

植物生长剂和试管苗培养时间 对不同品种月季繁殖率影响

付晓春 佟新萍 张 革 (译)

摘要 BA (0、0.5、5 和 10 (10^{-6}))、NAA (0、0.005、0.01、0.1 和 1 (10^{-6})) 和增殖时间 (6、8 和 10 周) 对四种蔷薇属种间杂交品种 *champlain*、*John Franklin*、*John Paul I* 和 *Landora* 最适繁殖条件的影响进行了研究。一般地说当培养基中植物生长调节剂浓度低或高时, BA 和 NAA 两者对能存活的试管苗比例和繁殖率都有显著的影响。高于 0.1 (10^{-6}) NAA 可显著地降低其中两个品种的繁殖率。繁殖率和品种间对 BA、NAA 的浓度和培养时间没有一致的反应。因此提出为了获得每一个品种的试管苗数量, 要确定每一个变量。

月季传统的繁殖方法是用芽枝嫁接或根扦插。近年来, 尽管某种月季品种的繁殖需要不同的培养基和不同的生长调节剂, 但是 *Rhybrida* 品种和 *Rosasp* 的组培已成为一种交替的繁殖方法。例如: 根据 Hasegawa (1980 年) 报道 *Improved Blaze* 品种繁殖所研究出的培养基对三种微型月季有相同反应, 而不是对所有的杂种茶香月季有反应。Khosh-khui 和 Sink (1982) 发现繁殖 *R. hybrida* 种类和两个老种群需要不同浓度生长调节剂。Martin 等 (1981) Cai 等 (1984) 和 Bressan 等 (1982) 也发现了类似的结果, 这归因于遗传变异。尽管这些结果表明, 不是所有种类的月季在繁殖过程中都需要相同的培养基和生长调节剂的浓度, 但 Skirvin 等 (1984) 和 Pitet (1981) Moncousin (1982) 还是各自报道了这些月季一般的组培方法。Harney (1983) 报道多种月季在组培中, 产生嫩芽困难, 为了确定最适的繁殖条件必须要研究生长调节剂的浓度, 大量元素和环境条件。尽管在试管中嫩芽的繁殖主要是细胞分裂素产生的结果 (Skirvin 等 1990), 但最近的研究表明, 对某种月季来说繁殖过程中培养基中的无机盐的浓度可能是非常重要的。

试管苗的繁殖期大约是 4~8 周。例如: Rout 等 (1989) 观察到培养 8 周后, 增殖数达 5 倍, 而 Hastgan-ca (1979) 报道在相同的时间内, 增殖数达 3 倍。

Hasegawa (1980) 也观察到继代培养 6 周时, 相同的材料增殖数达 6 倍。同时还报道了仅用 4 周的培养, 增殖数可达到 6 倍, 再继续延长培养时间, 则不会再增殖。Davies (1980) 也报道了每 4 周的培养可繁殖 3~5 个试管苗。

这项研究的目的是要确定 BA 和 NAA 浓度对两个耐寒和两个杂种茶香月季品种的培养时间及它们的交互作用的影响。

材料和方法。在温室中种植抗寒的灌木月季 *champlain* 和 *John Franklin*。杂种茶香月季 *John Paul I* 和 *landora*。及所有的 *R. hybrida* 品种, 建立试管中原始材料取样圃。把嫩枝上的叶片去掉, 然后剪下带有一个腋芽的茎段 (2cm) 放在 6.1%~2.5% NaClO 溶液中消毒, 20 分钟后把消毒好的材料放在分开的容器内用无菌蒸馏水冲洗三次。每个茎段分别转移到装有 10ml MS 培养基 25×150mm 的试管中, 培养基为含有 3/4 大量元素的附加有 1856 (10^{-6}) 浓度的 NH_4NO_3 和全量微量元素的附加有 21.2 (10^{-6}) 浓度的 $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 和 33.8 (10^{-6}) 的 $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 蔗糖为 3%, 琼脂为 0.6% 的 MS 培养基。BA 和 NAA 也分别为 1 (10^{-6}) 和 0.005 (10^{-6}), PH 值为 5.7 ± 0.1 , 在 121℃ 的高压热力器里消毒 20 分钟。14 天后把每个茎段长出的腋芽切成 1.5cm 长, 再转移到上述被调整过的

MS 培养基中。这些试管就是处理所采用的试验单位。

表 I 存活植株试管的百分率
和每个试管中存活植株平均数分析

变异来源	df	champlain		Landora		John Franklin		John Paul I	
		PCHT	NPHT	PCHT	NPHT	PCHT	NPHT	PCHT	NPHT
时间d	2	—	—	—	—	—	—	—	—
BA	4	—	—	—	—	—	—	—	—
NAA	4	—	—	—	—	—	—	—	—
BA×NAA	16	—	—	—	—	—	—	—	—
时间×BA	8	—	—	—	—	—	—	—	—
时间×NAA	8	—	—	—	—	—	—	—	—
误差	32								

表 II 几个培养时间平均后 BA 和 NAA
对几个测试品种有存活植株试管百分率的影响

BA (10 ⁻⁶)						
品种	0	0.5	2.5	5.0	10.0	SE ^a
champlain	53	88	87	91	83	4
Landora	85	97	94	96	91	2
John Franklin	97	98	95	92	88	2
John Paul I	92	98	98	93	93	2
NAA (10 ⁻⁶)						
	0	0.005	0.01	0.1	1.0	SE ^a
Landora	96	90	95	92	91	2
John Franklin	95	90	92	98	96	2
John Paul I	96	97	97	94	91	2
Champlain	89	85	80	86	62	4

a. 据生态分布得来的平均标准误。

表 III 几个培养时间平均后, NAA 和 BA 对
‘John Paul I’ 有存活植株试管百分率的影响

NAA (10 ⁻⁶)					
BA (10 ⁻⁶)	0.0	0.005	0.01	0.1	1.0
0.0	88	94	97	88	94
0.5	97	97	97	100	100
2.5	100	100	94	100	94
5.0	97	94	100	97	77
10.0	97	100	94	86	89
SE ^a = 0.7					

a. 精确的表格值数为指标。据生态分布得出的最大和最小标准误。

试验用完全随机设计, 有25个处理, 5×5阶乘结构: BA 5个水平 (0, 0.5, 2.5, 5和10 (10⁻⁶)) 和 NAA 5个水平 (0, 0.05, 0.01, 0.1和1 (10⁻⁶)) 加入到调整过的培养基中。每个处理重复12次, 6周后记载从继代培养的腋芽长出的新植株数量。这些试管苗1/2用来继代培养, 并用相同的阶乘处理设计 (被选定给予相同处理的试管苗作为它们的母体), 剩下的继续培养8周。用相似的方法, 1/3用来继代培养, 剩下的继续培养10周, 培养的条件是每天保持25℃, 荧光灯 (30~40) μEm⁻²

S⁻¹照射16小时。除正常的外, 随分布状态数据也建起来 (Nelder 和 Wederburn, 1972, McCullagh 和 Nelder, 1983) 对这些情况而言, 偏离状态的分析 (一般的变异分析) 被用来分析有存活试管苗的百分率 (PCHT) 和每个试管里有存活试管苗的平均数 (NPHT)。残数的分析显示对于6、8和10周数据的每一个而言, 残数误差可能是集中的。因此, 用下面变量来源进行综合分析: 时间 (培养时期)、BA、NAA、时间×BA、时间×NAA 被用作误差项。采用生态和泊松分布来分别分析 PCHT 和 NPHT, 因为处理的数据标准误 (SE) 不是恒量, 用最大和最小 SEs 作为指标来说明结果。对每个品种都做了单独分析, 用 Genstat (1987) 做了所有的统计学分析。

对于一个处理, 随着用繁殖率 (R) 的试验测定, 如上述继代培养, 可以靠计算一组 R 一直来获得每个单位时间所产生的试管苗总数 (N), 例如: 对一个经6周的处理, 如果 R=2, 超过一个24周时间, N 将是2⁴。大约一年的试验期 (为了比较选择一年作为一个时间段) 计算 N 来比较6、8和10周处理。对于6、8和10周处理来说, R₆、R₈和 R₁₀是试验繁殖率, 因此就可计算 R₆²、R₈²和 R₁₀², 尽管它们代表了不同时间 (48、48 和 50 周) 现已确定, 当与一年相比较时, 2 周误差可能被忽视。SEM 是 R_i 的标准误差, 计算 (R_i±SEM)² 可评价试验变异性对这些数值的影响。

结果。变异分析的结果表明, 对所有品种 NPHT 而言, 培养时间是极显著的。BA 对 PCHT 和 NPHT 两者也有显著的影响 (表 I)。此外, NAA 对品种 champlain John Franklin 和 John Paul I 的 NPHT 及对品种 champlain、Landora 和 John Paul I 的 NPHT 有显著影响。对 John Paul I 来说, BA 和 NAA 交互作用在统计上是显著的。对 NPHT 而言, 品种 champlain、Landora 和 John Paul I 的时间与 BA 的交互作用也是显著的。当 BA 处于零水平时表 II champlain 的幼苗材料有所减少。对 ‘Landora’、‘John Paul I’、‘champlain’ 而言, BA 从 0~0.5 (10⁻⁶) PCHT 没有升高。所有 4 个品种在较高水平 (5 和 10 (10⁻⁶) 的 BA) 对 PCHT 有下降倾向。在品种 ‘champlain’ 中 (表 II) 高水平的 NAA (1 (10⁻⁶)) 明显地降低了 PCHT。当 ‘Landora’ 和 ‘John Franklin’ 在低水平 (不是零水平) 也减少了反应的同时, 除有效点外, ‘John Paul I’ 在高水平时也有所减少。

几个品种因 BA 产生的繁殖率是不同的。在 6 周时, 为了达到 3.1 最适繁殖率, ‘champlain’ 需要 0.5 (10⁻⁶) BA, 而为了达到相同的结果, ‘Franklin’ 则

需要 5~10 倍 BA 的量 (图 1), 在对照中, 为了获得 2.5 个子植株的最高繁殖率, 'John paul I' 需要 5 (10^{-6}) BA, 而为了获得 1.7 个子植株的增殖, 'Landora' 需要多达 10 (10^{-6}) BA。8 周时对所有品种而言, 最大繁殖率是可比较的, 而对每一个品种而言, 为了达到相似的繁殖率就需要不同浓度的 BA。例如 'John paul' 为了达到最大增殖 (接近 3) 则 BA 为 0.5 (10^{-6}), 再增加 BA 也不会提高繁殖率。当 BA 为 2.5 (10^{-6}) 时, 'Landora' 和 'Champlain' 可达到最高繁殖率。BA 为 5 (10^{-6}) 时 'John Franklin' 达到最高繁殖率, 而在 10 (10^{-6}) 时繁殖率急剧下降。BA 为 5 (10^{-6}), 品种 'champlain, John Franklin' 和 'John Paul I' 在 10 周时可得到最适繁殖率分别为 3.6、3.8 和 3.3, 而为了达到增殖 3.1 个子植株 'Landora' 需要 BA10 (10^{-6})

对于 NAA 对嫩枝增殖的影响在被测试的月季品种中是有变化的。对于每个品种, 时间×NAA 的交互作用是不显著的 (表 1), 因此在 6、8 和 10 周时有一个总的倾向。对品种 John Paul I 而言, NAA 为 0~0.1 (10^{-6}), 培养时间为 6、8 和 10 周, 这种植物生长调节剂似乎并没有对繁殖率产生影响, 而 NAA 为 0.1~1.0 (10^{-6}), 培养时间为 8 和 10 周, 则观察到繁殖率急剧下降。在 10 周时, 0.01 (10^{-6}) NAA 明显地减少了 'Landora' 的增殖率, 与其它时间相比则没有减少。

对品种 John Paul I, 要归纳 BA 与 NAA 有效的交互作用是比较困难的 (表 III 和 IV)。

根据表 IV 看, 至少要有有些 BA, 才能使 NAA 对 NPHT 产生影响。当 NAA 为 1 (10^{-6}) 时, 就所有水平的 BA 而言, NPHT 已经明显下降。因此, 在图 (略) 中如果去掉 BA 的零水平再计算平均繁殖率, 这些繁殖率将会是很高的, 并且在每个继代培养中, 繁殖率间的差异将会很大。尽管对其它品种, BA×NAA 的交互作用模型所产生的 NPHT 是不显著的, 但却是相似的。因此在图 1 (略) 和图 2 (略) 中对所有的品种都要仔细分析。

继代培养时间的长短可能对繁殖率有较大的影响。就 6、8 和 10 周增殖期而言, 在 52 周时间内可能分别有 8、6 和 5 次继代培养, 对于培养时间, 通过比较增殖期就能发现最适繁殖率。结合 PCHT 和 NPHT 来计算所预计的每个处理子植株总数, 'champlain' 和 'John Paul I' 6 周的培养时间比 8 和 10 周的培养时间可有效地产生更多的子植株。'Candora' 8 周的培养时间比 6 或 10 周的培养时间可较多地产生子植株, 而 'John paul I' 在 6 和 8 周的培养后就可产生大约相同

数量的子植株 (表 V)。

表 IV 几个培养时间平均后, NAA 和 BA 对 John Paul I 每个有存活植株平均数影响

NAA (10^{-6})					
BA (10^{-6})	0.0	0.005	0.01	0.1	1.0
0.0	1.0	1.1	1.1	1.0	1.0
0.5	3.6	2.2	2.0	2.1	1.1
2.5	2.8	3.0	2.8	2.5	1.3
5.0	3.1	3.2	3.4	3.1	1.7
10.0	2.7	3.5	2.7	3.1	1.9
SE*0.1, 0.4					

a. 精确的表格值做为指标, 据泊松分布得出最大和最小标准误差

表 V 据最高的平均值 6、8 和 10 周培养在 52 周内潜在的子植株数量

品种	6 周	8 周	10 周
champlain	8662 ^b 3800c—18282 ^d	412 (201~782)	543 (325~867)
John Franklin	9002 (5142~15193)	413 (261~633)	555 (397~761)
John Paul I	896 (433~1711)	931 (594~1416)	327 (227~459)
Landora	45 (20~94)	602 (390~903)	170 (116~244)

- a. 考虑到增殖株死亡的可能性
- b. R^2 、 R 最高的平均数, 并且 $J=8、6$ 或 5 , 培养时间分别为 6、8 和 10 周 (参考材料和方法)
- c. $(R-SEM)^2$
- d. $(R+SEM)^2$

讨论。BA 和 NAA 对被测试的品种子植株发育有影响 (表 1)。BA 对增加每个试验单位的 PCHT 和 NPHT 有显著的影响, 这也许与 BA 影响幼苗的许多新陈代谢过程有关 (Kulaeva, 1980)。已知 NAA 也影响幼苗的新陈代谢, 获得了类似的结果 (Leopold, 1955; Konczak 和 Rodeva, 1987; Church 和 Galston, 1988 和 Vazquez—Flota 等, 1989)。这种植物生长调节剂对 'Landora' 的 PCHT 和 'John Franklin' 的影响不显著, 也许是由于这些月季的基因型所致。在每个继代培养中, 当 BA 为 5 (10^{-6}) 和 NAA 为 1 (10^{-6}) 处理时 (75%、75% 和 83% 平均 77%) 'John Paul I' 的 PCHT 有效的 BA×NAA 的交互作用主要地是由于不规则的低成活率所造成。在 BA 为零时 'Champlain' 幼苗材料大量减少, 'Landora' 和 'John Franklin' 幼苗材料也有所减少, 而在 BA 高水平时 'John Franklin' 幼苗材料也有所减少, 这似乎是由于加强了 BA 的生

物化学力 (Kulaeva, 1980) (表 I)。尽管在这些试验中没有观察到玻璃化现象, 'chiarotti' 和 Antorelli (1988) 而其它的研究者在不同的种类中却发现了高水平的 BA 可以引起子植株玻璃化现象。这应该注意避免。

研究结果表明, 为了获得更多的子植株繁殖率, 在 6 周时间 'Champlain' 和 'John Franklin' 需要不同水平的 BA。而在相同时间内, 高水平的 BA 却使得 'John Paul I' 和 'Landora' 反应不佳 (图 1 略)。Khosh-Khui 和 Sink (1982) 也发现了同样的问题。他们报道过植物生长调节剂的繁殖率的变化, 不仅对两个杂交品种 'Tropicana' 和 'Bridal Pink' 是如此, 而且两个原始材料 R. canina 和 R. damascena 也是这样。

在理想的增殖产生并且不受 BA 浓度支配之前, 某个种类的月季最初至少需要较长的培养时期。特别明显的是 'Landora' 在 8 和 10 周时比 6 周可产生更多的子植株 (图 1, 表 V)。Hasegawa (1979) (也报道了从刚移植的 'Improved Blaze' 材料中要达到 3 倍的繁殖需要 8 周时间。另外 Davies (1980) 报道对不同的杂种茶香和丰花月季, 每 4 周可产生 3~5 倍的繁殖率。

NAA 对繁殖率的影响似乎由品种而定。对 'John Franklin' 在 6 和 8 周时, 加入 $0.005 (10^{-6})$ NAA 可增加嫩枝的繁殖, 正如 short 和 Roberts (1991) 所报道的那样。在观察繁殖率增加之前, 6 周时 'Champlain' 需要 $0.1 (10^{-6})$ NAA, 这个生长素水平被 Skirvin 等 (1984) 报道过。对 'champlain' 和 'John Paul I' 应避免使用高于 $0.1 (10^{-6})$ 的 NAA 浓度, 因为嫩枝的数量会大量减少, 而对 'Landora' 品种 NAA 则不能用 (图 2 略)。Davies (1980) 报道两个品种之间, NAA 需要量可能仅有很少的差异。可是这个研究表明, 对每个品种都要确定培养基中 NAA 的浓度, 其它一些因素象 MS 或其它培养基中矿物元素的含量也会影响所使用的细胞分裂素的类型和浓度而产生的效果。在我们试验室中许多其它的耐寒月季对所给定的时间处理没有反应。根据这个研究结果, 对被测试的月季品种或培养时间要确定 BA 和 NAA 的水平是不可能的。因此为了获得更多的子植株, 对每一个品种都要研究生长调节剂, 培养时间或组成培养基的矿物元素。(新疆石河子蔬菜研究所)

~~~~~

这样可以促进半接成苗接口的愈合。一般 3 月份可把半成苗栽植到苗圃地上培育。

**五、其他事项:** 根枝嫁接适用于梨、山楂、苹果、柿、李、桃、梅等仁果类和核果类果树的繁殖, 也适用于油茶、漆树、乌桕等经济林木的繁殖。根枝嫁接苗栽植于圃地时必须小心操作, 以防止接口损伤。栽植后 50 天左右必须解除绑带, 以免影响其生长。采用集约管理措施, 半接成苗当年冬季或翌春可出圃定植。

## 根 枝 嫁 接 繁 殖 技 术

用果树、林木的根及其枝条嫁接繁殖苗木, 可以省去砧木培育过程, 达到多快好省的繁殖效果。其技术要点, 如下。

**一、根砧收集** 在苗木出圃或冬季深翻园地时, 收集粗度 0.3 厘米以上的根段作根砧, 按品种及其径级分别捆扎成把, 并埋于安全的湿砂坑中贮藏, 砂的湿度要保持手握成团, 抛之即散为宜。

**二、接枝采集** 在冬季结合修剪, 选择生长优良无病虫害已进入盛果期的植株, 剪取其一年生壮枝做接穗, 按品种分径级捆成小把, 用贮藏根砧方法贮藏。

**三、嫁接方法** 根枝嫁接一般于早春在室内进行。常采用以下 3 类方法进行嫁接。

1. 根砧劈接: 根砧粗度在 0.5 厘米以上, 且大于或等于接穗粗度者, 可采用劈接法。将根砧剪成 6~9 厘米长, 在其上端断面中间纵切 3 厘米深; 将接穗剪成 7 厘米长, 上端留 1~2 个芽, 在芽的两侧下端削成 3 厘米长的楔形剖面; 随即插入根砧切口, 并使两者二边或一边的形成层密接好, 最后用塑料薄膜带把接口绑扎好。根砧精度在 0.5 厘米以下, 且小于接穗粗度者, 可采用倒劈接法, 操作时上法中的根砧与接穗位置互换即可。

2. 贴枝装根: 根砧的粗度比接枝小且相差悬殊者, 可采用贴枝装根法。接穗上端留 1~2 个芽, 在芽的下端削 1~2 个 3 厘米长的剖面, 深至形成层; 把根砧上端一边削一个与接穗剖面等长的剖面, 深度可在形成层至髓心之间, 末端削成舌状; 接穗每个剖面贴合一枚砧根, 最后用塑料薄膜带把接口绑扎好。

3. 袋形装根: 接穗较粗大且皮层易松弛, 而根砧较小者, 可采用袋形装根法。接穗上端留 1~2 个芽, 下端削成单斜面; 根砧上端削成单斜面, 或用袋接削穗的四刀法削好; 捏开接穗下口末端皮层, 把根砧剖面插进其韧皮部与木质部之间 (单斜面向木质部, 四刀法削面向韧皮部), 如果皮层裂开, 要用塑料膜带包扎好。

**四、接口促愈:** 接好的半接成苗要尽快置于塑料薄膜拱棚内的湿砂坑中贮藏, 以促进其接口的愈合。应把半接成苗按品种及其径级分别捆成把, 直立排列于坑口, 盖湿砂稍没穗顶为宜。要通过喷水和拱膜的开闭来调节棚内气温在  $15 \sim 25^{\circ}\text{C}$  之间, 相对湿度在 95% 左右,