

苗卫东,高换超,李俊涛,等. 月季无菌材料的获得及不定芽的诱导[J]. 江苏农业科学,2021,49(18):48-53.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2021.18.008

月季无菌材料的获得及不定芽的诱导

苗卫东,高换超,李俊涛,王宇扬,李凯薇

(河南科技学院园艺园林学院,河南新乡 453003)

摘要:月季花大而香,是名贵的观赏植物,但采用常规的扦插和嫁接繁殖方法进行繁殖成活率不高。采用霍尔恩月季一年生枝条为外植体进行离体培养以扩大繁殖系数,试验首先以 WPM 为基本培养基,添加不同浓度的植物生长调节剂,研究不同植物生长调节剂对月季萌芽率及生长情况的影响,然后用获得的月季无菌苗叶片为材料,以 MS 为基本培养基,研究不同植物生长调节剂及暗培养时间等多种因素对霍尔恩月季叶片不定芽诱导再生的影响。结果表明,月季腋芽萌发较适合的培养基为 WPM + BA 1.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L + 20 g/L 蔗糖 + 6 g/L 琼脂粉;继代培养较适合的培养基为 WPM + BA 1.5 mg/L + NAA 0.2 mg/L + 20 g/L 蔗糖 + 6 g/L 琼脂粉;TDZ 对叶片不定芽再生有诱导作用。最适的培养基为 MS + TDZ 2.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L + 20 g/L 蔗糖 + 6 g/L 琼脂粉,暗培养时间为 7 d,叶片的不定芽最高诱导率为 9.70%。

关键词:霍尔恩月季;无菌苗;叶片;植物生长调节剂;不定芽

中图分类号:S685.120.4⁺3 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2021)18-0048-06

月季被誉为“花中皇后”,是世界上最重要的观赏植物之一,以其花朵美丽、四季常开、花色丰富和香色浓郁,一直被大众所喜欢,并且它还有非常广泛的应用价值,是城市绿化的主要材料。月季的自然花期为 5 月至 11 月,花大型,有香气,广泛用于园艺栽培和切花生产。中国是月季的原产地之一。中国有 52 个城市把它作为市花。霍尔恩月季是丰花月季的一个品种,长势强健、分枝旺盛、株形优美、主干及侧分支不明显,为灌丛生长,其叶片刺体与杂种茶香月季相比略小,植株偏矮,通常在 30 ~

70 cm。霍尔恩月季花朵颜色呈深玫红色,重瓣,花朵直径 4 cm,香气宜人,霍尔恩月季花期不断,群体栽植观赏性较高。现代月季品种有 35 000 多个^[1],月季传统的繁育方法如扦插、嫁接等具有一定的局限性,繁殖速度慢、种苗容易退化,对月季进行离体培养,可以在短时间内获得优质苗,而且可以周年进行生产。目前,对月季组培的研究主要集中在离体快繁方面^[2],关于植株再生体系的建立报道较少,建立高效的月季再生体系是开展月季基因工程育种的前提。有关建立月季再生体系有 2 条途径,即器官发生途径和体细胞胚途径。本试验采用离体快繁的方法获得大量的月季无菌材料,用其无菌材料的叶片作为外植体,通过器官发生途径建立了月季不定芽再生的体系,为月季的转基因奠定了一

收稿日期:2021-05-16

作者简介:苗卫东(1968—),男,河南遂平人,副教授,主要从事园艺植物资源评价与利用研究。E-mail:ligrapes@hist.edu.cn。

[13] Zhou S E, Hu Z L, Li F F, et al. Overexpression of *SIOFP20* affects floral organ and pollen development [J]. Horticulture Research, 2019, 6(1): 125.

[14] Zhou S E, Cheng X, Li F F, et al. Overexpression of *SIOFP20* in tomato affects plant growth, chlorophyll accumulation, and leaf senescence [J]. Frontiers in Plant Science, 2019, 10: 1510.

[15] Wu S, Zhang B, Keyhaninejad N, et al. A common genetic mechanism underlies morphological diversity in fruits and other plant organs [J]. Nature Communications, 2018, 9(1): 4734.

[16] 霍建勇. 中国番茄产业现状及安全防范 [J]. 蔬菜, 2016(6): 1-4.

[17] Wang S C, Chang Y, Guo J J, et al. *Arabidopsis* Ovate Family

Protein 1 is a transcriptional repressor that suppresses cell elongation [J]. The Plant Journal, 2007, 50(5): 858-872.

[18] Yang C, Ma Y M, He Y, et al. OsOFP19 modulates plant architecture by integrating the cell division pattern and brassinosteroid signaling [J]. The Plant Journal, 2018, 93(3): 489-501.

[19] Yang C, Shen W J, He Y, et al. OVATE family protein 8 positively mediates brassinosteroid signaling through interacting with the GSK3-like kinase in rice [J]. PLoS Genetics, 2016, 12(6): e1006118.

[20] Liu J H, Zhang J, Hu W, et al. Banana ovate family protein MaOFP1 and MADS-box protein MuMADS1 antagonistically regulated banana fruit ripening [J]. PLoS One, 2015, 10(4): e0123870.

定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

试验于 2020 年 2—6 月开展,材料采自河南新乡河南科技学院月季种质资源圃,采摘的月季品种为霍尔恩。于 10:00 左右选择生长健壮的植株取 1 年生生长势好、无病虫害、芽体饱满的月季中部枝条。诱导不定芽再生的材料是在河南科技学院园艺植物组培实验室经过继代培养 35 d 的无菌苗,取其叶片。

1.2 方法

1.2.1 月季腋芽初代培养 取 1 年生生长势好、无病虫害、芽体饱满的月季中部枝条。从大田取回后,除去叶片与茎刺,然后在流水下冲洗 10 min 洗去灰尘,然后加入适量洗洁精冲洗 2 h 后剪成带 1 个芽体的茎段。在超净工作台上用 0.1% 氯化汞消毒 8 min,然后使用无菌水冲洗 4 次,每次冲洗 5 min 并不断摇晃彻底冲洗残留的氯化汞,用无菌滤纸把接种材料上的水吸干,把处理好的材料接种于以 WPM 为基本培养基,添加不同浓度的 BA 和 NAA 组合的 9 种初代培养基上,设置的培养基分别为:(1) C1: WPM + BA 0.5 mg/L + NAA 0.10 mg/L; (2) C2: WPM + BA 0.5 mg/L + NAA 0.15 mg/L; (3) C3: WPM + BA 0.5 mg/L + NAA 0.20 mg/L; (4) C4: WPM + BA 1.0 mg/L + NAA 0.10 mg/L; (5) C5: WPM + BA 1.0 mg/L + NAA 0.15 mg/L; (6) C6: WPM + BA 1.0 mg/L + NAA 0.20 mg/L; (7) C7: WPM + BA 1.5 mg/L + NAA 0.10 mg/L; (8) C8: WPM + BA 1.5 mg/L + NAA 0.15 mg/L; (9) C9: WPM + BA 1.5 mg/L + NAA 0.20 mg/L。蔗糖 20 g/L,琼脂粉 6 g/L, pH 值 5.8^[3-4]。每种培养基接种 15 瓶,每瓶接种 3 个外植体,重复 3 次,共 45 瓶,接种好外植体后放在培养室进行培养,培养温度为(24±2)℃,光照度为 2 000~3 000 lx。

1.2.2 月季腋芽继代培养 培养 14 d 后,由于初代培养时材料带茎段容易污染,所以把初代培养生长良好的腋芽剪下,进行转接至以 WPM 为基本培养基、添加不同浓度 BA 和 NAA 组合的 9 种继代培养基上。培养基分别(1) J1: WPM + BA 1.0 mg/L + NAA 0.15 mg/L; (2) J2: WPM + BA 1.0 mg/L + NAA 0.20 mg/L; (3) J3: WPM + BA 1.0 mg/L + NAA 0.25 mg/L; (4) J4: WPM + BA 1.5 mg/L +

NAA 0.15 mg/L; (5) J5: WPM + BA 1.5 mg/L + NAA 0.20 mg/L; (6) J6: WPM + BA 1.5 mg/L + NAA 0.25 mg/L; (7) J7: WPM + BA 2.0 mg/L + NAA 0.15 mg/L; (8) J8: WPM + BA 2.0 mg/L + NAA 0.20 mg/L; (9) J9: WPM + BA 2.0 mg/L + NAA 0.25 mg/L。蔗糖 20 g/L,琼脂粉 6 g/L, pH 值 5.8。在培养过程中一旦发现污染要及时处理,在培养过程中要不断观察其生长情况。

1.2.3 月季无菌苗叶片愈伤组织的诱导 选择生长势良好,无污染的继代培养 35 d 的无菌苗,将无菌苗叶片剪成适当大小,在叶脉中部横切几下进行刻伤,叶背向下分散接种到以 MS 为基本培养基,添加不同浓度 2,4-D 的 5 种愈伤组织诱导培养基上,培养基分别为(1) Y1: MS + 2,4-D 0.0 mg/L; (2) Y2: MS + 2,4-D 1.0 mg/L; (3) Y3: MS + 2,4-D 2.0 mg/L; (4) Y4: MS + 2,4-D 4.0 mg/L; (5) Y5: MS + 2,4-D 8.0 mg/L。蔗糖为 20 g/L,琼脂粉为 6 g/L, pH 值为 5.8。每种培养基接种 10 瓶,每瓶接 3 个外植体,重复 3 次,共 30 瓶,培养温度为(24±2)℃,光照度为 2 000~3 000 lx, 14 h 光照。接种 25 d 后观察愈伤组织的状态变化,统计愈伤组织诱导率。愈伤组织诱导率 = 产生愈伤的外植体数/接种外植体数 × 100%。

1.2.4 月季无菌苗不定芽的诱导 将培养 30 d 生长良好的愈伤组织转接至以 MS 为基本培养基,植物生长调节剂 TDZ 与 NAA 不同浓度组合 10 种不定芽诱导培养基上。培养基分别为:(1) B1: MS + NAA 0.1 mg/L; (2) B2: MS + TDZ 1.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L; (3) B3: MS + TDZ 2.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L; (4) B4: MS + TDZ 4.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L; (5) B5: MS + TDZ 8.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L; (6) B6: MS + NAA 0.2 mg/L; (7) B7: MS + TDZ 1.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L; (8) B8: MS + TDZ 2.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L; (9) B9: MS + TDZ 4.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L; (10) B10: MS + TDZ 8.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L; 对照 CK: MS0。蔗糖为 20 g/L,琼脂粉为 6 g/L, pH 值为 5.8。每种培养基接种 10 瓶,每瓶接 20 块愈伤组织,每个组合分别暗培养 0、7、14、21 d,重复 3 次,共 30 瓶。然后放置在培养温度为(24±2)℃,光照度为 2 000~3 000 lx, 14 h 光照下培养,及时观察不定芽诱导情况并在培养 31 d 后统计不定芽诱导率。不定芽诱导率 = 诱导出不定芽的愈伤数/接种的愈伤数 × 100%。

1.3 数据分析

试验数据用 SPSS 17.0 统计软件进行分析,试验数据为 3 次重复的平均值。

2 结果与分析

2.1 不同培养基对月季腋芽萌发率的影响

通过试验观察发现茎段培养 3 d 后,腋芽开始萌动膨大 0.2 ~ 0.3 cm,培养 7 d 后芽体高达 0.9 ~ 1.0 cm,初代培养 14 d 后芽体长度达 1.6 ~ 1.7 cm,此时开始统计萌发个数,然后把生长良好的芽体切下转接至继代培养基上。

从表 1 可以看出,这 9 种组合都能使茎段腋芽萌发,培养基 C4 较适合腋芽萌发,萌发率为 86.0%,长势好(图 1 - A)。C7 培养基腋芽萌发率最低,萌发率为 40.0%,长势慢(图 1 - B)。培养基 C1、C2、C3、C5、C6、C7、C8、C9 与培养基 C4 差异显著,培养基 C1、C2、C3、C5、C6、C7、C8、C9 之间差异不显著。

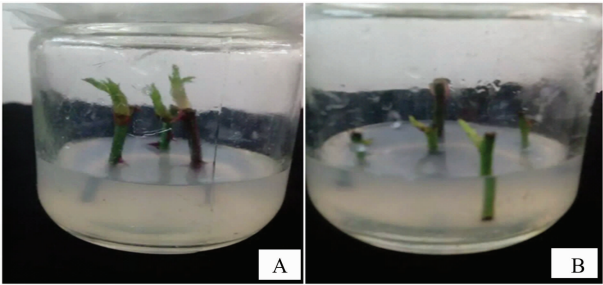
2.2 不同培养基对月季继代培养的影响

通过试验发现,腋芽茎段在初代培养基上培养 14 d 后把其切下转接至继代培养基上 7 d,生长良好,叶片开始展开(图 2 - A)。在 J5 培养基上培养 25 d 后植株高度达 2.5 ~ 2.7 cm(图 2 - B),培养 35 d 后植株高度达 4.2 ~ 4.7 cm(图 2 - C)。

表 1 不同培养基对月季腋芽萌发率的影响

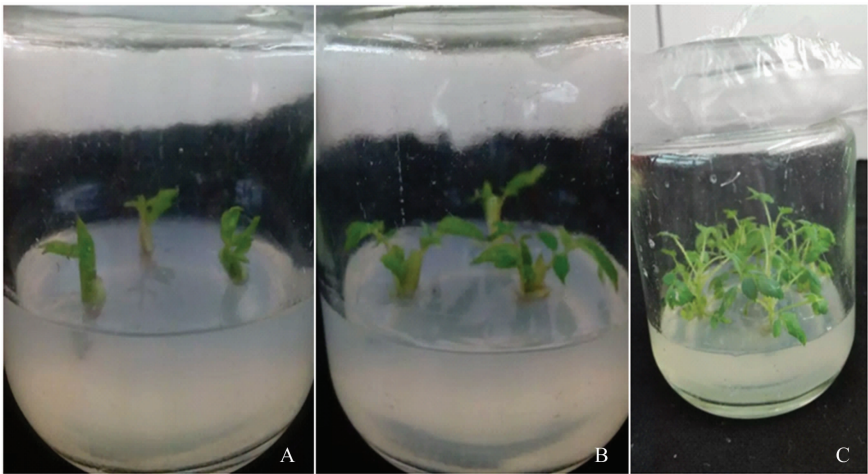
培养基	接种外植体 (个)	萌发数 (个)	萌发率 (%)
C1	135	55	41.0 ± 0.07b
C2	135	68	50.0 ± 0.19b
C3	135	55	41.0 ± 0.02b
C4	135	116	86.0 ± 0.06a
C5	135	80	59.0 ± 0.09b
C6	135	71	52.0 ± 0.09b
C7	135	54	40.0 ± 0.08b
C8	135	63	47.0 ± 0.10b
C9	135	58	43.0 ± 0.14b

注:表中萌发率数据为平均值 ± 标准差。同列数据后不同小写字母表示不同培养基间差异显著($P < 0.05$)。表 2 至表 4 同。



A: 培养基 C4; B: 培养基 C7

图1 初代培养 7 d 植株生长情况



A. 7 d; B. 25 d; C. 35 d

图2 J5 培养基月季继代培养生长情况

从表 2 可以看出,培养基 J5 较适合月季继代生长,培养基 J5 与培养基 J9 之间差异不显著,都适合其生长,但是 J9 培养基最初植株生长较快,但是在继代培养了 25 d 后叶片开始变黄,植株质量较差,所以只有培养基 J5 最适合月季继代培养。培养基 J1 最不适合月季的继代培养。

2.3 不同培养基对月季无菌苗叶片愈伤组织诱导的影响

从表 3 可以看出,培养基中不加 2,4 - D 时无法诱导出愈伤组织,最适合诱导愈伤组织的培养基为 Y3,诱导率最高,为 83.0%。培养基 Y4,诱导率为 75.0%,Y3 与 Y4 之间差异不显著,说明这 2 种

表 2 不同培养基对月季继代培养的影响

培养基	株高 (cm)	幼苗长势
J1	2.33 ± 0.45d	生长慢,细弱
J2	2.80 ± 0.79bcd	生长慢,细弱
J3	2.57 ± 0.42cd	生长慢,细弱
J4	2.47 ± 0.83cd	生长慢,细弱
J5	4.63 ± 0.50a	生长快,质量好
J6	3.97 ± 0.50ab	生长较快,质量好
J7	3.67 ± 0.68abc	生长较快,颜色黄
J8	3.47 ± 0.15abcd	生长较快,细弱
J9	4.23 ± 1.17a	生长较快,节间长细弱

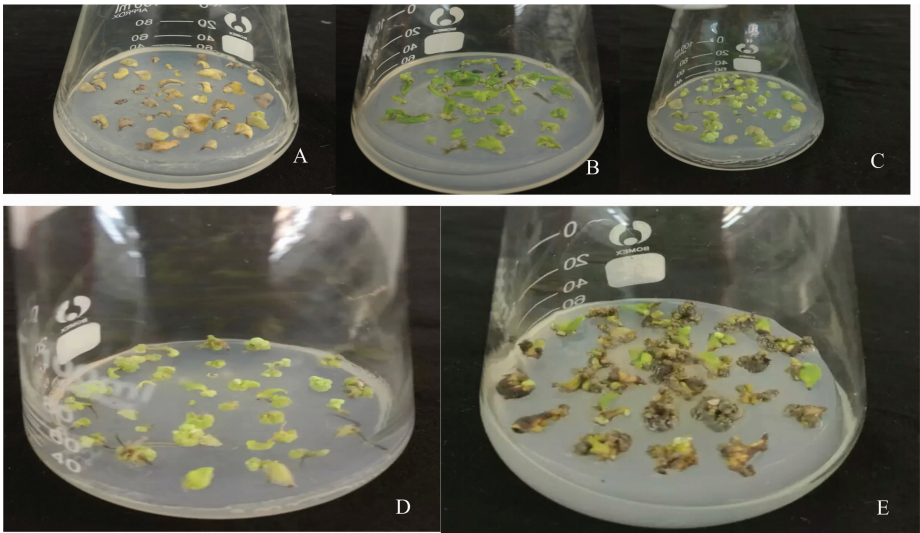
培养基都较适合月季愈伤组织的诱导。Y3、Y4 与组合 Y1、Y2、Y5 之间差异显著,其中 Y3、Y4 与 Y2 之间差异显著性较小;与 Y5 之间差异显著性较大;与 Y1 差异显著性最大。

通过试验发现,不同浓度的 2,4 - D 对愈伤组

织发生的时间、愈伤组织生长质量有很大影响。从图 3 可以看出,当不加 2,4 - D 时不能产生愈伤组织,材料培养 40 d 后全部变褐死亡(图 3 - A);当加 1 mg/L 2,4 - D,叶块在培养 25 d 后在靠近切口卷曲处长出少许的淡绿色愈伤组织,在后期的观察中愈伤组织膨大生长缓慢,愈伤组织质地紧密(图 3 - B);当加入 2 mg/L 2,4 - D,在培养 10 d 后叶柄切口长出少许的绿色愈伤组织,叶块开始卷曲上翘长出少量愈伤组织,15 d 后愈伤组织继续膨大,25 d 后叶块几乎长出全部鲜绿色愈伤组织(图 3 - C);当加 4 mg/L 2,4 - D,在培养初期愈伤组织长得很快,但生长约 25 d 后长出的绿色愈伤组织开始变黄绿色(图 3 - D);当加入 8 mg/L 2,4 - D,在生长 15 d 时叶块切口处开始膨大,但是有很多材料开始变褐,后期长出的少许愈伤组织不再继续膨大,最后几乎全部变褐死亡(图 3 - E)。

表 3 不同培养基对无菌苗叶片愈伤组织诱导的影响

培养基	接种数 (块)	愈伤组织数 (块)	愈伤组织诱导率 (%)	愈伤组织状态
Y1	900	0	0d	无愈伤组织产生
Y2	900	419	47.0 ± 0.06b	量少,绿色质地紧密
Y3	900	746	83.0 ± 0.11a	量较多,淡绿色,疏松程度适中
Y4	900	671	75.0 ± 0.10a	量较多,黄绿色,质地疏松
Y5	900	162	18.0 ± 0.02c	量较少,黄绿色或褐色,质地疏松



A. Y1 培养基; B. Y2 培养基; C. Y3 培养基; D. Y4 培养基; E. Y5 培养基

图3 不同培养基无菌苗叶片愈伤组织比较

2.4 暗培养天数和不同植物生长调节剂组合对月季不定芽诱导率的影响

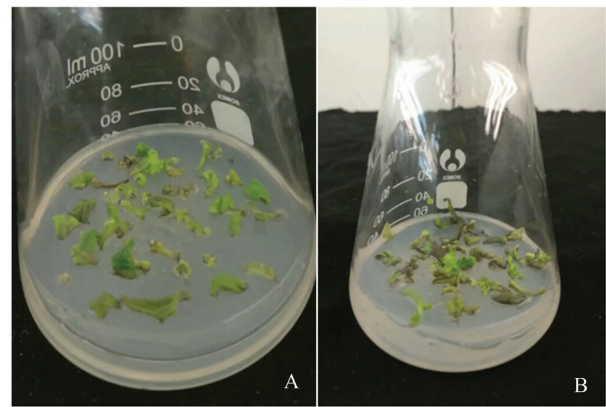
从表 4 可以看出,霍尔恩月季诱导不定芽最适的

培养基为 B8(MS + TDZ 2.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L),诱导率最高,B1 与 B6 诱导率最低,说明 TDZ 在月季不定芽诱导中起决定性作用,不添加 TDZ 无法诱

导出不定芽。B8 和其他 9 个组合差异显著,B8 和 B3 差异显著性较小,说明 NAA 浓度对不定芽诱导率影响不大;B8 和 B7 差异显著,说明 TDZ 浓度对不定芽诱导有很大影响;B8 和其他 7 个组合差异显著。在试验过程中还发现,月季无菌苗叶片主要在主脉切口处产生愈伤组织,月季不定芽诱导率很低,最高诱导率仅为 9.70%,由图 4 可以看出,在 B8 培养基培养 25 d 后有芽将要长出,30 d 后长出少许的不定芽。

表 4 不同培养基对月季无菌苗不定芽诱导率的影响

培养基	接种愈伤数 (块)	出芽愈伤数 (块)	诱导率 (%)
B1	600	0	0d
B2	600	14	2.33 ± 0.013cd
B3	600	27	6.0 ± 0.013bc
B4	600	13	2.2 ± 0.003cd
B5	600	3	0.50 ± 0.005d
B6	600	0	0d
B7	600	31	5.20 ± 0.026b
B8	600	58	9.70 ± 0.013a
B9	600	23	3.80 ± 0.018bc
B10	600	4	0.70 ± 0.012d



A. 25 d; B. 30 d
图4 B8 培养基不定芽诱导情况

3 讨论与结论

3.1 TDZ 对月季不定芽诱导的影响

TDZ 是一种新型的细胞分裂素类似物,它不但具有很强的细胞分裂素活性,而且还具有生长素的功能,在基本培养基 MS 上只加 TDZ 就能诱导赤霞珠叶片离体再生^[5]。TDZ 对蔷薇科植物诱导不定芽有促进效果^[6]。相关报道表明,TDZ 对体胚发生的作用因植物种类而异,它对体胚发生的促进作用

与使用浓度和处理时间有关^[7]。众多研究指出,TDZ 通过调节内源植物生长激素起作用。TDZ 的诱导能力虽然很强,但是它也有一定的缺陷^[8]。有研究指出,高浓度的 TDZ 能诱导愈伤组织形成和体胚的诱导,但抑制芽的生长不利于伸长,再生芽数也减少。高丽萍等在建立月季再生体系的研究中,分别采用直接及间接的诱导途径,建立了萨曼莎月季的再生体系^[9]。生长素促进细胞伸长和细胞分裂,细胞分裂素诱导芽分化、促进侧芽萌发生长,细胞分裂素配合一定的生长素可共同促进月季侧芽的萌发与生长。本研究发现,TDZ 对不定芽诱导有明显影响,低浓度有利于不定芽的诱导。霍尔恩月季愈伤组织在诱导愈伤培养基上培养 30 d 后转到 MS + TDZ 2.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L 分化培养基上,得到不定芽,证明 TDZ 对不定芽诱导有促进作用。

3.2 材料继代时间对月季不定芽诱导的影响

通过试验发现,继代 35 d 左右的植株较适合诱导出愈伤组织,继代时间超过 50 d,几乎无法诱导出愈伤组织,长出的少许愈伤组织变褐严重,无法诱导出不定芽。说明叶片的幼嫩程度对其有一定的影响。参考相关资料取继代 35d 的植株小叶,愈伤组织诱导率较高^[10]。同时有研究指出,随着愈伤组织继代次数的增加,愈伤组织分化的能力也不断下降,当继代次数超过 5 次,大部分的愈伤组织就几乎没有增殖的能力^[11]。本试验也发现愈伤组织不能进行多次继代,即使此试验继代次数较少,其分化情况依然不理想。

3.3 暗培养时间对月季不定芽诱导的影响

在植物离体再生研究中,暗培养时间对再生效率有着非常重要的作用。暗培养时间过短不能诱导再生出不定芽,过长植物材料几乎变褐死亡。通过试验发现,不进行暗培养不能产生不定芽,在试验过程中发现当暗培养时间为 7 d 时鲜绿色的愈伤组织开始转为淡绿色,质地开始变得稍疏松;当暗培养时间为 14 d 时愈伤组织过于结实,开始变黄褐色,愈伤组织膨大缓慢,暗培养 21 d 长出的愈伤组织不再膨大,开始变黄变褐死亡。所以在不定芽诱导过程中采用 7 d 暗培养然后转入光下培养(培养条件同月季初代培养)。月季的再生培养中不同 TDZ 和 NAA 的浓度组合对不定芽诱导有一定影响。在诱导不定芽阶段,暗培养时间起着决定性的作用。有研究表明,适当的暗培养时间能促进月季植

株再生^[12-13]。本试验也发现适当的暗培养有助于不定芽的诱导,霍尔恩月季不定芽诱导暗培养的最佳时间是 7 d,不定芽在产生愈伤组织的切口处产生,相关研究指出,暗培养 15 d 以上不定芽的再生率可达到 95.0% 以上,植株的再生率达到 60.0% 以上^[14],本试验发现,暗培养时间达到 14 d 时愈伤组织几乎全变褐,无法诱导出不定芽。

3.4 碳源浓度对月季不定芽诱导的影响

碳源的种类对植株再生有很大的影响,它除为细胞生命活动提供能源外,在培养基中还起着维持一定渗透压的作用,果糖和乳糖抑制植株再生,蔗糖和葡萄糖能提高不定芽的诱导率使植株获得较高的转化效率^[15]。通过试验发现,低浓度的蔗糖更有利于月季无菌体系的建立与不定芽的再生。

3.5 NAA 对月季不定芽诱导的影响

相关研究指出,不同浓度的细胞分裂素与生长素组合使用,植株再生效果有很大差异^[16]。有研究表明 TDZ 与 NAA 组合使用时,蔷薇植物的再生率较高。月季愈伤组织在 NAA 浓度为 0.1 mg/L 时分化出不定芽缓慢而且质量差;NAA 浓度为 0.2 mg/L 时,在愈伤组织中诱导出不定芽的时间短、质量好,但是也发现在此浓度时愈伤组织有时无法诱导出不定芽而会诱导出多条根,说明生长素浓度高时有利于生长出根,但是却无法在不定芽上诱导出根,所以对于建立霍尔恩月季不定芽再生体系还要进一步研究。

3.6 褐化现象对月季不定芽诱导的影响

相关研究认为,植株必须具有 80% 以上的再生频率,每个植物材料都能诱导出丛生芽,只有这样才能具有成功转化的可能^[17]。虽然本试验做了很多对比研究,但是不定芽诱导率还是很低,原因主要是月季叶片在诱导愈伤组织的过程中容易褐化无法得到不定芽,得到的少数不定芽无法生根长成完整植株,相关研究指出,在植物组织培养过程中褐化现象的发生也会影响根的生成^[18]。所以,在今后的工作中应该考虑如何控制褐化现象的发生,提高植株不定芽诱导率并使其长成完整植株。

本试验中选用月季无菌苗叶片为材料,以 MS 为基本培养基,采用离体快繁技术研究不同植物生长调节剂及暗培养时间等多种因素对霍尔恩月季叶片不定芽诱导再生的影响。研究得出最适的培

养基为 MS + TDZ 2.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L + 20 g/L 蔗糖 + 6 g/L 琼脂粉,暗培养时间为 7 d,叶片的不定芽最高诱导率为 9.70%。

参考文献:

- [1] 张佐双,朱秀珍. 中国月季[M]. 北京:中国林业出版社,2006.
- [2] 李 青,苏雪痕,李湛东. 藤本月季组织培养快繁研究[J]. 北京林业大学学报,1999,21(6):17-21.
- [3] Péros J P, Torregrosa L, Berger G. Variability among *Vitis vinifera* cultivars in micropropagation, organogenesis and antibiotic sensitivity [J]. Journal of Experimental Botany, 1998, 49(319):171-179.
- [4] 高莉萍,包满珠. 月季的植株再生及遗传转化研究进展[J]. 植物学通报,2005,40(2):231-237.
- [5] 田传卫,尚爱芹,张建甫,等. 多花蔷薇假珠芽诱导、体细胞胚发生及植株高效再生[J]. 园艺学报,2008,35(3):403-408.
- [6] Dubois L A M, de Vries D P, Koot A. Genetic variation of rose cultivars for direct shoot organogenesis[J]. Acta Horticulturae, 1997(447):79-86.
- [7] 王 禹. 微型月季组织培养育苗技术[J]. 中国林副特产,2020(6):53-54.
- [8] 王钱钱. 五种月季品种的快繁和再生体系的优化探究[D]. 合肥:安徽农业大学,2020.
- [9] 刘子平,赵春莉,李金英,等. 红双喜月季高效组织培养快繁技术[J]. 福建农业学报,2019,34(1):61-69.
- [10] 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.
- [11] 高莉萍,包满珠. 月季萨蔓莎不定芽的直接诱导和植株再生的研究[J]. 中国农业科学,2005,38(4):784-788.
- [10] 郭艳超,田传卫,尚爱芹,等. 粉团蔷薇叶片不定芽的直接诱导及植株再生[J]. 分子植物育种,2006,4(增刊2):27-30.
- [11] 潘兵兵. 5 个现代月季品种愈伤组织再生体系的建立与体细胞培养的研究[D]. 哈尔滨:东北农业大学,2011.
- [12] 杨 涛,钱 蕾,吕永桂,等. 丰花月季低成本组织培养快繁的研究[J]. 江苏农业科学,2015,43(8):53-55.
- [13] 李敬蕊. 月季再生体系的建立及叶盘法转化月季‘萨蔓莎’的研究[D]. 武汉:华中农业大学,2006.
- [14] 林桂玉,李美芹,吕金浮,等. 藤本月季紫皇后组织培养技术[J]. 江苏农业科学,2014,42(9):56-58.
- [15] 杨永花,张美玲,张新瑞,等. 藤本月季组织培养初报[J]. 甘肃农业大学学报,2008,43(5):63-66.
- [16] 徐凌飞,马锋旺,王喆之,等. 梨叶片离体培养和植株再生[J]. 园艺学报,2002,29(4):367-368.
- [17] 贾士荣,曹冬孙. 转基因植物[J]. 植物学通报,1992,27(2):3-16.
- [18] 张俊琦,罗晓芳. 牡丹组织培养中褐化的发生原因与防止方法的研究[J]. 沈阳农业大学学报,2006,37(5):720-724.