维普资讯 http://www.cqvip.com

西洋杜鹃试管苗开花研究

刘 燕[1] 陈 训[2]

(1.贵州师范大学生物技术与工程学院, 贵阳 550001; 2.贵州科学院, 贵阳 550001)

摘要:以西洋杜鹃茎尖为外植体在Read培养基上诱导出丛生芽,将培养5周后的试管苗置于含活性炭0.2%的1/2 Rdea培养基上,附于不同浓度的IBA、NAA、IAA,在光周期16、光强3 000 lx、温度为(25±1)℃的条件下,成功地诱导其开花。这对探讨花芽分化规律在理论应用方面、遗传育种方面都具有重要的意义,并可为其目前市场上试管开花的商品化研究提供数据资料。

关键词: 西洋杜鹃;组织培养;试管开花

中国分类号: S68; S336 文献标志码: A **文章编号**: 1001-4705(2007)01-0006-03

Study on Flowering of Test-tube Plantlets about *Rhododendron hybridum*

LIU Yan[1], CHEN Xun[2]

(1. School of biotechnology and engineering, Guizhou Normal University, Guiyang 550001, China;
2. Guizhou Academy of Sciences, Guiyang 550001, China)

Abstract: Shoots cluster were induced by shoot-tips of *Rhododendron hybridum* under Read culture medium. Test-tube plantlets grown for 5 weeks were transferred for 1/2 Read with 0.2% activated charcoal, supplemented with different concentration with IBA、NAA、IAA. Under 16 photoperiod, 3 000 lx light intensity and temperature at (25±1)℃, plants flowered successfully. It has very meanings in terms of discussing flower buds differentiation law and plant genetics and breeding. At the same time, it supplies the data for merchantman to develop the test-tube flower in market.

Key words: rhododendron hybridum; tissue culture; flowering of test-tube plantlets

西洋杜鹃(*Rhododendron hybridum*)俗称西鹃早期就被列为世界十大盆花之一,在国际花卉市场中甚为畅销。它花期长达四五十天,比普通杜鹃花更耐观赏。除用于盆栽观赏外,还可用于庭院装饰和组成花篱等多种用途。近年来,随着人们生活水平的提高,需求量越来越大,传统的繁殖技术已难以满足市场的需要。组织培养不仅为西洋杜鹃提供了一条快速繁殖的可行途径,也为其优良品种的引种和推广起了一定的推动作用。阙国宁[1]、钟宇[2,3]、邓百万[4]等人曾先后对西洋杜鹃的组织培养进行了研究。但西鹃的试管苗开花却未见报道。多数研究表明,植物离体成花的规律与整体成花规律基本相似,而组培试管成花具有成花率高重复性好技术稳定等优点,而被大量用于成花研究。但此研究首要应建立稳定的组织培养试管成花实验系统,然后在此基础上展开进一步研究。对西洋杜鹃的组织培养试管开花的研究意义也在于此。它不仅对成花研究起重要作用,同时也为目前市场上的试管开花的商品化研究提供了更广阔的前景。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为贵阳市白云区东森公司基地盆栽1~2年西洋杜鹃(*Rhododendron hybridum*)。

1.2 材料的处理与灭菌

取1~1.5 cm长的新发嫩茎茎尖、置自来水下冲1~2 h,在此期间用玻璃棒轻轻搅动2~3次,将其表面的尘土与细菌冲洗下来。在无菌条件下经70%酒精漂洗30~60 s,无菌水冲一次,转入0.1% $HgCl_2$ 溶液消毒6~8 min,无菌水冲4~5次,最后除去茎尖上被升汞破坏的部分,放入装有滤纸的无菌培养皿中备用。

1.3 培养基

诱导丛生芽试验基本培养基为Read培养基,附加不同浓度的BA、ZT、KT和NAA(0.05 mg/L)。诱导花

收稿日期:2006-09-28。
基金项目:国家农业成果转化项目和贵州省攻关项目资助。
作者简介:刘 燕(1981~),女,在读硕士研究生,研究方向:资源植物学。
通讯作者:陈 训(1956~),男,研究员,博士生导师,研究方向:资源植物学。

维普资讯 http://www.cqvip.com

芽形成培养基为 1/2 Read 培养基,附加不同浓度的 IBA、NAA、IAA,各种培养基均含蔗糖 3%,琼脂1.1%,pH 5.4。

1.4 培养条件

温度(25 ± 1)℃,光照 16 h/黑暗 8 h,光照强度 1 500 ~ 3 000 lx。

1.5 Read 培养基的组成成分[5](见表 1)。

表 1　Read 培养基的组成成分(mg/L)

大量元素	含量	中量元素	含量	微量元素	含量	其它	含量
NH_4NO_3	400	$Na_2 \cdot EDTA$	37.8	$NaMO_4 \cdot 2H_2O$	0.25	VB_1	0.4
$(NH_4)_2SO_4$	132	$FeSO_4 \cdot 7H_2O$	27.8	$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	0.025	肌醇	100
KNO_3	202	H_3BO_4	6.2	$CoCl_2 \cdot 6H_2O$	0.025		
$CaCl_2 \cdot 2H_2O$	440	$MnSO_4 \cdot H_2O$	16.9				
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	370	$ZnSO_4 \cdot H_2O$	8.6				
KH_2PO_4	408					pH	5.42

2 结果与分析

2.1 丛生芽的诱导

将剥离出来的茎尖接种到芽诱导培养基上,40 d 后统计结果(表 2)。结果显示,在 Read + ZT(2.0 mg/L) + NAA(0.05 mg/L)(单位下同)上外植体生长最好诱导率最高。35 d 后外植体生长迅速并在基部诱导出不定芽(图 1),诱导率为 90%。此时,接入的外植体茎长 3 cm 左右,基部有少量黄绿色愈伤组织。BA 虽然也能诱导芽的产生,但诱导率低,部分外植体还出现茎坏死现象。KT 基本上不能诱导出芽。所以选 Read + ZT(2.0) + NAA (0.05) 为西洋杜鹃芽诱导的最适培养基。将最早接入的外植体割下,接种到生根培养基中进行生根。将去除顶端优势的芽和愈伤组织一并转入芽诱导的最适培养基中进行增殖培养,2 周后,基部愈伤组织增大同时诱导出更多的芽,进而形成丛生芽,多为 6 ~ 10 根苗(见图 2、3)。培养 5 周后,将茎高约3 cm、茎粗约 0.5 cm、生长较好的苗割下来转入花芽诱导的培养基中(图 4)。

图 1　外植体基部诱导出芽

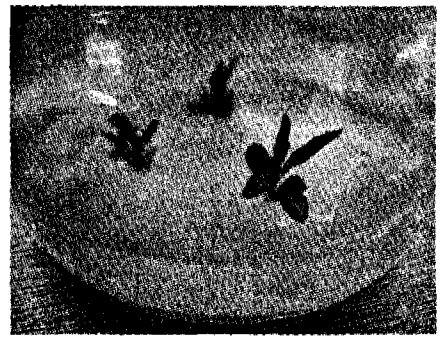

图 2　去掉顶端优势的外植体

2.2 花芽诱导组合

将生长较好的苗从愈伤组织上割下来,接种到含 0.2% 活性炭 1/2 Read 培养基上,附加不同浓度的 IBA、NAA、IAA(见表 3),诱导其花芽的产生。用未加活性炭、未减半的 Read 培养基为对照。

在花芽诱导试验中,虽然编号"B"、"C"、"D"培养基对花芽的诱导率一样,但从花芽的生长状况和开花时间表现来看,"B"培养基最适宜诱导花芽。"B"培养基上的试管苗比其它培养基上的苗生长状况好,花芽比其他培养基的花芽大,开花时间也比其它培养基上花芽提早 1 个月。"A""C""D""F"虽然也能诱导花芽的形成,但外植体在这几种培养基中出现黄叶现象,并伴有假根,即许多叶片都长出根,而外植体基本无根,即便有的外植体基部产生了根,也非常的少。"G"培养基虽然对花芽的诱导率不高,但其基部易出根,根多,粗壮,适宜于对外植体根的诱导。将花芽解剖观察,花器官发育均正常。因此,培养基 1/2 Read + IBA(2.0) +0.2% 活性炭为诱导花芽最适培养基。

图 3　外植体形成丛生芽

图 4　生长较好的苗

图 5　试管苗在瓶中开花

维普资讯 http://www.cqvip.com

表2 不同培养基与不同激素配比对丛生芽诱导的影响

处理	培 养 基	诱导率(%)
1	Read + BA(0.5) + NAA(0.05)	0
2	Read + BA(1.0) + NAA(0.05)	13.3
3	Read + BA(2.0) + NAA(0.05)	23.3
4	Read + KT(0.5) + NAA(0.05)	0
5	Read + KT(1.0) + NAA(0.05)	0
6	Read + KT(2.0) + NAA(0.05)	6.66
7	Read + ZT(0.5) + NAA(0.05)	83.33
8	Read + ZT(1.0) + NAA(0.05)	86.66
9	Read + ZT(2.0) + NAA(0.05)	90

表3 不同培养基与不同激素配比对花芽诱导的影响

编号	培养基与激素配比	花芽的生长状况	花芽诱导率(%)
A	1/2Read + IBA(1.0) +0.2%活性炭	+ + +	16.6
B	1/2Read + IBA(2.0) +0.2%活性炭	+ + + +	33.3
C	1/2Read + NAA(2.0) + IBA(2.0) +0.2%活性炭	+ + +	33.3
D	1/2Read + NAA(5.0) +0.2%活性炭	+ + +	33.3
E	1/2Read + NAA(8.0) +0.2%活性炭	-	0
F	1/2Read + IAA(0.2) +0.2%活性炭	+ +	25
G	Read + NAA(2.0) + IBA(1.0) + ZT(0.2)	+ +	5.5

注:"-"表示未诱导出花芽,"+、+ +、+ + +、+ + + +"表示花芽的生长状况。

3 讨 论

3.1 光照对花器官诱导的影响

众所周知,光照对植物的开花诱导起着很重要的作用。如果植物所受的光照量不足,植物很难从营养生长转向生殖生长。在对其花芽的诱导中,光照量从1 500~3 000 lx设置了梯度。结果发现,只有在3 000 lx时组培苗的顶端形成花器官。由此可见,光照量对西洋杜鹃的花器官的形成有很重要的作用。光照强度越大越容易促进花器官的形成,并可以使花期提前。

3.2 植物激素对花器官诱导的影响

"植物激素"是植物组织培养中发挥生物学效率最强的培养因素,也是人工调控组织培养的"魔术棒",一个组织培养试验主要靠激素的应用。在花芽的诱导中,不同激素与不同浓度配比得到的效果也不同。IBA、NAA、IAA虽然都是生长素,其生理功能在某些方面也相似,但效果却存在差异。从试验结果可以看出,激素浓度适宜时可促进花芽的形成,增加激素的用量却起抑制作用。根据生长素的生理作用来看,生长素应该比细胞分裂素更适宜对生殖器官的诱导。

4 结束语

利用组织培养的方法研究西洋杜鹃的试管开花,可为研究木本植物开花的生理条件建立试验体系。在缩短营养生长向生殖生长转变的时间,探讨花芽分化规律的理论和应用上都具有重要的意义。此外,试管开花可作为案头瓶花的好材料。艳丽花朵在瓶中开花,别有趣味,花期长,不用浇水、施肥等任何管理,是新兴花卉的艺术品。并可为杜鹃新品种的开发及推广提供更广阔的前景。在本试验中用于诱导花器官的激素均是生长素,这与以往选用细胞分裂素来诱导植物开花的情况不同。王琳[6]、叶庆生[7]等人对石斛试管苗开花的研究也都用的是细胞分裂素,如BA、TDZ等,目前用生长素诱导试管苗开花成功的例子还未见报道。在本试验中,花芽的诱导率还不高,以后将对其做进一步的研究。

参考文献

[1]阙国宁.西洋杜鹃试管嫩梢繁殖[J].植物生理学通讯,1985(4):39.

[2]钟宇,张健.西洋杜鹃组织培养技术体系研究(Ⅰ)基本培养基和外植体的选择[J].四川农业大学学报,2001,19(1):37~39.

[3]钟宇,张健.西洋杜鹃组织培养技术体系研究(Ⅱ)培养物的增殖和生根[J].四川农业大学学报,2001,19(6):141~143.

[4]邓百万,陈文强,高菲菲.比利时杜鹃的组织培养研究[J].氨基酸和生物资源,2002,24(3):25~27.

[5]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,1991,205.

[6]王琳.金钗石斛试管开花研究[D]:硕士研究生论文.华南师范大学,2004.

[7]叶庆生.霍山石斛试管开花研究[D]:硕士研究生论文.华南师范大学,2003.