愈伤组织并逐步形成芽丛, 20 d 以后产生的丛生芽数目明显优于其他。随 6-BA 浓度的进一步增加, 芽增殖倍数逐渐减少, 且苗生长势减弱。

分化培养基上的材料一般 25 d 左右继代 1 次, 重复继代培养, 使分化材料增殖到一定数量后, 再进行生根培养。

表 2 不同生长调节物质组合对野生黄刺玫不定芽增殖的影响

Table 2 Effect of combination of different plant growth regulators on wild *R. xanthina* adventitious buds multiplication

处理	生长调节物质组合浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$		增殖倍数	平均苗高/cm	生长状况
	6-BA	NAA			
1	0.5	0.05	2.5	1.5 ~ 1.0	生长慢、长势弱
2	1.0	0.05	5.5	2.5 ~ 3.0	芽丛健壮、幼苗健壮、叶色深绿
3	1.5	0.05	4.5	1.5 ~ 2.0	叶色黄绿、长势较好
4	2.0	0.05	4.0	1.5 ~ 1.8	叶色深绿、长势较好
5	2.0	0.10	3.5	0.5 ~ 0.8	不定芽低矮、纤细
6	3.0	0.10	3.0	2.0 ~ 2.5	不定芽叶色淡、长势较好

2.3 生根培养

当不定芽长到 1.5 ~ 2.0 cm 时转入生根培养诱导生根, 20 d 后小苗基部可分化出 1 cm 左右的根。表 3 表明, 小苗在 $1/2\text{MS} + \text{IBA} 0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的生根培养基中平均诱导根数 5.5 条, 根为褐色(前期为白色), 个别可达到 10 ~ 12 根, 20 d 后根可达 2 cm 以上, 形成完整的植株。总的生根率达 93%。

表 3 不同生长调节物质组合对野生黄刺玫不定芽生根的影响

Table 3 Effect of combination of different plant growth regulators on wild *R. xanthina* adventitious buds rooting

处理	生长调节物质组合浓度/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$		接种苗数/棵	分化苗数/棵	生根率/%	诱导生根情况
	NAA	IBA				
1	0.1	0	30	22	73	20 d 开始生根, 25 d 时每株生根 2 ~ 3 条, 根较细弱
2	0.2	0	30	25	83	14 d 开始生根, 20 d 时每株生根 3 条。根粗壮, 呈放射状
3	0.2	0.2	30	20	66	21 d 开始生根, 26 d 时每株生根均 1.5 条, 根细弱
4	0	0.2	30	28	93	11 d 开始生根, 16 d 后, 逐步长出约 4 ~ 7 条白色的根, 26 d 后根褐色。根粗壮
5	0	0.1	30	23	77	16 d 开始生根, 21 d 时每株生根 2 ~ 3 条, 根的粗度适中

2.4 试管苗的栽培基质与移栽

把生根的试管苗打开瓶口, 炼苗 2 ~ 3 d 后, 小心取出, 洗净根上附着的琼脂, 然后用 75% 的百菌清(1000 倍)浸根 3 ~ 5 min 杀菌, 栽入经 1% 高锰酸

钾消毒过的基质中。

表4 不同栽培基质对植株生长的影响

Table 4 The effects of the different planting matrixes treatments on plant growth

基质	炼苗总株数	成活率/%	根系生长情况	植株生长情况
珍珠岩+草炭(2:1)	150	64	每株生根3~5条,根长5~8cm,根色灰暗	幼苗细弱,植株低矮
蛭石+沙壤土+草炭(1:1:1)	150	43	每株生根2~4条,根长4~6cm,根比较弱	幼苗低矮,叶色淡,长势弱
蛭石+珍珠岩+砂(1:1:1)	150	97	每株生根5~7条,根长10~13cm,根毛多,健壮	幼苗健壮,叶色绿
蛭石+珍珠岩+腐殖土(1:1:1)	150	75	每株生根4~6条,根长8~10cm,根较细	幼苗较健壮,叶色淡绿,长势不太强健

从表4可以看出,基质为蛭石+珍珠岩+砂(1:1:1)成活率97%,效果最好。用稀薄的营养液喷雾,温度保持在23~26℃,光照在3000~5000lx,保温遮荫,空气相对湿度为80%~90%,1个月后续统计移栽成活率,可达90%以上。

3 结论

细胞分裂素6-BA和生长素NAA作为外源激素加入培养基后,对野生黄刺玫茎段的诱导及分化影响十分显著。适宜野生黄刺玫分化的诱导培养基为MS+6-BA 1.5 mg·L⁻¹+NAA 0.1 mg·L⁻¹;增殖培养基为MS+6-BA 1.0 mg·L⁻¹+NAA 0.05 mg·L⁻¹,增殖率为5.5。

利于生根的培养基为1/2MS+IBA 0.2 mg·L⁻¹;为降低成本,将诱根培养基中琼脂的用量减半,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3~5d,移栽洗根较为容易,不易伤根,成活率高。

移栽基质为蛭石+珍珠岩+砂(1:1:1),移栽驯化是工厂化育苗能否成功的关键^[7,8],在试管苗移栽驯化期,黄刺玫试管苗移栽时能耐一定的寒冷和高温,需要较强的光照,这与其生活习性密切相关。

对移栽基质的营养要求是质地疏松、透气性良好,pH值为6~6.5为宜^[7]。

用组织培养的方法可大大提高黄刺玫的繁殖速度,且植株根系发达,生长健壮,苗木整齐,是批量繁殖生产商品苗的一种好方法。

参考文献:

- [1] 王明荣. 中国北方园林树木[M]. 上海:上海科学技术出版社, 2003.
- [2] 李文鲜. 月季[M]. 北京:中国林业出版社, 2004.
- [3] 曹改义, 刘国民. 实用植物组织培养技术教程[M]. 兰州:甘肃科学技术出版社, 1996.
- [4] Ibrahim R, Debergh 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.
- [5] 叶始勋, 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.
- [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] 李正平. 月季试管繁殖和移栽中几个因素的研究[J]. 园艺学报, 1998, 15(2):131-134.
- [8] 傅新生. 明艳芳香的观赏植物[M]. 天津:天津科学技术出版社, 2003.