

# 月季“圣斯威辛”的快速繁殖技术研究

徐玲玲<sup>1</sup>, 党悦方<sup>1</sup>, 陶贵荣<sup>1</sup>, 裴昕<sup>2</sup>, 郭斌<sup>3</sup>

(1. 西安文理学院 生物技术学院, 陕西 西安 710065; 2. 西安芳田玫瑰农业科技有限公司, 陕西 西安 710061;

3. 西北大学 生命科学学院, 西部资源生物与现代生物技术教育部重点实验室, 陕西 西安 710069)

**摘要:**以“圣斯威辛”(Rosa 'St. Stwithum')月季带腋芽的节为外植体,研究了“圣斯威辛”月季不定芽试管生根的最佳条件。结果表明:0.05 mg/L NAA 和 3 mg/L 6-BA 的 MS 培养基中月季不定芽的诱导频率和平均每个外植体上的芽数最多,分别为 95.7% 和 8.4 个。将生长至 3 cm 的不定芽转移到生根培养基上诱导根的形成,无激素处理的月季组培养苗的平均每个不定芽生根数为 6.3 条,根诱导频率 92%,平均根长为 3.7 cm。该结果与添加低浓度的 IBA(0.2 mg/L)对根的诱导效果没有显著性差异。高浓度的 NAA 和 IBA 诱导出大量的愈伤组织,不定根的数量显著减少。将生根的月季试管苗移栽到温室中,移栽成活率达到 92%。

**关键词:**“圣斯威辛”月季;组织培养;不定芽;NAA;IBA

**中图分类号:**S 685.12 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)12-0097-03

月季属蔷薇科蔷薇属(Rosa)多年生木本植物,别名长春花、月月红、半雪红、瘦客<sup>[1]</sup>,原产北半球,几乎遍及亚、欧两大洲。中国是月季的原产地之一,早在 200 a 前传至国外,经欧美园艺学家长期杂交选育,现代月季已发展到 2 万个品种,在国际贸易中占有重要地位。月季是中国十大名花之一,被誉为“花中皇后”,具有极高的观赏价值和商业价值。月季具有花色多、花期长、枝叶繁茂、抗寒、抗旱、适应性强、管理容易等特点,是园林绿化和鲜花市场上十分重要的材料,商业价值较高<sup>[2]</sup>。目前世界各地栽培的月季,大多以中国月季为亲本,经长期不断地选育和反复杂交而成,部分杂交后代存在观赏价值高,但种子萌发率低的现象<sup>[3]</sup>。月季在绿化中的地位很高,既可以集中成景,也可点缀于园林小品周围营造良好的休憩氛围,丰花类月季更可以直接制作色带与色块<sup>[4]</sup>。月季品种之多,色彩之繁,花期之长,应用之广,是其它众多花木难以比拟的。加上月季耐寒,适应性强,地栽、盆栽皆宜,故世界各地广泛种植,成为园林建设的主要品种。

但是,月季长期的常规扦插繁殖会引起种质退化、

病毒浸染等问题<sup>[5]</sup>。组织培养是一门生物技术,应用范围和领域极其广泛,如良种快繁、茎尖培养、脱病毒植物育种、种质资源保存、培育人工种子、次生代谢产物的生产、遗传学、分子生物学和病理学研究等<sup>[6]</sup>。近年来,该技术已在苗木的繁殖上得到了广泛的应用,尤其在园林植物上的应用更为广泛,取得了另人瞩目的成就,并为人们展示了无限广阔的前景。采用植物组织培养技术进行扩大繁殖,已是目前良种繁育的有效途径<sup>[7-8]</sup>。

“圣斯威辛”月季(Rosa 'St. Stwithum')是最好的英国攀缘月季之一,大花,浅粉色,杯形花朵,褶边,生长有活力,抗病性非常好。因其强香,多季节重复开花等特点成为园艺建设中的宠儿。至今,还没有关于“圣斯威辛”月季人工快速繁殖的报道。为了能够在短期内获得大量的“圣斯威辛”种苗,该试验在前期工作基础上旨在研究“圣斯威辛”月季不定芽试管生根的最佳工艺条件,重点研究不同的植物生长素对圣斯威辛月季不定芽生根的影响,以期为该品种在我国人工快速繁殖的建立提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试“圣斯威辛”月季的嫩枝由西安曲江玫瑰庄园提供。

### 1.2 试验方法

1.2.1 外植体的准备 将月季的枝条剪去叶柄,先整段用试管刷蘸浓洗衣粉刷洗,再用自来水冲洗,滤纸擦干,然后把枝条短截成 2~3 cm 小段,每段带 1~2 个侧芽。先用 70% 酒精浸泡 1 min,再用无菌水冲洗 2~3 次,再置于 0.1% 升汞溶液中不断摇动,灭菌 10 min,无菌水冲洗 8~10 次,用无菌吸水纸吸干后备用。

**第一作者简介:**徐玲玲(1981-),女,山东烟台人,博士,讲师,现主要从事植物与微生物的教学与科研工作。E-mail:missilexll@163.com.

**责任作者:**郭斌(1975-),男,陕西华县人,博士,讲师,现主要从事植物生理学的教学与科研工作。E-mail:guobin@nwwu.edu.cn.

**基金项目:**国家自然科学基金资助项目(31000144);陕西省自然科学基金基础研究计划资助项目(2012JQ3017);西安市科技计划资助项目(NC1206(3));陕西省教育厅基金资助项目(12JK0846)。

**收稿日期:**2013-01-15

1.2.2 不定芽的繁殖 将灭过菌的枝条放置到含有 NAA(0、0.01、0.05、0.25、1.25 mg/L)与 6-BA(0、1、2、3、4 mg/L)两两组合的 MS 的培养基中培养,诱导不定芽的形成。培养温度为(25±3)℃,光周期 16 h/d,光照强度 3 000 lx。45 d 后,统计新生不定芽诱导频率和新生芽的平均数量。

1.2.3 生根诱导 将生长至 3 cm 的不定芽切割下来,转接到含有 IBA(0、0.2、1、2 mg/L)或者 NAA(0.2、1、2 mg/L)的 1/2MS 培养基中。培养温度为(25±3)℃,光周期 16 h/d,光照强度 3 000 lx。45 d 后统计新生根的平均数量、新生根的平均根长,观察愈伤组织的形成情况。

1.2.4 月季生根苗移栽 培养 45 d 后将生根情况较好的月季组培苗从培养基中取出,用自来水慢慢将根部冲洗干净,移栽到装有营养土(草炭:珍珠岩:蛭石=2:2:1)的营养钵中,然后移栽到温室中培养。第 1 周湿度为 80%,以后湿度保持在 40%~60%,45 d 后统计移栽成活率。

### 1.3 数据分析

所有的试验采取随机取样进行并重复 3 次。利用 SPSS 13.0 软件(Statistical Package for the Social Sciences)在  $P<0.05$  水平上对数据进行单因素方差分析和邓肯多重范围检验。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同激素处理对月季不定芽诱导的影响

从表 1 可以看出,不同激素组合对月季不定芽的诱导效果有显著差异。最合适的组合是 0.05 mg/L 的 NAA 结合 3 mg/L 的 6-BA,在这个激素组合下,月季不定芽的诱导频率达到 95.7%,每个外植体上的芽数达到 8.4 个(表 1,图 1A)。增大 NAA 的使用剂量,对不定芽的诱导频率影响不是很明显,但是对每个外植体上的芽数有显著的影响,而且愈伤组织也大量形成。

### 2.2 不同激素处理对月季组培苗生根的影响

接种 5~7 d 开始长出新根,经 45 d 培养后,各种培养基对生根的影响差异明显(表 2)。添加了 0.2 mg/L IBA 和无激素培养基中的不定芽生根情况最好,二者处理每个接种的不定芽上根的诱导频率分别达到 93%和 92%,平均每个不定芽上形成的根数分别为 6.2 和 6.3 条,根长平均分别为 3.6 和 3.7 cm,基本无愈伤组织的形成(表 2,图 1B);统计分析表明,添加 0.2 mg/L IBA 和无激素培养基中根的诱导(诱导频率、根数和根长)没有显著差异。在添加 0.2 mg/L NAA 的培养基中根的诱导频率、根数和根长显著降低,而且有少量的愈伤组织的形成。当加大 IBA 和 NAA 的剂量时,愈伤组织的形成量增加,但是根的诱导效率显著降低。

### 2.3 月季生根苗移栽后的长势

月季生根苗移栽 45 d 后成活率达到 92%,移栽后植株长势良好,移栽后生长 4 个月开始开花(图 1C、D)。

表 1 不同激素处理对月季不定芽诱导的影响

Table 1 Effects of different hormone treatments on induction of adventitious buds of *Rosa* 'St. Stwithum'

NAA /mg·L <sup>-1</sup>	6-BA /mg·L <sup>-1</sup>	不定芽诱导频率 /%	每个外植体上新生芽的 平均数量/个
0	0	0±0f	0±0
	1	52.2±6.5d	1.0±0.3e
	2	74.1±9.8bc	2.5±1.0d
	3	86.3±8.1ab	2.2±0.9de
	4	77.3±8.9bc	2.6±0.8d
0.01	0	8.2±0.6ed	1.3±0.2
	1	78.2±7.3bc	3.5±0.3d
	2	90.1±9.5a	6.2±0.4c
	3	93.6±8.9a	7.0±0.8bc
	4	81.4±9.2b	5.8±0.6cd
0.05	0	15.2±1.2e	1.4±0.1
	1	83.2±8.2ab	3.6±0.4cd
	2	92.6±11.2a	6.3±0.5b
	3	95.7±10.1a	8.4±0.8a
	4	79.6±8.5b	5.6±0.7bc
0.25	0	12.3±2.2e	1.2±0.1
	1	64.2±5.3cd	2.5±0.3de
	2	79.1±8.5b	4.2±0.6d
	3	82.5±8.2ab	5.4±0.7cd
	4	70.3±8.0c	3.1±0.1e
1.25	0	10.4±2.1ef	1.2±0.1
	1	53.2±6.1d	2.2±0.1e
	2	75.4±8.2bc	2.4±0.2de
	3	82.6±6.7ab	3.8±0.4de
	4	68.8±5.9c	3.5±0.3e

注:不同的字母表示差异的显著性( $P<0.05$ )。下同。

表 2 不同激素处理对月季不定芽生根的影响

Table 2 Effects of different hormone treatments on rooting of *Rosa* 'St. Stwithum'

IBA /mg·L <sup>-1</sup>	NAA /mg·L <sup>-1</sup>	根平均诱导 频率/%	平均每个不定 芽生根数/条	平均根长 /cm	愈伤组织的 生长情况
0	0	92±10.3a	6.3±0.2a	3.7±0.4a	无
0.2	0	93±9.6a	6.2±0.7a	3.6±0.5a	无
1	0	78±8.5b	3.0±0.5b	2.1±0.2b	少量
2	0	32±4.6c	2.3±0.3bc	1.2±0.1c	大量
0	0.2	65±7.2bc	2.8±0.4bc	2.3±0.2b	少量
0	1	36±6.1c	2.0±0.4c	1.4±0.1c	大量
0	2	22±3.3d	0.6±0.1d	0.6±0.1d	大量

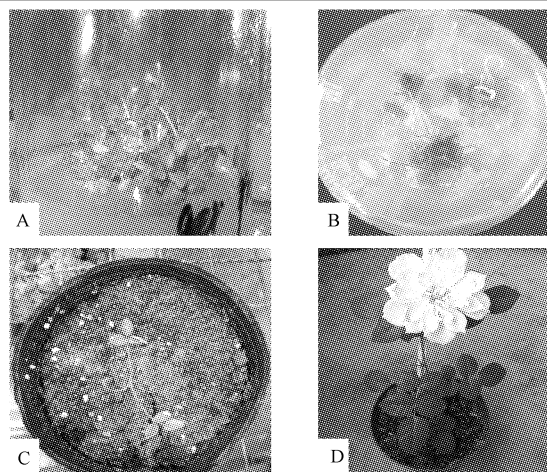


图 1 月季不定芽的生根及移栽后情况

注:A:月季的不定芽;B:月季不定芽的生根;C:月季组培苗的移栽;D:月季组培苗移栽后生长 4 个月开花。

Fig. 1 Rooting of adventitious buds and growth situation after transplanting of *Rosa*

### 3 结论与讨论

对于月季的组织培养研究已有不少报道<sup>[9-10]</sup>,但对“圣斯威辛”月季的快速繁殖还鲜见报道,因此,该试验研究了不同激素对该月季不定芽诱导的影响,结果表明最合适的组合是 0.05 mg/L 的 NAA 结合 3 mg/L 的 6-BA,在这个激素组合下,月季不定芽的诱导频率达到 95.7%,每个外植体上的芽数达到 8.4 个。6-BA 是在植物组织培养中经常使用的诱导不定芽发生的细胞分裂素,在进行新疆雪莲<sup>[11]</sup>、番茄、红景天等植物的组织培养中也用到。在“圣斯威辛”月季的快速繁殖过程中发现,6-BA 的使用剂量最合适的是 3 mg/L,相对比其它植物组织培养中的使用剂量要高<sup>[3-4]</sup>,这可能是由于不同物种之间的差异引起的。

该研究还对“圣斯威辛”月季的试管苗生根进行了研究,结果表明添加了 0.2 mg/L IBA 和无激素培养基中的不定芽的诱导效率最好。IBA 和 NAA 是试管苗生根过程中普遍使用的植物生长素,在低浓度下诱导不定根的形成,但是使用浓度较高时则抑制不定根的形成而诱导愈伤组织的产生<sup>[11]</sup>。在试验中也观察到了同样的现象。以 0.2 mg/L IBA 或 NAA 诱导“圣斯威辛”月季试管苗生根较好,浓度过高导致大量的愈伤组织形成。在该试验中也观察到即使有新形成的不定根,但是在以后生长过程中新形成的不定根失去了根的形态而形成愈伤组织,这是因为较高的生长素导致了幼嫩器官脱分化。

试验还发现,不添加任何激素的 1/2MS 培养基生

长的不定芽,根的诱导诱导频率、根数和根长以及其后的生长情况和添加了 0.2 mg/L IBA 的培养基中的根的诱导情况没有显著的差别。这是和其它品种月季试管苗生根不一样的地方,这可能是因为不同月季植株内源激素不平衡的原因,导致其不定芽生根的情况有所差异。建议对“圣斯威辛”月季的试管苗的生根采用无激素的 1/2MS 培养基进行。

### 参考文献

- [1] 苏丽萍. 植物生长调节剂对月季扦插生根的影响[J]. 江西农业学报, 2006, 18(3): 106-108.
- [2] 刘会超, 郭丽娟, 贾文庆. 月季组织培养研究进展[J]. 河南科技学院学报(自然科学版), 2007, 35(3): 35-47.
- [3] 周庆华, 杨桂杰, 孙海龙. 月季组织培养技术研究[J]. 现代化农业, 2011(2): 23-25.
- [4] 李进, 阮颖, 刘春林, 等. 月季组织培养和遗传转化体系的研究进展[J]. 西北植物学报, 2007, 27(7): 1479-1483.
- [5] 宋丽莎, 黎轶凌, 黄希莲, 等. 微型月季组织培养技术的研究[J]. 农技服务, 2010, 27(7): 925-926.
- [6] 马成亮. 月季的系统分类研究[J]. 潍坊学院学报, 2002, 2(4): 8-10.
- [7] 何松林, 朱道圩, 任凝辉, 等. 切花月季‘萨蔓莎’组织培养微繁殖的研究[J]. 华北农学报, 1996, 11(3): 117-120.
- [8] 刘香芬. 月季的栽培[J]. 中国林副特产, 2004(4): 10-12.
- [9] 任桂芳, 王建红, 冯慧, 等. 现代月季(*Rosa hybrida*)叶片植株再生体系的建立[J]. 园艺学报, 2004, 31(4): 533-536.
- [10] 孙坚红, 钱丽华. 盆栽微型月季离体培养繁殖技术探讨[J]. 杭州农业科学, 2004(1): 10-11.
- [11] Guo B, Gao M, Liu C Z. *In vitro* propagation of an endangered medicinal plant *Saussurea involucrata* Kar. et Kir[J]. Plant Cell Rep, 2007, 26: 261-265.

## Study on the Rapid Propagation of *Rosa* ‘St. Stwithum’

XU Ling-ling<sup>1</sup>, DANG Yue-fang<sup>1</sup>, TAO Gui-rong<sup>1</sup>, PEI Xin<sup>2</sup>, GUO Bin<sup>3</sup>

(1. School of Biotechnology, Xi'an University of Arts and Science, Xi'an, Shaanxi 710065; 2. Xi'an Fangtian Rose Agricultural Science and Technology Co., Ltd., Xi'an, Shaanxi 710061; 3. Key Laboratory of Resource Biology and Biotechnology in Western China, School of Life Science, Northwest University, Xi'an, Shaanxi 710069)

**Abstract:** Taking the axillary buds of *Rosa* ‘St. Stwithum’ as explants, an efficient micropropagation system for *Rosa* ‘St. Stwithum’ were studied. The results showed that 95.7% adventitious buds induction frequency and 8.4 buds per explant were achieved when cultured on MS media containing 0.05 mg/L NAA and 3 mg/L 6-BA. After transferred the adventitious buds, which length had grown to 3 cm, to rooting media, root organogenesis occurred. The control without any exogenous auxins treatment, which average roots number per stem, induction frequency and the average roots' length were 6.3 roots, 92% and 3.7 cm, respectively, had no significant differences with 0.2 mg/L IBA treatments. High concentrations of NAA and IBA treatments induced a lot of callus, and significantly decreased adventitious roots. 92% of the regenerated plantlets survived and grew vigorously in greenhouse condition.

**Key words:** *Rosa* ‘St. Stwithum’; tissue culture; adventitious bud; NAA; IBA