



王镭,张英杰,张京伟,等.月季组培快繁技术研究进展[J].黑龙江农业科学,2019(6):179-182.

月季组培快繁技术研究进展

王 镭^{1,2},张英杰¹,张京伟¹,刘学庆¹,任倩倩^{1,2},宋一岚^{1,2},孙纪霞¹

(1.山东省烟台市农业科学研究院,山东 烟台 265500;2.烟台大学 生命科学学院,山东 烟台 264005)

摘要:为降低月季生产成本,提高生产速度与产品质量,促进研究与生产相结合。本文介绍了月季组培快繁技术的研究概况,着重阐述了外植体选择与消毒、培养基和激素及移栽基质的选择、月季无菌播种、褐变与玻璃化产生原因及预防等内容,并对月季组培快繁技术的研究与开发进行了初步探讨。

关键词:月季;组培快繁;研究进展

月季(*Rosa chinensis*)是原产于我国的著名花卉,为我国十大名花之一,也是世界上种植规模最大的花卉种类。月季在我国分布广泛,是重要的乡土植物。在我国各个城市中,将月季定为市花的城市已有 57 个,远远超过其他任何花卉种类。月季被誉为花中皇后,是蔷薇科蔷薇属常绿半常绿矮灌木。月季的株型多样、花色丰富、花期长,在插花领域、园林美化、家庭装饰、盆栽等具有重要地位^[1]。

目前我国月季繁殖技术比较落后,以扦插和嫁接为主,这些方法限制了月季繁殖的速度,不能满足市场需求。对于月季繁殖而言,月季组织培养快繁技术是最简单、便捷、快速的方法,月季组培快繁相比传统方法拥有诸多优点。本文概括近年来月季组培快繁技术的研究情况,包括外植体选择与消毒、培养基和激素及移栽基质的选择、褐变与玻璃化的控制方法等,对现阶段存在的问题进行了讨论并提出展望,旨在为进一步研究提供参考。

1 外植体选择与消毒

外植体的选择是植物组培的重要影响因素之一。一般来说,根、茎、叶等都可以被选择来作为植物外植体。月季组培所用的外植体基本都是带芽的茎段,而不同年限的茎段,同一茎段不同部位的组培效果都不相同。这与外植体茎段内部储存的营养多少,腋芽成熟程度及其休眠程度等因素

有关。根据前人研究,月季组培外植体取当年生带腋芽的茎段中部效果最好。根据陈兰芬^[2]的研究,微型月季的外植体取材部位效果最好的是半木质化的茎段中部。大部分研究表明,月季组培所用外植体选择茎段中部腋芽萌发都要比茎段基部和顶部要时间早,并且腋芽的长势更好,增值系数更高,其次是基部,最后是顶部^[3-4]。除了茎段作为外植体以外,也有人用月季叶片作为组培外植体^[5-7],但效果都不如茎段。因此,采取带腋芽茎段中部作为月季组培外植体效果最好。

外植体的消毒灭菌方法很多,其目的都是为了得到无菌外植体。外植体消毒所用的溶剂基本相同,都是先用 70%或 75%酒精处理,再用 0.1%的氯化汞浸泡消毒,只是处理时间上有所差别。要根据所选的月季品种来决定外植体消毒处理时间,刘小夫^[7]研究结果表明,丰花月季 YJ2004-2、YJ2004-3、YJ2004-5、YJ2004-6 和 YJ2004-8 这 5 个品系在 70%酒精处理 1 min 后,再用 0.1%的氯化汞处理 5 min 可以达到最好的效果。在李坤峰等^[8]的研究中表明,月季 Vendela 外植体最佳消毒处理方式是,首先需要用洗洁精溶液浸泡 30 min,然后用 75%的酒精处理 40 s,最后用 0.1%的氯化汞消毒处理 10 min 可以达到最好的效果,与 Bao 等^[9]研究 Samatha 采用 70%酒精处理 30 s 和 0.1%氯化汞处理 12 min 有所差异,这与研究所采用的材料,季节取材部位都要有一定的关联。月季品种卡罗拉最佳消毒组合是 75%酒精处理 30 s 结合 0.1%氯化汞处理 10 min^[10],而纯芳月季是要 70%酒精处理 30 s,然后用 0.1%氯化汞和 Tween-20 浸泡处理 15 min^[11]。前人的研究都是消毒处理时间上的差别,氯化汞溶液对组培外植体具有杀伤性作用,消毒时间过

收稿日期:2019-01-21

基金项目:山东省 2017 年度农业重大应用技术创新项目;烟台市科技计划项目(2018NCGY056)。

第一作者简介:王镭(1995-),男,在读硕士,从事植物生理生化研究。E-mail:1572400064@qq.com。

通讯作者:孙纪霞(1974-),女,硕士,研究员,从事花卉栽培与品种选育研究。E-mail:sunjixia@yt.shandong.cn。

长,易杀死外植体细胞,产生褐变^[8],而消毒时间过短,则不易杀死细菌,污染率升高。也有外植体消毒方法完全不同于其他月季的,如新品种花仙子处理方法较为特殊,直接用 2% 的次氯酸钠溶液浸泡 10 min^[12]。因此,外植体消毒时采用 70% 或 75% 酒精处理 30~60 s,再用 0.1% 氯化汞浸泡消毒 8~15 min 效果最好。

2 培养基的选择

通常来说 B₅、White、WPM 和 MS 培养基适应于大部分木本植物,不同的外植体需要的培养基不同^[7]。月季组培基本培养基品种众多,有 B₅、White、WPM 和 MS 培养基等。根据李坤峰^[13]研究表明,用丰花月季叶片进行愈伤组织诱导时,发现 MS 培养基效果最好,其次是 B₅ 培养基,再次是 WPM 培养基,最后是 White 培养基。大量前人研究表明,月季组培培养基以 MS 培养基效果最好,生根培养基则是 1/2 MS 培养基效果最好^[14-15]。而根据闫海霞等^[10]对月季卡罗拉的研究,最适宜的培养基为 WPM,与上述有所差异,出现这种差异最可能的因素应有试验材料不同,取材时间部位不同等。因此月季组培增殖培养以 MS 培养基最佳,生根培养基则以 1/2MS 培养基最佳。

3 激素的选择

培养基中植物生长调节物质的种类和浓度对植物组培有着非常重要的作用,这些生长调节物质有生长素类、细胞分裂素类、赤霉素类、乙烯类和生长抑制素类等,这些生长调节物质进行不同的搭配和不同的浓度组合会对植物生长产生不同的影响。植物在进行组织培养时常用到的生长调节物质有 2,4-D、NAA、IBA、IAA、ABA 和 6-BA 等,一般来说,生长素浓度越高,愈伤组织的颜色也越偏向黄色,质地也越松散^[6]。植物生长调节剂可以在一定程度上直接或间接地调控植物生化过程,甚至精确到植物生化过程中的每一步发展。因此,对于植物生长调节物质的使用必须谨慎^[16]。

激素的种类、浓度和配比的不同,对外植体的萌动,增殖,壮苗与生根影响也都不同。月季组培培养基大致可以分为 3 类:启动培养基、增殖培养基和生根培养基。3 种培养基在月季组织培养过程中产生的作用效果不同,所需的最佳激素种类、浓度和配比也不同。

3.1 启动培养阶段

外植体的萌动受到启动培养基成分的影响,根据刘小夫^[7]对 5 个丰花月季品系的研究,发现 YJ2004-2、YJ2004-3、YJ2004-5 这 3 种月季品系不定芽最适合的诱导培养基为 MS+0.1 mg·L⁻¹ NAA+2.0 mg·L⁻¹ 6-BA,诱导率分别可以达到 95.56%、94.44% 和 91.33%。而 YJ2004-6、YJ2004-8 这两个月季品系最合适的诱导培养基为 MS+0.01 mg·L⁻¹ NAA+2.5 mg·L⁻¹ 6-BA,诱导率分别是 95.56% 和 92.22%。这说明不同月季品系所需要的最适宜的启动培养基有明显的区别。根据梁峥等^[17]的研究表明,微型月季的最适合诱导愈伤组织的培养基为 MS+0.1 mg·L⁻¹ NAA+2.0 mg·L⁻¹ 6-BA,这与上述中 YJ2004-2、YJ2004-3、YJ2004-5 这 3 个月季品系所需的启动培养基完全相同。但与张小雪等^[18]的 MS+1.0 mg·L⁻¹ 6-BA+0.3 mg·L⁻¹ NAA 这一诱导微型月季外植体效果最佳的研究结果有所差异。出现这种差异最有可能的原因是他们所选取的材料不同,研究时间季节不同。因此,激素 BA 对腋芽的萌发生长有着明显的促进作用^[19],激素 BA 与 NAA 混合使用可以明显提高启动培养基对组培外植体的诱导率,诱导率均在 90% 以上。

3.2 增殖培养阶段

外植体增殖培养时,受到碳含量,激素等因素的影响,还受到外界条件的影响,如光照和外源激素等。根据孙徐磊^[14]的研究表明,月季品种桃灼蓝天的最适宜增殖培养基为 MS+0.15 mg·L⁻¹ NAA+1.5 mg·L⁻¹ 6-BA,而另外一个月季品种北京火焰最适合的增殖培养基为 MS+0.15 mg·L⁻¹ NAA+2.0 mg·L⁻¹ 6-BA。这两个月季品种只是在 BA 上有所差异。钱蕾^[20]的研究表明,不定芽最适宜的增殖培养基为 MS+0.1 mg·L⁻¹ NAA+2.0 mg·L⁻¹ 6-BA,增值系数可以达到 4.32。与上述研究有所差异,不同月季品种的外植体所需要的最适宜的培养基也是不同的。闫海霞等^[10]研究表明,BA 浓度较低时可以明显的促进外植体的增殖,浓度过高时会抑制外植体增殖,NAA 浓度适宜时,可以有效地促进芽和叶的生长,但浓度过高则不适合侧芽的生长。李坤峰^[13]的研究表明,BA 浓度过高,易使芽产生玻璃化,NAA 浓度高于 0.1 mg·L⁻¹ 时,容易促进愈伤组织形成,不利于芽的生长。因此,BA 浓度在 0.5~1.5 mg·L⁻¹ 较为合适,过高则容易抑制芽的增殖。

外植体增殖还受到外界环境条件的影响。杨

伟新^[21]的研究认为,外源赤霉素可以促进外植体增殖,杨伟新的研究中,分别以 0,50,100,200 mg·L⁻¹ 的外源赤霉素处理月季组培苗,发现采用外源赤霉素浓度为 200 mg·L⁻¹ 时,组培苗增殖达到最大。在吕永平等^[22]的研究中发现,在 LED RB 是 3:1 处理时,月季外植体的增殖数量要明显高于荧光灯、LED 白光和 LED RB 为 2:1 处理。并且在外植体整齐度上 LED 红蓝混合光质处理要明显优于荧光灯和 LED 白光处理。所以说 LED 混合光质要比荧光灯更具有优势。于非等^[23]的研究表明,月季品种黑魔术和蜜桃雪山在弱光(不开补光灯)条件下培养可以促进芽的生长。刘小夫^[7]的研究认为,光照强度在 2 000 lx 时,外植体增殖效果最好。

3.3 生根培养阶段

在月季组培过程中,生根培养是以 1/2 MS 为基础培养基,培养基里无机盐浓度是影响外植体生根的主要因素,有研究表明,用 1/4 MS 培养基,不添加任何激素也会使外植体生根。生根培养基中常用的激素是 IBA 和 NAA,有时也会用 ABT 生根粉。在李建平^[24]的研究中,以 1/2 MS 培养基再附加上不同浓度的 NAA、IAA、IBA。研究结果表明,附加 IBA 生根效果最好。孙徐翥^[14]的研究表明,月季品种桃灼蓝天和北京火焰最佳生根培养基为 1/2 MS+0.2 mg·L⁻¹ NAA。高燕等^[25]的研究中用月季茎尖为外植体,最适生根培养基为 1/2 MS+0.3 mg·L⁻¹ IBA+300 g·L⁻¹ 蔗糖+7.8 g·L⁻¹ 琼脂。也有用 WPM 为基础培养基作为生根培养基,在闫海霞等^[10]研究中,月季品种卡罗拉最合适的生根培养基为 WPM+0.3 mg·L⁻¹ IBA。

在生根培养过程中,温度也是重要影响因素。根据周庆华等^[3]的研究,在生根培养过程中,分别将外植体放入 13,17,21,25,29 ℃ 培养箱内进行生根培养。结果表明,生根培养阶段对温度的变化十分敏感,在 21 ℃ 时,生根效果最好。而在冷肖荀^[26]的研究中,以月季茎尖为外植体,生根的最适温度为 22 ℃,并且发现添加 0.3% 的活性炭是有助于生根的。

4 月季无菌播种

月季种子在人工播种情况下,以无菌播种的方式,在组培瓶中培养基里添加月季种子萌发所需要的水分和养分,使月季种子在组培瓶中萌发。在闫海霞等^[27]的研究中,将经过 4 ℃ 60 d 层积处

理的月季种子清洗干净后转移到超净工作台,然后用 75% 酒精消毒 20~30 s,然后用 0.1% 的升汞消毒 8~10 min,结果表明在 MS 培养基中添加 0.5 mg·L⁻¹ GA₃ 萌发效果最好。在林娅等^[28]的胚再生研究中,消毒方法与闫海霞等^[27]相同,而 MS 培养基中添加的激素是 0.5 mg·L⁻¹ ZT 或 4.0 mg·L⁻¹ ZT+1.0 mg·L⁻¹ NAA。出现这种差异主要原因是月季品种不同以及对月季种子处理不同。

5 移栽基质的选择

组培苗移栽之前需要先对其进行炼苗,否则,组培苗因为不适应有菌环境极易容易死亡。影响移栽成活率的因素有移栽时间,炼苗效果以及移栽基质等。夏天不适合移栽,因为夏天天气高温高湿,易烂苗。春天比较适合移栽,温度湿度都合适。刘洋等^[29]的研究表明,组培苗的健壮程度对移栽成活率有很大的影响,株高在 2.5~5.0 cm 时,成活率显著升高。此外,根长超过 2 cm 时,组培苗移栽不易成活。移栽基质对组培苗的生长状况有很大的影响,赵倩^[30]的研究表明,将品种北京炼苗后,分别移栽到硅石、珍珠岩以及硅石和珍珠岩混合的基质中,发现硅石中的组培苗生长状况最好,其次是硅石珍珠岩,最后是珍珠岩。在刘亚娟等^[11]的研究中发现,芳纯月季炼苗后移栽到泥炭与珍珠岩的比值为 4:1 的基质中,成活率最高,可达到 96%。因此,不同的月季品种最合适的移栽基质也是不同的,选择合适的移栽基质可以很大程度保证移栽成活率。

6 问题与展望

影响月季的组培快繁技术的问题有很多,主要有 3 点:外植体在启动培养过程中产生的褐变现象、外植体进瓶时造成的污染以及培养过程中产生的玻璃化现象。月季组培过程中的外植体褐变是一种酶促褐变,与外植体的多酚类物质含量相关,也与多酚氧化酶活性相关^[31]。因此,能否有效控制外植体的褐变是影响组培快繁成功的关键一步^[32]。刘小夫^[7]的研究认为,对外植体进行适当的暗处理和降低生长素,蔗糖浓度可以有效地防止褐变。李坤峰^[13]的研究表明高浓度的 BA 容易使芽产生玻璃化,因此在激素的配比上适当的调节降低 BA 的浓度,可以有效地减少玻璃化的产生。

在月季组培快繁技术的研究中,大多都是对单一月季品种进行培养基以及激素浓度配比的研

究,缺少对于组培外界环境条件的研究,以及缺少对月季无菌播种技术和对于月季组培过程中出现的褐变与玻璃化的研究。因此,需要通过更加细致与广泛的研究,并建立不同月季品种组培快繁技术科学理论体系。月季为销售量最大的花卉之一,因此要将研究与生产相结合,降低生产成本,提高生产速度与产品质量,争取月季生产可以满足市场需求。

参考文献:

- [1] 武荣花,于晓渐,王升,等.月季 F_1 代植株的组培快繁研究[J].河南农业科学,2018,47(10):108-110,142.
- [2] 陈兰芬.7个微型月季组织培养研究[J].北京农业职业学院学报,2015,29(2):35-39.
- [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] 蔺红苹,吴飞凤.丰花月季‘美神’组织培养研究[J].北方园艺,2010(5):143-145.
- [5] 赵培培,车代弟,王金刚,等.丰花月季再生体系的建立[J].东北农业大学学报,2008(6):30-32.
- [6] 林娅,郑玉梅,刘青林.影响月季愈伤组织诱导和分化的因素[J].分子植物育种,2006(2):223-227.
- [7] 刘小夫.5个丰花月季优良品系的组培快繁技术研究[D].哈尔滨:东北农业大学,2013.
- [8] 李坤峰,陈志,陈剑平,等. Vendela 月季产业化快繁体系研究[J].核农学报,2014,28(10):1790-1797.
- [9] Bao Y,Liu G,Shi X,et al. Primary and repetitive secondary somatic embryogenesis in *Rosa hybrida* ‘Samantha’ [J]. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 2012, 109 (3): 411-418.
- [10] 闫海霞,蒋月喜,黄昌艳,等.月季‘卡罗拉’的组培快繁技术[J].热带作物学报,2016,37(9):1741-1746.
- [11] 刘亚娟,杨小艳,谢树章,等.芳纯月季组培快繁技术研究[J].西南师范大学学报(自然科学版),2018,43(8):52-56.
- [12] 李晓芳,黄晓玲,张晓莹,等.抗寒月季新品种‘花仙子’快繁技术研究[C]//中国园艺学会.中国观赏园艺研究进展,2015.
- [13] 李坤峰.大花月季脱病毒苗产业化快繁体系建立研

究[D].南京:南京农业大学,2014.

- [14] 孙徐翥.郑州市部分月季品种调查分析与两个月月季品种组培快繁试验研究[D].郑州:河南农业大学,2016.
- [15] 周晓馥,杨伟新,丁雪,等.月季茎段快繁体系的优化[J].北方园艺,2014(22):98-102.
- [16] 刘芳,唐映红,袁有美,等.多肉植物劳尔的组织培养[J].植物学报,2016,51(2):251-256.
- [17] 梁峥,贾民隆,李永平,等.微型月季组培快繁关键技术研究[J].山西农业科学,2017,45(11):1751-1754,1822.
- [18] 张小雪,薛岩晟,姚振.多个品种微型月季快速繁殖体系的建立[J].长江大学学报(自科版),2018,15(2):46-49.
- [19] 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.
- [20] 钱蕾.丰花月季组织培养低成本快繁技术研究[D].哈尔滨:东北农业大学,2015.
- [21] 杨伟新.外施赤霉素对月季成花诱导的作用初探[D].四平:吉林师范大学,2016.
- [22] 吕永平,陈志,李坤峰,等.光照环境对大花月季组织培养的影响[J].浙江农业学报,2017,29(8):1297-1304.
- [23] 于非,王禹,张毓.月季组织培养快繁体系的建立[J].中国林副特产,2017(2):24-25.
- [24] 李建平.平雪山娇霞月季组培快繁及树状月季栽培改进刍议[D].北京:北京林业大学,2007.
- [25] 高燕,钟素飞,奉树成.微型月季快繁技术体系[J].浙江农业科学,2018,59(3):459-462.
- [26] 冷肖荀.月季的组织培养[J].河北林业科技,2001(6):6-7.
- [27] 闫海霞,蒋月喜,黄昌艳,等.4种处理方法对月季种子萌发的影响[J].南方农业学报,2016,47(12):2108-2112.
- [28] 林娅,刘青林.月季未成熟胚再生植株的研究[J].北京林业大学学报,2007(3):35-39.
- [29] 刘洋,陈万鹏,刘祥君.切花月季‘雪山’的离体快繁体系的建立[J].现代园艺,2017(11):18-19.
- [30] 赵倩.月季组织培养及利用 ISSR 标记进行遗传多态性分析[D].武汉:华中农业大学,2008.
- [31] 李纯佳,张颖,周宁宁,等.大花香水月季(*Rosa odorata* var. *gigantea*)茎段组织培养的抗褐化研究[J].西南农业学报,2012,25(3):1047-1050.
- [32] 郭艳,杨海玲.植物组织培养中的褐化现象及解决途径[J].山西农业科学,2009,37(7):14-16,31.

Research Progress in Tissue Culture and Rapid Propagation of *Rosa chinensis*

WANG Lei^{1,2}, ZHANG Ying-jie¹, ZHANG Jing-wei¹, LIU Xue-qing¹, REN Qian-qian^{1,2}, SONG Yi-lan^{1,2}, SUN Ji-xia¹

(1. Yantai Agricultural Science and Technology Institute, Yantai 265500, China; 2. College of Life Science, Yantai University, Yantai 264005, China)

Abstract: In order to reduce the production cost of *Rosa chinensis*, improve the production speed and product quality, and promote the combination of research and production. In this paper, the research situation of tissue culture and rapid propagation technology of *Rosa chinensis* was introduced. The selection and disinfection of explants, selection of culture medium and hormone, selection of transplanting medium, aseptic seeding of *Rosa chinensis*, causes and prevention of browning and vitrification were emphatically expounded. The research and development of tissue culture and rapid propagation technology of *Rosa chinensis* were preliminarily discussed.

Keywords: *Rosa chinensis*; tissue culture and rapid propagation; research progress