

‘红双喜’月季组培苗瓶外生根技术研究

赵春莉, 刘子平, 李金英, 姚思扬, 刘翰升

(吉林农业大学园艺学院, 长春 130118)

摘要:以‘红双喜’月季继代增殖培养三代组培苗为试验材料, 采用正交试验, 研究不同炼苗时间、扦插基质、空气湿度以及不同生根营养液对其瓶外生根的影响, 以期建立‘红双喜’月季瓶外生根繁育技术。试验结果表明: 瓶外生根最优培养条件为: 将组培苗在室内炼苗 3 d, 扦插在混有生根营养液 (1/6MS + 0.05 mg/L IBA + 0.10 mg/L NAA) 的基质中 ($V_{\text{细砂}}: V_{\text{蛭石}}: V_{\text{珍珠岩}} = 1:1:1$), 同时空气湿度保持在 90% RH, 其瓶外生根率可达 88.89%。其中影响瓶外生根率高低因素依次为扦插基质、炼苗时间、空气湿度; 在生根营养液中, 影响瓶外生根率高低的成分依次为培养基母液、IBA、NAA。

关键词:‘红双喜’月季; 组培苗; 瓶外生根

中图分类号: S685.12

文献标识码: A

文章编号: 2096-5877(2019)03-0028-05

Research on Rooting Technique of ‘Red Double Delight’ Chinese Rose Plantlets ex-vitro

ZHAO Chunli, LIU Ziping, LI Jinying, YAO Siyang, LIU Hansheng

(College of Horticulture, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China)

Abstract: The third generation of subculture seedlings of ‘Red Double Delight’ Chinese rose were used as experimental material. The orthogonal test was carried out to study effect of the refining time, the cutting matrix, the air humidity and different nutrient solution on the rooting of ‘Red Double Delight’ Chinese rose ex-vitro, in order to establish the rooting technology of ‘Red Double Delight’ Chinese rose ex-vitro. The results showed that the optimal culture conditions for the ex-vitro rooting were as follows: after the seedlings were planted indoors for 3 days, the cuttings were placed in a matrix (fine sand: Vermiculite: Perlite = 1:1:1) mixed with rooting nutrient solution (1/6 MS + 0.05 mg/L IBA + 0.10 mg/L NAA). At the same time, the air humidity was maintained at 90% RH, and the rooting rate outside the bottle could reach 88.89%. The factors affecting the ex-vitro rooting rate were according to the order: the cutting matrix > the time of refining > the air humidity. In the rooting nutrient solution, the components affecting the ex-vitro rooting rate were in such a order: medium mother liquor > IBA > NAA.

Key words: Red Double Delight Chinese rose; Plantlets; Ex-vitro rooting

‘红双喜’ (Red Double Delight) 月季为蔷薇科 (Rosaceae) 蔷薇属 (Rosa) 木本观赏花卉, 为芳香型月季之首, 具有很高的观赏价值和经济价值。因其抗性强, 被广泛地种植于全国各地, 但易受药害, 致使品质降低, 影响其价值^[1]。‘红双喜’月季常规繁殖方法繁殖系数低, 难以满足市场需求, 对其进行组织培养, 不受季节限制, 可大大提高繁育速度^[2]。组培苗能否生根移栽成活是其能否进行工厂化大规模生产的关键所在, 而瓶外生

根技术是将生根与驯化移栽相结合来缩短育苗时间及成本的一种有效措施, 较瓶内生根可节约总费用的 35%~75%^[3]。目前, 该项技术在蝴蝶兰^[4]、蓝莓^[5]、费菜^[6]、马大杂种相思^[7]等植物上已有体现, 但多数采用单因素试验进行筛选适宜条件, 鲜见多因素共同作用的相关研究。而关于月季组织培养生根阶段的研究报道, 多集中在瓶内生根^[8-9]。因此, 笔者采用正交试验设计对‘红双喜’月季组培苗瓶外生根影响因素进行研究, 旨在建立‘红双喜’月季组培苗瓶外生根繁育技术, 以期达到工厂化生产, 为其它月季品种组培苗瓶外生根的建立及优化提供参考依据。

1 材料和方法

收稿日期: 2018-12-26

基金项目: 吉林省联合重点实验室开放基金项目 (CWE18-4)

作者简介: 赵春莉 (1973-), 女, 副教授, 博士, 主要从事园林植物生物技术及资源等研究工作。

1.1 试验材料

存放于吉林农业大学园艺学院生物技术实验室内的‘红双喜’月季增殖培养三代组培苗。

1.2 试验方法

1.2.1 不同炼苗时间及扦插环境对组培苗瓶外生根的影响

采用正交试验方法,按 $L_9(3^4)$ 正交表设计3因素3水平试验(炼苗时间:3、6、9 d;扦插基质体积比具体为: $V_{\text{蛭石}}:V_{\text{细沙}}=1:1$ 、 $V_{\text{珍珠岩}}:V_{\text{细沙}}=1:1$ 、 $V_{\text{蛭石}}:V_{\text{珍珠岩}}:V_{\text{细沙}}=1:1:1$;空气湿度:50% RH、70% RH、90% RH)。选取长势一致,高3 cm左右的组培苗,在室内炼苗后将植株底部培养基用无菌水洗净斜切插入经高压灭菌的不同基质中,放入设不同湿度的智能人工气候箱中培养,每隔3 d向各营养钵喷洒水15 mL。每个处理扦插30棵苗,3次重复,30 d后统计计算生根率。

1.2.2 不同营养液对组培苗瓶外生根的影响

在1.2.1最优条件的基础上,按 $L_{16}(4^5)$ 正交表设计3因素4水平试验(培养基母液:MS、1/2MS、1/4MS、1/6MS;IBA:0、0.05、0.10、0.15 mg/L;NAA:0、0.05、0.10、0.15 mg/L),优选出最适生根营养

液。每隔3 d向各营养钵中喷洒施不同处理营养液15 mL。每个处理喷施30棵苗,3次重复,30 d后统计计算生根率。

1.2.3 培养条件

培养温度为 $(25\pm 2)^{\circ}\text{C}$,光照强度3 000~4 000 lx,光照时间14 h/d。

1.2.4 数据处理

采用SPSS 20.0进行方差分析和多重比较。

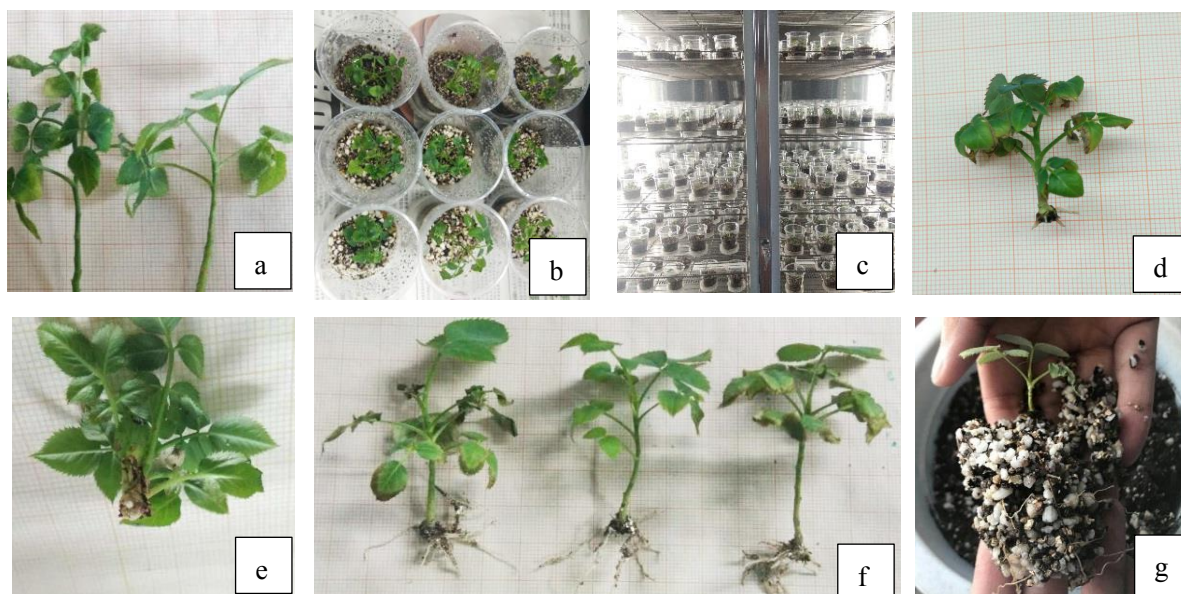
指标计算公式如下:

生根率% = 生根组培苗数/扦插组培苗总数 $\times$ 100%

2 结果与分析

2.1 不同炼苗时间及扦插环境对‘红双喜’月季组培苗瓶外生根的影响

在瓶外生根培养5~10 d时发现处理7、8陆续有老叶明显增大或新叶长出,随机抽取查看组培苗生根情况见图1-d、e。在培养20 d时,处理7瓶外生根效果如图1-f,其它处理生根效果和根系质量都比处理7差。培养30 d时根可布满整个营养钵(图1-g)。具体生根情况如表1、表2所示。



a. 继代组培苗;b. 扦插在不同基质苗;c. 人工气候箱培养苗;d、e. 培养10 d苗;f. 培养20 d苗;g. 培养30 d苗

图1 组培苗瓶外生根情况

扦插基质对生根率的影响力最大,其次为炼苗时间和空气湿度。扦插基质3水平中以 $V_{\text{细沙}}:V_{\text{蛭石}}:V_{\text{珍珠岩}}=1:1:1$ 作为生根基质生根率最高,与其它2水平差异性均显著;随炼苗时间的增加,生根率逐渐降低,3水平中以炼苗3 d效果最好,与其它2水平差异性均显著;空气湿度各水平间差异性不显著,随空气湿度的增加,组培苗生根率逐渐升

高,以90% RH生根效果最好。从而可得生根条件最优组合为 $A_3B_1C_3$,即将组培苗在室内炼苗3 d后,扦插在 $V_{\text{细沙}}:V_{\text{蛭石}}:V_{\text{珍珠岩}}=1:1:1$ 基质中,同时空气湿度保持在90% RH,生根率可达84.44%。可见该组合出现在正交表内为处理7,其次生根率较高的为处理8,生根率80%。

表 1 不同炼苗时间及扦插环境对瓶外生根的影响

处理	因素			生根率(%)
	A:扦插基质	B:炼苗时间	C:空气湿度	
1	1	1	1	71.11±5.09 c
2	1	2	2	61.11±6.94 de
3	1	3	3	68.89±7.7 cd
4	2	1	2	77.78±1.92 abc
5	2	2	3	70.00±3.33 c
6	2	3	1	55.56±5.09 e
7	3	1	3	84.44±1.93 a
8	3	2	1	80.00±3.33 ab
9	3	3	2	73.33±3.34 bc
X ₁	67.04 b	77.78 a	68.89 a	
X ₂	67.78 b	70.37 b	70.74 a	
X ₃	79.26 a	65.93 b	74.44 a	
R	12.22	11.85	5.56	
最优组合	A ₃	B ₁	C ₃	

注:X₁、X₂、X₃ 分别为各因素各水平生根率均值;R为极值;不同字母表示差异显著($p<0.05$),下同

表 2 不同炼苗时间及扦插环境对瓶外生根的影响方差分析

变异来源	平方和	自由度	均方	F 值	显著性
扦插基质(A)	845.172	2	422.586	11.629	0.000
炼苗时间(B)	645.439	2	322.719	8.881	0.002
空气湿度(C)	143.918	2	71.959	1.98	0.164
误差	726.757	20	36.338		
总计	139 844.889	27			

2.2 不同营养液对‘红双喜’月季组培苗瓶外生根的影响

结合表 3、表 4 分析可知,不同营养液中对生根率影响力起主要作用的为培养基母液和 IBA,达到显著影响,NAA 差异性虽不显著,但对生根也起到一定的作用,较不添加提高了 3.33%。由表 3 可知,A 因素中随 MS 浓度的增加,生根率随之增加,以 1/6 MS 生根效果最好;B 因素中,随

IBA 浓度的增加,生根率呈先增高后下降的趋势,以 0.05 mg/L IBA 生根率最高;C 因素中,随 NAA 浓度的升高,生根率呈先降低后升高再降低的趋势,以 0.10 mg/L NAA 生根率最高。从而可得正交试验最优组合为 A₄B₂C₃,即以 1/6 MS + 0.05 mg/L IBA + 0.10 mg/L NAA 作为生根营养液用于‘红双喜’月季瓶外生根,生根率可达 88.89%。

表 3 不同营养液对瓶外生根的影响

处理	因素			生根率(%)
	A:培养基母液	B:IBA (mg/L)	C:NAA (mg/L)	
1	1	1	1	53.33±3.34 g
2	1	2	2	60.00±3.33 ef
3	1	3	3	58.89±1.92 efg
4	1	4	4	56.67±3.34 fg
5	2	1	2	57.78±1.92 efg
6	2	2	1	78.89±5.09 bc
7	2	3	4	61.11±3.85 ef
8	2	4	3	57.78±5.09 efg
9	3	1	3	74.44±5.09 cd

续表 3

处理	因素			生根率 (%)
	A: 培养基母液	B: IBA (mg/L)	C: NAA (mg/L)	
10	3	2	4	71.11±3.85 d
11	3	3	1	61.11±1.92 ef
12	3	4	2	63.33±3.34 e
13	4	1	4	72.22±1.92 d
14	4	2	3	88.89±1.92 a
15	4	3	2	83.33±3.34 ab
16	4	4	1	73.33±3.34 cd
X ₁	57.22 c	64.44 b	66.67 a	
X ₂	63.89 b	74.72 a	66.11 a	
X ₃	67.50 b	66.11 b	70.00 a	
X ₄	79.44 a	62.78 b	65.28 a	
R	22.22	10.28	4.72	
最优组合	A ₄	B ₂	C ₃	

表 4 不同营养液对瓶外生根影响方差分析

变异来源	平方和	自由度	均方	F 值	显著性
培养基母液 (A)	3 124.652	3	1 041.551	34.326	0.000
IBA (B)	1 017.31	3	339.103	11.176	0.000
NAA (C)	154.44	3	51.480	1.697	0.184
误差	1 153.05	38	30.343		
总计	221 008.56	48			

3 讨论与结论

利用正交试验设计方法,既能完全反映试验的基本情况,又能较大幅度地缩小试验规模,减小试验花费^[10]。笔者采用此方法对不同扦插基质、炼苗时间、空气湿度以及不同生根营养液对组培苗瓶外生根技术的影响进行研究。在试验范围内以 V_{细沙}:V_{蛭石}:V_{珍珠岩}=1:1:1 作为基质,生根效果好,生根率平均值达到 79.26%。而在瓶外生根试验中,对于不同植物扦插基质也不尽相同^[11-12]。本试验以细沙、蛭石、珍珠岩按一定比例混合使用,保证其具有良好的透气性、排水性,确保不会因土壤湿度过大致使组培苗腐烂死亡。

组培苗长期处于高湿环境中,叶片发育不完整,光合能力、气孔关闭能力差,易造成失水萎蔫^[13]。适宜的炼苗时间,可以提高组培苗对外界环境的适应能力,进而提高瓶外生根率,然而炼苗时间过长,培养基易滋生杂菌,侵染组培苗,瓶外生根易死亡,导致生根率降低^[14]。本试验将组培苗在室内炼苗 3 d,既可达到较理想效果,生根

率平均值达到 77.78%。同时保证相对较高的空气湿度,也可防止因叶片失水造成的组培苗死亡,虽试验中空气湿度并未达到显著影响,但当空气相对湿度在 90% RH 时组培苗生根率(74.44%)较空气湿度为 50% RH 时生根率(68.89%)提高了 5.55%。多数学者将湿度控制在 80%~90%^[15-16]。

不同生根营养液中含有不同质量浓度的矿质元素以及植物生长调节剂,添加生根营养液有利于组培苗对矿质元素等的吸收,本试验以 MS、1/2MS、1/4MS 培养基作为生根营养液的基本成分生根效果差于以 1/6 MS 为基本成分的生根营养液,这可能是由于土壤中生根营养液浓度过高,而引起水分反渗透,进而导致组培苗“烧苗”死亡。在‘薄雾’蓝莓^[17]试管苗瓶外生根过程中,同样以较低浓度的 1/6 WPM 为基本成分的营养液瓶外生根效果好,这与本试验结果相似。在不定根的形成过程中,生长素起着重要的作用,添加生长素可引起组培苗基部薄壁细胞脱分化,形成愈伤组织,进而长出不定根^[18]。笔者以 0.05 mg/L IBA 与 0.10

mg/L NAA 配合使用组培苗瓶外生根达到较理想效果。有研究表明 GA_3 和相对较高浓度的 IBA、NAA 对瓶外生根效果较好^[19-21], 这与本试验存在差异, 可见不同植物组培苗瓶外生根所需外源激素不尽相同。

研究发现适宜的扦插基质($V_{\text{细沙}}:V_{\text{蛭石}}:V_{\text{珍珠岩}}=1:1:1$)、炼苗时间(3 d)、空气湿度(90%)和生根营养液(1/6 MS+0.05 mg/L IBA+0.10 mg/L NAA)共同作用, 比其单独作用时可将‘红双喜’月季组培苗瓶外生根率由 70% 多提高至 88.89%。本研究明确了‘红双喜’月季组培苗瓶外生根最优培养条件, 建立了瓶外生根繁育技术, 可为‘红双喜’月季组培快繁工厂化生产提供科学参考。

参考文献:

- [1] 刘会超, 郭丽娟, 贾文庆, 等. 不同消毒方式及生长调节剂浓度对红双喜月季组培的影响[J]. 贵州农业科学, 2010, 38(10): 14-17.
- [2] 龚维红, 尤伟忠, 李成慧, 等. “恩钿”月季组培技术研究[J]. 北方园艺, 2012(16): 83-85.
- [3] Ranaweera K K, Gunasekara M T K, Eeswara J P. Ex vitro rooting: A low cost micropropagation technique for Tea (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntz) hybrids[J]. Scientia Horticulturae, 2013, 155: 8-14.
- [4] 闫海霞, 何荆洲, 黄昌艳, 等. 蝴蝶兰组培苗瓶外生根的研究[J]. 西南农业学报, 2016, 29(11): 2709-2713.
- [5] 黄国辉, 姚平. 蓝莓组培苗瓶外生根的研究[J]. 江苏农业科学, 2011, 39(4): 227-228.
- [6] 于冲, 张蕾, 李妮娜, 等. 费菜无性系建立的研究[J]. 吉林农业科学, 2010, 35(4): 22-25, 42.
- [7] 施琼, 胡峰, 黄烈健. 马大杂种相思瓶内和瓶外生根技术研究[J]. 植物研究, 2015, 35(6): 891-897.
- [8] 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): 102-104, 136.
- [9] 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.
- [10] 廖明安. 园艺植物研究法[M]. 北京: 中国农业出版社, 2005: 52.
- [11] 周鹏, 张敏, 黄婧, 等. 乌饭树组织培养苗瓶外生根技术研究[J]. 江苏林业科技, 2018, 45(2): 25-29.
- [12] 高方可, 李建勋, 吴荣哲. 黑果腺肋花楸组培苗瓶外生根技术研究[J]. 延边大学农学报, 2015, 37(3): 208-211, 230.
- [13] 徐振华, 白志英, 林艳, 等. 月季试管苗生根的形态解剖学观察[J]. 园艺学报, 1998(4): 94-96.
- [14] 孙宪芝, 赵惠恩. 树月季‘雪山娇霞’的离体快繁技术研究[J]. 西北林学院学报, 2004(4): 74-76.
- [15] 姚平, 孙书伟. 蓝莓组织培养瓶内复壮瓶外生根快繁技术[J]. 北方园艺, 2009(4): 161-162.
- [16] 徐振华, 王学勇, 李敬川, 等. 试管苗瓶外生根的研究进展[J]. 中国农学通报, 2002(4): 84-86, 89.
- [17] 余宏傲, 王法格, 叶朝军, 等. ‘薄雾’蓝莓试管苗室内瓶外生根试验[J]. 中国果树, 2017(1): 37-39, 55.
- [18] 李金英, 赵春莉, 张志东, 等. 两种茶藨属植物组培苗生根的影响因素[J]. 吉林农业科学, 2013, 38(2): 75-77, 96.
- [19] 何为中, 汪森, 刘红坚, 等. 赤霉素(GA_3)处理对甘蔗试管苗瓶外生根的影响[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(4): 2059-2060.
- [20] 胡选萍. IBA 对大樱桃“吉塞拉”试管苗生根的效应研究[J]. 吉林农业科学, 2015, 40(3): 106-109.
- [21] 张栋梁. 两种生长调节剂对草莓组培苗瓶外生根的效果比较[J]. 上海农业科技, 2015(2): 35, 17.