

亮毛杜鹃组织培养技术探索*

梁晓华, 徐成东, 谢美华, 胡晓安

(楚雄师范学院, 云南 楚雄 675000)

摘 要: 亮毛杜鹃组织培养研究过程中, 遇到的首要问题是不易成活。因此, 在前期工作的基础上, 进一步研究了不同激素配比及浓度对亮毛杜鹃的成活率及生长势的影响, 通过在两种激素配比下生长素种类及浓度梯度、细胞分裂素种类及浓度梯度, 在三种激素配比下 BA 浓度梯度的实验, 得出的结果是 $1/10MS+ZT0.5+IAA0.05$ 培养基比较适合亮毛杜鹃生长。

关 键 词: 亮毛杜鹃; 组织培养; 激素配比及浓度; 成活率; 生长势

中图分类号: S68 **文献标识码:** A **文章编号:** 1007-9793(2006)01-0055-03

亮毛杜鹃 (*Rhododendron microphyton*) 是杜鹃花科植物, 常绿, 花冠漏斗型, 蔷薇色有红色或紫色斑点, 主要分布在云南气候温凉、2000—2800 米海拔高度。近年来, 由于自然生态环境的破坏危机到这种植物, 植物组织培养对于保存物种资源及帮助育种工作增加诱变手段, 提高选育效率等方面都有重要的意义。我国杜鹃的组织培养于 1982 年杨乃博就作了报导, 1985 年杨志云、厥国宁等也作了研究, 但亮毛杜鹃的组织培养在国内尚属首次。

在初始工作中, 进行了不同 PH 值和基本培养基的实验, 发现 PH 值为 5.4—5.5、培养基为 MS 效果较好, 因此进一步进行了不同浓度的 MS 培养基的对比实验, 其结果是 $1/10MS$ 培养基适合亮毛杜鹃生长, 但由于不添加任何激素的培养基外植体不易成活, 因此, 在此基础上进一步进行了不同激素配比及浓度的实验。

1 材料及方法

1.1 材料

亮毛杜鹃 (*Rhododendron microphyton*): 来自禄丰樟木箐林场, 腊叶标本贮存于楚雄师院化学与生命科学系组培实验室。

1.2 方法

1.2.1 灭菌和接种: 将茎尖 (2—3cm) 先用自来水冲洗 10min, 经初步修剪后再用洗衣粉水涮洗 3 分钟后用自来水冲洗干净。进一步除去材料不用的部分, 然后在超菌工作台上用 0.2% $HgCl_2$ 浸泡并搅动 4min, 用无菌水涮洗 10 次 (每次 3 分钟)。将上述灭菌外植体进行适当切割 (3mm 茎尖), 切割后再用无菌水浸泡 1—2 分钟 (除去褐化物) 后, 植入培养基表面。

1.2.2 用不同生长素及浓度进行对比: 在前一阶段实验的基础上, 设计了 12 组不同生长素及浓度进行实验 (BA 浓度均为 0.5mg/L), 用 $1/10MS$ 培养基, 附加蔗糖 25g/L、琼脂为 9g/L、PH 值为 5.4—5.5。每个浓度接种 6 瓶, 每瓶 3 个外植体。光照时间为 12h/d, 培养 20 天后进行统计。

1.2.3 用不同的细胞分裂素及浓度进行对比: 设计了 15 组不同的细胞分裂素及浓度, 分别与 IAA 搭配进行实验 (IAA 浓度均为 0.05mg/L), 培养基等同 1.2.2。

1.2.4 三种激素配比下进行 BA 浓度梯度的对比: 设计 11 组 BA 浓度梯度, 分别与 NAA (浓度均为 0.1mg/L) 及 KT (浓度均为 0.2mg/L) 搭配进行实验, 培养基等同 1.2.2。

* 收稿日期: 2005-07-07

基金项目: 云南省教委基金资助项目 (02ZY095)。

作者简介: 梁晓华 (1964—), 女, 云南省楚雄市人, 副教授, 主要从事植物生理方面研究。

2 结果与分析

2.1 用不同生长素及浓度进行对比的结果

(见表 1)

表 1 不同生长素及浓度对成活率及生长势的影响

Tab. 1 Effect of different bios on success ratio and growth potential

培养基及生长素种类和浓度	成活率(%)	生长势
(1)1/10MS+BA0.5+IBA0.05	65%	++++
(2)1/10MS+BA0.5+IBA0.1	30%	+++
(3)1/10MS+BA0.5+IBA0.2	17%	++
(4)1/10MS+BA0.5+IBA0.5	0	
(5)1/10MS+BA0.5+IAA0.05	81%	++++
(6)1/10MS+BA0.5+IAA0.1	65%	+++
(7)1/10MS+BA0.5+IAA0.2	30%	++
(8)1/10MS+BA0.5+IAA0.5	0	
(9)1/10MS+BA0.5+NAA0.05	67%	++++
(10)1/10MS+BA0.5+NAA0.1	32%	+++
(11)1/10MS+BA0.5+NAA0.2	19%	++
(12)1/10MS+BA0.5+NAA0.5	0	

注:“++++”表示生长速度最快,“+++”表示生长速度较快,“++”表示生长速度快,“+”表示生长速度慢,以下各表同。

实验结果是(5)1/10MS+BA0.5+IAA0.05 培养基的成活率和生长势相对较高,为 81%,(1)1/10MS+BA0.5+IBA0.05 和(9)1/8MS+BA0.5+NAA0.05 培养基的成活率次之;同时还发现,随着生长素浓度的升高,成活率逐渐降低,当生长素浓度达 0.5mg/L 时,产生抑制和毒害作用,成活率为零。从结果可以看出在 BA 浓度均为 0.5mg/L 时,较适合亮毛杜鹃的生长素及浓度为 IAA0.05mg/L。

2.2 用不同的细胞分裂素及浓度进行对比的结果 (见表 2)

从表 2 中可以看出,(14)1/10MS+ZT0.5+IAA0.05 培养基的成活率和生长势相对最高,为 83%;(2)1/10MS+KT0.1+IAA0.05 次之;同时可以看出,当 KT 浓度达到 0.6mg/L、BA 浓度达 0.3mg/L 时,产生抑制和毒害作用,外植体全部死亡。实验表明,在生长素均为 IAA0.05 mg/L 时,较适合亮毛杜鹃生长的细胞分裂素和浓度为 ZT0.5mg/L,培养基为 1/10MS+ZT0.5+IAA0.05。

表 2 细胞分裂素种类及浓度对成活率及生长势的影响

Tab. 2 Effect of different kinin on success ratio and growth potential

培养基和细胞分裂素种类及浓度	成活率(%)	生长势
(1)1/10MS+KT0.05+IAA0.05	67%	++
(2)1/10MS+KT0.1+IAA0.05	73%	++++
(3)1/10MS+KT0.3+IAA0.05	57%	+++
(4)1/10MS+KT0.5+IAA0.05	0	
(5)1/10MS+KT1.0+IAA0.05	0	
(6)1/10MS+BA0.05+IAA0.05	37%	++
(7)1/10MS+BA0.1+IAA0.05	47%	++++
(8)1/10MS+BA0.3+IAA0.05	57%	+++
(9)1/10MS+BA0.5+IAA0.05	17%	+
(10)1/10MS+BA1.0+IAA0.05	0	
(11)1/10MS+ZT0.05+IAA0.05	17%	+
(12)1/10MS+ZT0.1+IAA0.05	27%	+
(13)1/10MS+ZT0.3+IAA0.05	57%	+++
(14)1/10MS+ZT0.5+IAA0.05	83%	++++
(15)1/10MS+ZT1.0+IAA0.05	56%	++++

2.3 三种激素配比下进行 BA 浓度梯度对比的结果 (见表 3)

表 3 三种激素配比下 BA 浓度对成活率和生长势的影响

Tab. 3 Effect of BA densities three hormone compose on success ratio and growth potential

培养基 (1/10MS)	6-BA (mg/L)	NAA (mg/L)	KT (mg/L)	成活率 (%)	生长势
(1)	0.1	0.1	0.2	0	
(2)	0.2	0.1	0.2	33	++
(3)	0.3	0.1	0.2	17	+
(4)	0.4	0.1	0.2	0	
(5)	0.5	0.1	0.2	0	
(6)	0.75	0.1	0.2	0	
(7)	1.0	0.1	0.2	0	
(8)	2.0	0.1	0.2	0	
(9)	3.0	0.1	0.2	0	
(10)	4.0	0.1	0.2	0	
(11)	5.0	0.1	0.2	0	

从表 3 中可以看到,三种激素和浓度搭配后培养的效果不佳,成活率极低,仅(2)、(3)培养基中有部分外植体成活。其结果是在 NAA 均为 0.1mg/L、KT 均为 0.2mg/L 的条件下,随着 6-BA 浓度的增加,对外植体产生毒害作用,成活率逐渐降低,培养基(2)1/10MS+BA0.2+

NAA0.1+KT0.2 的成活率相对较高为 33%。

从总的实验结果看,较适合亮毛杜鹃生长的细胞分裂素为 ZT、生长素为 IAA,最适培养基为 1/10MS+ZT0.5+IAA0.05。

参 考 文 献:

[1] 谭文澄,戴策刚. 观赏植物组织培养技术[M]. 北京:中国林业出版社,1991.

- (2) 丁兰,梁桂霞,傅华龙. 卡特兰的组织培养与快速繁殖的研究[J]. 四川大学学报(自然科学版),2001,38(1).
- (3) 雷远成,吴俊,骞宇,等. 油菜萝卜胞质雄性不育与诸葛菜属间杂种回交一代(BC1)的快速繁殖及生根[J]. 四川大学学报(自然科学版),2003,40(2).
- (4) 葛屹松,赵晓琴,李冠. 新疆甜瓜组织养的优化及抗病转基因研究[J]. 新疆大学学报(自然科学版),2003,20(1).

Explores into the tissue culture technology of rododerdron microphyton

LIANG Xiao-hua, XU Ceng-dong, XUE Mei-hua, HU Xiao-an

(Department of Computer Science, Yunnan Normal University, Kunming 650092, China)

ABSTRACT: In the course of tissue culture of rododendron microphyton, The first question was not lived. So more study effect of different hormone compose and densities on success ratio and growth potential of rododerdron microphyton basic last work, Tests different kind and densities of bios with tow hormone compose, different densities of BA with three hormone compose. The result showed that the suitable medium for rododendron microphyton is 1/10MS + ZT0.5 + IAA0.05.

KEY WORDS: rododerdron microphyton; tissue culture; hormone compose and densities; success ratio; growth potential