

“徽章”月季丛生芽诱导与增殖条件的筛选

吴林森¹, 戴养富², 柳新红³, 谢真铭⁴, 汪玲¹, 陈祥星¹

(1. 丽水职业技术学院, 浙江 丽水 323000; 2. 浙江省遂昌县王村口林业站, 浙江 遂昌 323300;
3. 丽水市林业科学研究所, 浙江 丽水 323000; 4. 丽水市碧湖林业站, 浙江 丽水 323000)

摘要:以茎段为试材,通过组织培养技术,探讨丛生芽诱导与增殖过程中的激素选择问题。结果表明:MS+6-BA 2.0 mg·L⁻¹+NAA 0.05 mg·L⁻¹+GA₃1.0 mg·L⁻¹是适合的培养基。

关键词:诱导;增殖;植物组织培养;月季

中图分类号: S722.3⁺7 **文献标识码:** A **文章编号:** 1002-7351(2006)01-0220-03

Studying the Proliferation Conditions Filtration and Induction of the Fasciculate Bud of the Rosa 'Emblem'

WU Lin-sen¹, DAI Yang-fu², LIU Xing-hong³, XIE Zheng-ming⁴, WANG Lin¹, CHENG Xian-xing¹

(1. Lishui Technical college, Lishui 323000, China;

2. Forestry Station of Shuichang Wang Chun Kou, Shuichang 323300, China;

3. Lishui Academy of Forestry Sciences, Lishui 323000, China; 4. Forestry Station of Bi Huo, Lishui 323000, China)

Abstract: The stem piece as material was used to discuss the problem of the different hormone selected on the induction and proliferation of the fasciculate bud. The results showed that the medium with MS+6-BA2.0 mg·L⁻¹+NAA0.05 mg·L⁻¹+GA₃1.0 mg·L⁻¹ gave the best effect.

Key words: induction; proliferation; plant tissue culture; Rosa chinensis

组织培养技术中,茎段培养是最直接、最简便、成苗速度最快的手段之一。其植株再生方法是通过顶芽和腋芽在离体培养条件下经诱导发育,由单个的芽萌发出单一的苗或多个苗。这其中如何使顶芽和腋芽生长迅速,使芽丛生数量增加,可以用极少量的材料获得大量的幼苗,同时又促进丛生芽苗生长健壮,这是组培的关键性技术环节,也是植物组织培养中的重大研究课题。

本研究选择的植物是月季的“徽章”(Rosa 'Emblem')品种,该品种花黄色,高心卷边,径12~14 cm,花枝长50~60 cm。选择其当年生带芽茎段作为试材,对其组织培养中的丛生芽诱导生长阶段进行试验,研究如何促进芽的增殖,筛选适合该品种芽增殖的培养条件组合,为其扩大繁殖提供科学的依据。

1 试验材料和研究方法

1.1 材料

所用的月季品种采自丽水职业技术学院花坛。实验研究时间从2003年4月~2004年12月,地点在丽水职业技术学院的组织培养实验室。

1.2 外植体准备

取生长健壮的当年生枝条,剪去叶片,剥去附在茎上的叶柄及皮刺,切成长短适宜的茎段,先整段用洗洁精液刷洗,然后用自来水冲洗5~6 h;在无菌条件下,70%的酒精浸泡15~30 s,0.1%升汞液消毒10 min,无菌水冲洗5~6次,用无菌滤纸吸干表面水分,再切成1.0~1.5 cm长的茎段,每个茎段带1个侧芽,然后转入消毒过的培养皿中备用。

1.3 研究方法

1.3.1 不同种类、浓度的细胞分裂素对芽增殖的影响 以MS为基本培养基,细胞分裂素选用6-BA、KT、

收稿日期:2005-09-19; 修回日期:2005-11-21

作者简介:吴林森(1969-),男,浙江庆元人,丽水职业技术学院工程师、讲师,从事植物组织培养技术研究。

ZT, 设 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 3 个浓度梯度, 分别配制培养基培养茎段, 观察其生长现象, 分析比较不同种类与浓度的细胞分裂素对芽增殖的影响, 进而分析比较确定出最适宜生长的细胞分裂素种类与浓度。以 MS 基本培养基作为对照。

1.3.2 不同种类、浓度的生长素对芽增殖的影响 选用 NAA、IBA、IAA 3 种生长素, 设 $0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 3 个浓度梯度, 分别与上阶段确定的最适宜的细胞分裂素配合使用, 配制 MS 培养基培养茎段, 观察其生长现象, 分析比较不同种类与浓度的生长素对芽增殖的影响, 进而确定出最适宜生长的生长素种类与浓度。

1.3.3 不同浓度的 GA_3 对幼苗嫩梢伸长的影响 以 MS 为基本培养基, 以确定的最适宜生长的激素种类与浓度作为培养基成分配制培养基, 以在此培养基中培养 30 d 后产生的健壮、生长正常的丛生幼芽作为实验材料, 并将其分离成单个幼芽, 然后测定每株幼芽的高度, 最后转接到 MS + GA_3 的培养基中进行培养。 GA_3 的浓度设定为 0 、 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $3.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。通过培养观察其伸长生长情况, 判定 GA_3 对幼苗嫩梢伸长的影响。

1.3.4 材料采摘时节对芽增殖的影响 材料采摘季节分 4 月、6 月、11 月。材料采摘后以上述所定出的成分配制培养基对其进行培养, 观察其生长情况, 判定材料采摘季节对芽增殖的影响。

1.4 培养条件

基本培养基为 MS, 加琼脂 $6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 蔗糖 $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, pH 值调节为 $5.6 \sim 5.8$, 光照强度 $1\ 500 \sim 2\ 000 \text{ lx}$, 培养温度为 $25^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$, 光照 $12 \text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$, 培养时间 30 d 左右。

2 结果与分析

2.1 不同种类、浓度的细胞分裂素对芽增殖的影响

带芽茎段接种 3~5 d 后, 一些腋芽开始萌发, 芽体开始膨大, 10 d 左右腋芽开始发出枝叶, 同时外植体茎段的上端口、叶痕处产生白色愈伤组织, 继续培养腋芽分化形成丛生芽。在接种 30 d 的过程中观察各种现象, 并在第 30 d 测定计算有关数据见表 1。

表 1 不同种类和浓度的细胞分裂素对芽增殖的影响

种类	浓度 $/\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	外植体数	腋芽萌发率/%	芽丛生数 ≥ 2 时		幼苗生长状况
				外植体个数	外植体所占比例/%	
6-BA	1.0	40	52.5	6	28.6	丛生芽长出叶片生长好, 但不整齐, 芽均高 1.7 cm
	1.5	40	80.0	12	37.5	速度快生长较好, 整齐度一般, 芽均高 2.0 cm
	2.0	40	82.5	14	42.4	丛生芽长叶片速度快, 数量多, 整齐, 芽均高 2.3 cm
KT	1.0	40	57.5	5	21.7	有叶片皱卷、黄化, 苗生长不整齐, 芽均高 1.5 cm
	1.5	40	75.0	8	26.7	丛生芽长出叶片, 淡绿色, 生长较整齐, 芽均高 1.6 cm
	2.0	40	62.5	5	20.0	有叶片皱卷, 生长较慢, 绿叶较小, 芽均高 2.1 cm
ZT	1.0	40	72.5	1	3.4	生长较慢, 绿叶较小, 有几株刚长出叶片, 芽均高 1.2 cm
	1.5	40	60.0	2	8.3	有叶片皱卷, 生长较慢, 绿叶较小, 芽均高 1.0 cm
	2.0	40	57.5	2	8.7	有叶片皱卷, 生长较慢, 绿叶较小, 长势差, 芽均高 0.9 cm
对照	/	20	65.0	0	0	生长较慢, 绿叶较小, 芽均高 1.0 cm

从表 1 可看出, 不同种类和浓度的细胞分裂素对芽的萌发及增殖的影响是不同的, 从作用效果看, 6-BA 最显著, KT 次之, ZT 效果最差; 从同一种类激素的不同浓度来看, 对芽增殖也是不同的。3 类激素中 6-BA 促进萌发及增殖的浓度为 $1.5 \sim 2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 其萌发率及芽丛生数 ≥ 2 时外植体所占比例分别为 $80.0\% \sim 82.5\%$ 、 $37.5\% \sim 42.4\%$, KT 则为 $1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 而 ZT 对芽萌发率影响与对照接近, 能促进芽丛生现象的发生, 但数量少, 其生长与对照相比差异不大。

2.2 不同种类、浓度的生长素对芽增殖的影响

选用 IAA、NAA、IBA 3 种生长素分别与 6-BA $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 搭配使用, 发现 IAA 在所设浓度梯度范

围内对芽萌发率及芽增殖无作用;NAA $0.05 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的添加可促进丛生芽数量的提高,其效果较另2个浓度好,芽丛生数 ≥ 2 的外植体数在6-BA $2.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、NAA $0.05 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时提高至53.2%,提高幅度为10.8%,并且丛生芽长叶片速度快,数量多,整齐;IBA在 $0.01 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $0.05 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $0.1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 浓度梯度时对芽萌发率及芽增殖都有一定的促进作用,但对于芽丛生数量的增加方面,差于NAA。在6-BA $2.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、IBA $0.05 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时提高幅度为6.8%,并且丛生芽生长不整齐,较短小,长势较弱。

2.3 不同浓度 GA_3 对幼芽嫩梢伸长的影响

取外植体消毒后接种于含6-BA $2.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、NAA $0.05 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的MS培养基中,培养30d后将获取的丛生芽并分离成单个芽,转接在含有不同浓度 GA_3 的MS培养基中,15d后调查幼茎的伸长情况(见表2)。不同浓度 GA_3 均促进幼苗的伸长,其中以 GA_3 为 $1.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,幼苗的长势旺盛,生长健壮,而且伸长速度比对照高。 GA_3 为 $2.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 及 $3.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时,其促进伸长作用比 GA_3 为 $1.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时高,但由于过高出现了枝条细弱的现象,并不健壮,这类幼苗不利于以后的移栽成活。

表2 不同浓度的 GA_3 对幼芽嫩梢伸长的影响

GA_3 浓度/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	测定幼苗数	幼苗均高/cm		
		培养期初	培养期末	增加
0	30	2.36	2.64	0.28
1.0	30	2.27	2.89	0.62
2.0	30	2.40	3.23	0.83
3.0	30	2.10	2.88	0.78

2.4 材料采摘时节对芽增殖的影响

取样时间不同,茎段的幼嫩程度不同,太嫩则在消毒时细胞容易失活而造成外植体的死亡,但如果木质化程度高则容易感染,成活率也会随之下降,同时,木质化程度高,细胞分化的难度加大,从而使植株的再生难度增大。通过实验发现,材料采摘时节对芽增殖有一定的影响,表现为4月新梢侧芽萌发率及丛生数 ≥ 2 的外植体所占的比例均高于11月。6月份取材,其萌发率及侧芽增殖率虽然与4月基本相同,但丛生芽的长势要比4月份时的芽要弱,使实际成苗率下降。11月取材则萌芽率与芽增殖率普遍下降。

3 结论与讨论

“徽章”月季侧芽形成丛生芽过程中的重要影响因素有:外源激素的使用与合理搭配,材料的取材时间等。在培养基中将6-BA $2.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、NAA $0.05 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 配合使用其芽的萌发率及丛生芽百分比大于单独使用6-BA,同时在培养基中添加 $1.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的 GA_3 ,这一做法不仅可以实现丛生芽苗数量的增加,而且可以进一步促进幼苗的伸长,使幼苗木长壮长高,利于后续的生根移栽,最终提高组培苗的成活率;取材时间以4月份为好,秋冬季由于芽进入自然休眠状态,因而萌发率及丛生芽产生率均较低。本研究能为其扩大繁殖提供了很好的科学依据,同时也可为其它的月季品种的快繁工作提供很好的借鉴。

参考文献:

- [1]李骏明.植物组织培养教程[M].北京:中国农业大学出版社,1996.
- [2]王正加,高云振,李军萍.月季组织培养过程中的影响因素[J].浙江林业科技,2003,23(4):51-56.
- [3]韦三立.花卉组织培养[M].北京:中国林业出版社,2001.
- [4]项艳,江海洋,李宗.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.
- [5]张焱如,张艳君.月季的茎段培养与快繁[J].内蒙古农业科技,2000,(5):9-10.
- [6]朱秀珍,黄善武,孙百龄.月季花[M].北京:中国林业出版社,2003.