

摘要: 玫瑰属于玫瑰系温带树种,耐寒,耐旱,对土壤要求不严,在微碱性地能生长,在富含腐殖质,排水良好的中性或微酸性壤土上生长和开花最好,喜光,在蔽阴下生长不良,开花稀少;不耐积水,受涝则下部叶片黄落。萌蘖性很强,生长迅速,为大众需求花之一,下面介绍一种利用组织培养快繁玫瑰的方法。

关键词: 玫瑰;组织培养;快繁

1 外植体的采样及灭菌处理

1.1 外植体的采样。要注意选取受污染较轻,无病虫害,生长健壮,发育充实的植株。采取玫瑰的顶芽、侧芽或带芽的茎段,通过顶芽和腋芽的发育进行组培快繁。

1.2 外植体的灭菌处理。剪去多余部分,然后用自来水冲洗 30 min 以上,然后在 70% 的酒精中浸泡不超过 30 s,再用灭菌剂(2%~10%次氯酸钠水溶液或 0.1%~0.2%升汞)浸泡 3~15 min,取出后用无菌水冲洗 4~5 次,最后放置无菌室超净工作台上^[1]。

2 组培室的卫生与灭菌

2.1 灭菌液。将组培室打扫干净,并对地面、墙壁和工作台进行灭菌处理。配方。取新洁尔灭原液 20 ml 加水 980 ml,配成 2%新洁尔灭溶液。

2.2 灭菌方法。将配好的 2%新洁尔灭溶液倒入提桶内,一人把喷雾器的主体插入溶液中,并加

压。另一个人握着喷雾器的喷杆进行均匀地喷雾。

2.3 操作注意事项。①墙壁、角落、地面喷雾要均匀,不要遗漏;②注意安全,在喷雾喷房顶时,要特别小心,防止药液喷雾进入眼睛。然后用 70% 的酒精纱布擦洗培养架、玻璃台面。

2.4 用紫外灯照射 20~30 min。

2.5 使用前再用 70% 的酒精喷雾,使空间灰尘落下。

3 MS 培养基的配置 灭菌及保存

3.1 母液的配制。用分析天平或电子天平准确称取药品,然后依次混合。

3.1.1 母液 1 的配制。称取 NH_4NO_3 : 82.5 g, KNO_3 : 95.0 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$: 18.5 g,用少量蒸馏水将药品分别加热溶解,然后依次混合,加蒸馏水定容至 1 000 ml,成 50 倍液。

3.1.2 母液 2 的配制。称取 $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$: 22.0 g,加蒸馏水定容至 500 ml 成 100 倍液。

3.1.3 母液 3 的配制。称取 KH_2PO_4 : 8.5 g,加蒸馏水定容至 500 ml 成 100 倍液。

3.1.4 母液 4 的配制。称取 $\text{Na}_2 \cdot \text{EDTA}$ 1.865g, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1.390 g,用少量蒸馏水将 $\text{Na}_2 \cdot \text{EDTA}$ 加热溶解后,再缓缓倒入 FeSO_4 溶液充分搅拌并加热 5 min,使其充分整合,加蒸馏水定容至 500 ml,成 100 倍液。

3.1.5 母液 5 的配制。称取 H_3BO_3 : 0.31 g, $\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$: 0.0125 g, $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$: 1.115 g, $\text{CuSO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$: 0.00125 g, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$: 0.43 g, $\text{CoC}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$: 0.00125g, KI : 0.0415g 用少量蒸馏水分别将药品溶解,然后依次混合,加蒸馏水定容至 1 000 ml,成 50 倍液。

3.1.6 母液 6 的配制。称取肌醇 5.0 g, VB_6 : 0.025 g,甘氨酸 0.1 g, VB_1 : 0.005 g,烟酸 0.025 g,用少量蒸馏水分别将药品溶解,然后依次混合,加蒸馏水定容至 250 ml,成 200 倍液。

3.2 MS 固体培养基的配制

3.2.1 提取母液。将母液 1、2、3、4、5、6 按规定量 20 ml、10 ml、10 ml、10 ml、20 ml、5 ml 用吸管提取,放入盛有一定量蒸馏水的烧杯。

3.2.2 加入固化剂。加入琼脂 7 g。

3.2.3 加糖。放入蔗糖 30 g。

3.2.4 定容。加蒸馏水定容至 1 000 ml。

3.2.5 熔化琼脂。在电炉或煤气灶上加温溶液,并不断搅拌,使琼脂熔化。

3.2.6 调整 pH 值。经酸度剂或 pH 试纸测试,用 0.1mol/L 的 NaOH 和 0.1mol/L HCl 把培养基的 pH 值调整到 5.8~6.0。

3.2.7 培养基分注。把配好的培养基分注到培养瓶中,100~150 ml 的培养瓶每瓶装入 20~35 ml 的培养基。分注后立即加盖,贴上标签,注明培养基的名称与配制时间等。

3.3 灭菌

3.3.1 高压蒸汽灭菌。将培养皿、三角瓶、试管等玻璃器皿进行彻底清洗,后用牛皮纸、纱布或铝箔包扎好;在高压灭菌锅内装入一定量的水(需淹没电热丝),把注入培养基的培养器皿,包扎好的玻璃器皿和金属器械以及装有蒸馏水的玻璃瓶,放入高压灭菌锅灭菌。当压力升至 49.0 KPa 时用镊子打开排气阀排出锅内的冷空气,然后关闭排气阀。当压力达 108 KPa,锅内的温度为 121 ℃时,保持 15~20 min^[2]。最后切断电源,让灭菌器自然冷却。

3.3.2 干热灭菌。把培养皿、三角瓶、试管等玻璃器皿进行彻底清洗,把清洗干净的玻璃器皿放到烘箱中,150 ℃,干热灭菌 1h,或 120 ℃灭菌 2h。灭菌完毕,待冷却取出。

3.4 保存。冷却后,把培养基灭菌器中取出,放置在温度低于 30 ℃(最好是 4 ℃~10 ℃),没有强光照射的专用柜中备用。

4 无菌接种与培养

4.1 无菌接种

4.1.1 接种前的准备。接种前必须对接种室或接种箱进行消毒,以保证在无菌条件下,进行严格的无菌操作,同时准备好接种工具。

4.1.2 接种步骤。①用 75% 的酒精棉球擦拭操作人员双手以及培养基瓶外壁,对已消毒的玫瑰茎段无须消毒,才可在接种室(箱)内开始接种。②点燃酒精灯,使火焰周围的空间

如何确定葡萄结果母枝的剪留长度

在葡萄的冬季修剪中,结果母枝的剪留长度对葡萄产量、品质及植株的生长发育有很大的影响。剪留过短,来年枝少,产量低;剪留过长,来年新梢密集,光照不良,落花落果严重,果粒变小,着色差,糖度低,口味也不好,而且枝条生长发育不良,花芽分化不好。所以在进行葡萄冬剪时必须予以重视。

1 结果母枝的剪留长度

结果母枝的剪留长度是由1年生枝剪截后留下的芽眼数来表示。结果母枝剪留1~3个芽的叫短梢修剪,剪留4~7个芽的叫中梢修剪,剪留8个芽以上的叫长梢修剪,有的把剪留12个芽以上的叫超长梢修剪。同时采用长、中、短梢结合修剪称为混合修剪。各种剪留长度在不同条件下各有利弊,应根据具体条件来确定。

2 确定葡萄结果母枝剪留长度的依据

2.1 根据枝蔓的成熟度确定。上述各种剪留长度均有一定的伸缩性,一般需根据结果母枝的成熟度灵活掌握。因此,对葡萄结果母枝无论采用何种修剪方法,都须保证剪留的部分充分成熟,否则枝蔓不能正常越冬。在具体实践中,一般选择在自结果母枝基部陡然变长的节位上剪截。这样就能保证剪留的部分充分成熟。

2.2 根据品种特性确定。对结实力较高的欧亚种和欧美杂种品种,如玫瑰香、巨峰等大多数品种适于以短梢为主的中、短梢修剪。而对结实力较低、基部芽眼结实力差的东方品种群的品种,如龙眼等,宜采用中、长梢修剪。但从生产实践来看,绝大多数品种,不论是采用短梢修剪还是长梢修剪,只要一系列栽培管理措施能够相互协调,即使是同一品

种采用两种极端的修剪长度,都能获得相同的产量和质量。因此,在生产实践中,针对某一品种某一植株的具体情况,还应综合考虑以下几方面的具体因素。

2.3 根据整枝方式确定。棚架多主蔓扇形整枝以长梢、中梢修剪或长梢、中梢、短梢混合修剪为主,采用龙干形整枝时,结果枝组必须进行短梢或极短梢修剪。

2.4 根据架面空间大小确定。有空间的部位,枝蔓应适当长留,以尽快占满架面。如主蔓的延长枝则可采用超长梢修剪;架面空间较小或无空间的部位要适当短留。

2.5 根据环境条件不同确定。在土壤瘠薄、肥水不足、干旱的地区;植株生长势弱,以短梢修剪为主,在各项条件都较好的地区,植株生长势较强,则应采用中、长梢修剪。

2.6 根据栽培技术水平确定。栽培技术在一定程度上可以改变植株的生长结果习性。因此,对于土肥水管理水平较高,夏季管理措施较细致,如新梢的弓形引缚、结果枝的及时摘心、副梢生长的控制等措施均较到位的果园,植株生长健壮,结果母枝基部芽眼结实率高,应以短梢修剪为主。相反,对于土肥水管理水平较差,夏季管理较粗放的果园,则应适当的长留,以中、长梢修剪为主。

064300 河北省迁西县职教中心 董连艳



成为无菌区,接种操作在火焰旁进行,避免杂菌污染。③把已剪好成1~2 cm的玫瑰茎段(具有生长力)放在小试管中。④将试管和培养基瓶的瓶盖分别用大拇指和其他四指握在左手中,使中指位于试管与培养基瓶中间。⑤先将培养基瓶的瓶盖拧转松动,以便接种时及时拧开。⑥右手拿接种镊子在酒精灯上灭菌。⑦拧去瓶盖,以火焰烧灼瓶口,烧灼时应不断转动瓶口,以杀灭瓶口可能污染上的杂菌。⑧将灭菌后的接种镊伸入装有茎段的试管中,停留片刻让其冷却,以免烫伤茎段^[1]。然后,轻轻取出一段,迅速将接种镊抽出试管。注意不要使接种镊碰到管壁。⑨迅速将接种镊伸进培养基瓶中,将夹取的茎段放在培养基的中央。注意不要把培养基划破,也不要使茎段靠在瓶壁上。⑩抽出接种镊,烧灼瓶口,并在火焰旁将瓶盖盖上。接种镊放回前先灭菌。最后在接种培养基瓶上,贴上标签,注明日期。放在移动车上,以待运回培养室。以后的培养基瓶制作步骤同上。

4.2 入室培养

4.2.1 培养条件。需要采用日光灯或日光灯加上白炽灯的混合光作为光源,光照度在1 000~3 000 LX,光周期实行连续光照或16 h光照、8 h黑暗。培养室温度在25℃左右即可^[2]。

4.2.2 培养时间。培养7~15 d即可出幼苗,在培养室内锻炼3 d即可出室。注意培养室的洁净,以免出苗污染。

参考文献

- [1] 李振陆.物生产综合实训教程 [M].北京:农业出版社,2002
- [2] 王清连.植物组织培养 [M].北京:中国农业出版社,2001
- [3] 张淑霞.用菌栽培技术 [M].北京:北京大学出版社,2007
- [4] 李浚明编译.植物组织培养教程 [M].北京:北京农业大学出版社,2000

735000 甘肃酒泉职业技术学院生物工程系

2006级园艺班

郭致宽

735000 甘肃酒泉职业技术学院生物工程系 李方华