

迎红杜鹃组培快繁技术体系的研究

周兰¹, 曹后男^{2*}, 孙博², 何伟², 于秋艳²

(1. 延边州农业科学研究院; 2. 延边大学农学院; 吉林 龙井 133400)

摘要: 迎红杜鹃休眠枝水培外植体和野外采集当年生嫩枝的最适消毒时间分别为 2, 5 min, 接种于 pH 值为 5.0 的改良 MS+ZT 5.0 mg/L + NAA 0.05 mg/L + 蔗糖 30 g/L + 琼脂粉 6.5 g/L, 培养基中效果最好, 诱芽率达到 76.67%; 继代增殖培养效果最好的培养基为改良 MS+ZT 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L, 增殖率和增加高度分别达到 8.94% 和 1.88 cm; 迎红杜鹃组培苗最佳生根条件为 1/4 改良 MS+IBA 0.5 mg/L+蔗糖 20 g/L, 生根率达 93%; 炼苗移栽成活率最高的方法是先在河沙中锻炼 10 d 再移栽至松毛土: 腐植土: 河沙=1:2:1 的基质中, 成活率达 88%.

关键词: 迎红杜鹃; 组织培养; 快速繁殖

中图分类号: S685.21 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-7999(2008)04-0229-07

迎红杜鹃 (*Rh. mucronulatum Turcz.*) 俗名蓝荆子, 尖叶杜鹃, 为杜鹃花科杜鹃花属落叶灌木植物, 花先叶开放, 早春与迎春、连翘同时开放, 花期长, 耐寒性强, 病虫害少, 耐修剪^[1], 主要生长在林下、山坡、山脊河岸岩石裸露处及林缘丛石壁上. 在延边地区较为常见, 主要分布于安图、和龙、汪清和珲春等海拔 300~900 m 以上的地方, 为东北早春极具观赏价值的木本花卉^[2~3]. 延边朝鲜族自治州以初春时节漫山遍野的迎红杜鹃为傲, 并将其定为州花, 称之为“金达莱”. 东北地区由于纬度高、气候条件相对恶劣等原因, 适宜绿化的彩色观赏植物品种少, 且迎红杜鹃的野生资源有限, 又因其对咳嗽等有显著的疗效, 所以近年来人们随意上山采摘野生含苞待放的迎红杜鹃枝条, 致使其资源日益减少.

试验将深入研究迎红杜鹃组培苗的最适扩繁体系, 并对其进行优化, 旨在提高工厂化育苗效率, 为尽快扩大迎红杜鹃的种群数量, 提高园林利用价值提供理论依据.

1 材料与方法

1.1 材料

取自吉林省龙井市三峰洞的迎红杜鹃.

1.2 方法

1.2.1 外植体的选取及预处理

于 3 月末在三峰洞剪取多年生硬枝, 在实验室用自来水水培 20 d, 待休眠芽展叶 5~6 片时, 去叶, 留下茎尖和带芽茎段; 于 5 月初, 迎红杜鹃盛花后取当年生嫩枝, 剪取茎尖和带芽茎段.

收稿日期: 2008-11-02 **基金项目:** 国家自然科学基金资助项目(30560091); 延边大学农学院研究生创新基金资助项目.

作者简介: 周兰(1982-), 女(满族), 吉林延吉人, 延边农业科学院长白山经济作物研究所. 曹后男为通讯作者,

Tel: 0433-3264624, E-mail: hncao@ybu.edu.cn

229

1.2.2 外植体消毒及初代培养

将外植体用流水冲洗1~2 h后以0.1%氯化汞消毒1~5 min,用无菌水冲洗5遍,接种于Read+ZT 5.00 mg/L+NAA 1.00 mg/L+琼脂 6.5 g/L+蔗糖 30 g/L培养基上。pH值5.5,培养温度(25±1)℃,每天光照14 h,光照强度2 000 lx(下同)。外植体接种后第14天观察并记录不同消毒处理的污染率,30 d后观察并记录存活材料数,调查褐化/死亡率和成活率。

1.2.3 不同激素对迎红杜鹃初代培养分化率的影响

接种外植体为带芽茎段,细胞分裂素为KT、BA和ZT,浓度均为5 mg/L,生长素为NAA、IBA和IAA,浓度均为0.05 mg/L,各处理接种15个外植体,重复3次。40 d后调查其生长情况。

1.2.4 激素对迎红杜鹃继代增殖的影响

以初代培养获得的组培苗为材料,以改良MS培养基为基本培养基,采用完全组合设计探求生长调节因子ZT和NAA对不定芽诱导的适用量。ZT和NAA分别设3个和5个水平。组培苗接种后每5 d观察1次,记录启动材料数(当腋芽萌动长成肉眼可见的芽点时,认为材料已启动),芽长度大于1.0 cm为有效芽。40 d后调查其生长情况。

1.2.5 基本培养基和蔗糖浓度对组培苗生根的影响

基本培养基选用改良MS,1/2改良MS和1/4改良MS;蔗糖浓度分别设30,20和10 g/L。每个处理接种15株组培苗,3次重复,生长调节剂均为0.5 mg/L IBA,pH值5.0。40 d后调查其生根率。

1.2.6 IBA浓度对组培苗生根的影响

在筛选出的基本培养基中,附加不同浓度的IBA(0.1,0.2,0.3,0.4,0.5,0.6和0.7 mg/L)。每个处理接种15株组培苗,3次重复,蔗糖浓度20 g/L,pH值5.0。50 d后调查其生根率。

1.2.7 炼苗与移栽

将生根培养40~50 d后的迎红杜鹃组培苗在室内开瓶练苗2~3 d后取出,用自来水洗净根上附着的培养基,分别进行如下处理:1)先在河沙中炼苗10 d,再移入松毛土:腐殖土:河沙=1:2:1的基质中;2)直接移入配好的上述基质中;3)移入到河沙中炼苗10 d,再移入腐殖土中。每个处理为50株生根组培苗,30 d后观察小苗的成活率和生长情况。

2 结果与分析

2.1 不同消毒时间对外植体接种效果的影响

分别对2种外植体(水培外植体和当年生嫩枝)进行5种消毒处理,培养15 d后统计相关指数(表1)。由表1可知,消毒时间越长,污染率越低,但褐化、死亡率也越高。综合考虑污染率、褐化/死亡率和成活率3个因素,水培外植体消毒2 min效果最好,当年生嫩枝消毒5 min效果最好。2种外植体消毒时间的差异表明室内水培萌芽的外植体携带的微生物和细菌及叶表面绒毛均比野外生长的要少得多,但野外生长的嫩枝外植体比水培外植体粗壮,且水分含量较低,所以可以延长消毒时间。

表1 不同消毒时间对外植体接种效果的影响

Table 1 The influence of different disinfection time on the effect of inoculation explant (% , min)

消毒时间 Disinfection time	接种数 No. of explant	污染率		褐化/死亡率		成活率	
		Contamination rate		Brown/dead rate		Survival rate	
		1	2	1	2	1	2
1	30	100 a	100 a	0	0	0	0
2	30	10 b	100 a	13.33 d	0	76.67 a	0
3	30	10 b	73.33 b	30 c	10 c	63.33 b	16.67 c
4	30	0	36.67 c	71 b	33.33 a	29 c	30 b
5	30	0	10 d	100 d	26.67 b	0	73.33 a

2.2 不同激素对迎红杜鹃初代培养分化率的影响

不同激素对迎红杜鹃初代培养分化率的影响如表2。由表2可知,不同类型的生长素对迎红杜鹃初代培养的影响差异不明显,但细胞分裂素种类间差异极其显著,3种细胞分裂素中ZT的效果明显好于KT和BA;ZT-IAA、ZT-IBA及ZT-NAA等3个组合之间无显著差异,但ZT-NAA组合的分化率最高,达到94.82%。初代培养生长情况如图1。

表2 不同激素对迎红杜鹃初代培养分化率的影响

Table 2 Effect of different hormone on differentiation rates of the primary culture of

Rhododendron. Mucronulatum Turcz.

(%)

处理 Treatment	细胞分裂素 Cytokinin	生长素 Auxin	分化率 Differentiation rate
1	ZT	IAA	78.19ab
2	KT	IBA	32.21b
3	BA	NAA	22.95c
4	ZT	IBA	83.06ab
5	KT	NAA	36.79b
6	BA	IAA	43.33b
7	ZT	NAA	94.82a
8	KT	IAA	30.33bc
9	BA	IBA	29.56bc



图1 迎红杜鹃的初代培养

Fig. 1 The primary culture of *Rhododendron. Mucronulatum Turcz.*

2.3 激素对迎红杜鹃继代增殖的影响

细胞分裂素及生长素的不同组合对迎红杜鹃继代增殖的影响如表3. 由表3可知, ZT浓度对芽的增殖影响很大, 浓度达到1.0 mg/L时增值效果最好, 当浓度大于1.0 mg/L时, 组培苗生长缓慢, 新增芽产生无效芽(图2). NAA对芽的增殖影响不大, 但对芽的生长影响很大, 适当浓度的NAA有利于芽的生长, 0.1 mg/L的NAA对芽的生长最有利, 当NAA浓度提高到0.25 mg/L时, 可导致外植体产生愈伤组织, 影响组培苗生长. 综合考虑增殖倍数及芽的生长速度, 以改良MS+ZT 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L的培养基最适合迎红杜鹃的继代增殖培养, 增殖倍数=可切芽个数/接种芽个数, 达8.94, 增加高度达1.88 cm. 生长情况如图3.

表3 激素浓度对迎红杜鹃继代增殖的影响

Table 3 Effect of hormone concentration on subculture of *Rh. mucronulamm Turcz.* (cm, mg/L)

处理 Treatment	ZT	NAA	增殖倍数 Proliferation multiple	增加高度 Increased height
1	0.5	0.05	4.44c	0.89abc
2	0.5	0.1	3.14d	0.62bc
3	0.5	0.15	4.27c	1.01abc
4	0.5	0.2	4.03c	0.10abc
5	0.5	0.25	5.05c	0.76bc
6	1.0	0.05	10.58a	1.15abc
7	1.0	0.1	8.94ab	1.88a
8	1.0	0.15	10.31ab	1.41ab
9	1.0	0.2	8.30b	0.78bc
10	1.0	0.25	10.22a	0.48c
11	1.5	0.05	Invalid planted	—
12	1.5	0.1	Invalid planted	—
13	1.5	0.15	Invalid planted	—
14	1.5	0.2	Invalid planted	—
15	1.5	0.25	Invalid planted	—



图2 继代增殖中产生的无效芽苗图
Fig. 2 Invalid planted in subculture



图3 继代增殖生长情况
Fig. 3 The situation of subculture

2.4 迎红杜鹃的生根培养

2.4.1 基本培养基和蔗糖浓度对组培苗生根的影响

改良 MS 培养基和蔗糖浓度对组培苗生根的影响如表 4. 由表 4 可知,基本培养基为 1/4改良 MS 和蔗糖浓度为 20 g/L 时,迎红杜鹃组培苗瓶内生根效果最好,生根率达到 92.88%,与其它组合差异显著,其次为 1/2 改良 MS 和蔗糖浓度为 20 g/L 的组合,与其它组合均差异显著. 说明迎红杜鹃组培苗的瓶内生根所需的基本培养基和蔗糖浓度均较低.

表 4 改良 MS 培养基和蔗糖浓度对组培苗生根的影响

Table 4 Effect of improved MS media and sucrose concentration on rooting (% ,g/L)

基本培养基 Media	蔗糖浓度 Sucrose concentration	生根率 Rooting rate
改良 MS Improvement MS	30	37.88 e
	20	57.24 cd
	10	43.05 e
1/2 改良 MS 2/1Improvement MS	30	55.68 cd
	20	69.22 b
	10	33.91 e
1/4 改良 MS 1/4 Improvement MS	30	57.59 cd
	20	92.88 a
	10	63.66 c

2.4.2 IBA 浓度对组培苗生根的影响

在壮苗培养中发现,用 IBA 代替 NAA 做生长素有助于组培苗的复绿及芽苗的增粗,并且在 60 d 左右时有根系生成,因此在生根培养中继续摸索 IBA 的最佳生根浓度,以提高组培苗的生根质量,缩短组培苗的生根时间.

由图 4 可知,IBA 在一定浓度范围内随浓度的增加生根率升高,当浓度达到 0.5 mg/L 时,生根率最高,达 91.89%,而当浓度超过 0.5 mg/L 时,生根率反而下降,表明 IBA 浓度过高会抑制根系的生成. 40 d 后组培苗的生根效果如图 5.

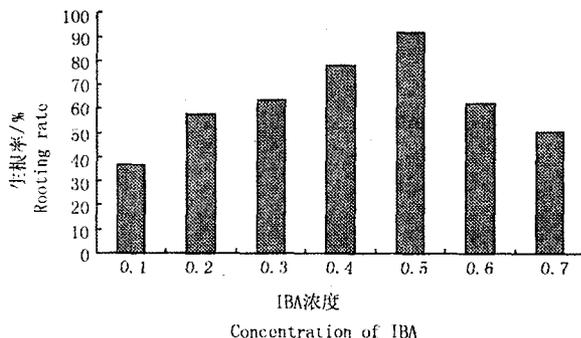


图 4 浓度对生根的影响

Fig. 4 Effect of IBA on rooting



图 5 生根组培苗

Fig. 5 Tissue culture seedling with roots

2.5 炼苗与移栽

瓶内生根的组培苗在3种基质中的成活率存在很大差异(图6)。其中,先在河沙中炼苗10 d后,再移入腐殖土:草炭土=1:1基质中的成活率最高,达92.45%,其次要先在河沙中炼苗10 d后,再移入松毛土:腐殖土:河沙=1:2:1的基质中的处理。3种基质中的成活率之间存在显著差异。

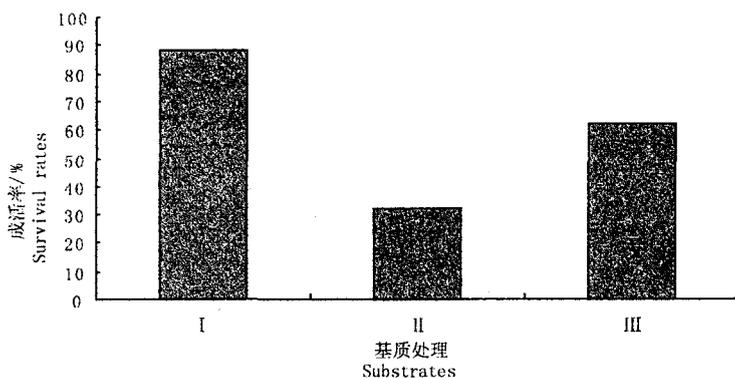


图6 炼苗与移栽

Fig. 6 Acclimatizing and transplanting

在河沙中炼苗是迎红杜鹃炼苗移栽中的关键步骤,可以提高组培苗的成活率。迎红杜鹃自然生长的环境就是富含腐殖质的酸性土壤,因此腐殖土和草炭土或松毛土组合最有利于移栽苗存活的营养保持和酸性环境。而河沙的适量加入有利于基质的透气性,使根系得以快速伸长。移栽成活苗如图7,8所示。



图7 迎红杜鹃组培苗炼苗生根图



图8 迎红杜鹃移栽成活图

Fig. 7 Hardened rooting of *Rh. mucronulatum* Turcz. in vitro Fig. 8 Transplantation seedling of *Rh. mucronulatum* Turcz.

3 讨论与结论

迎红杜鹃组织培养最佳的外植体是室内水培的嫩枝和盛花期后的当年生嫩枝,取材时间分别为3月末和5月初。外植体初代分化和继代增殖中分裂素 ZT 的效果明显好于 KT 和 BA,添加生长素 NAA 比 IBA 和 IAA 分化率高,但继代增殖培养中添加 IBA 比添加 NAA 的苗粗壮。因此,在生根培养之前将较细弱的苗转接于用 IBA 代替 NAA 的培养基中,可为生根培养打好基础,缩短生根周期。

迎红杜鹃组培苗的生根较其它的草本植物难,表现为生根率低及生根时间长,一般生根培养 30~40 d 后才能生根.而试验中发现继代培养 4~5 个月或壮苗培养 3~4 个月后的迎红杜鹃组培苗很容易生出根系.所以在商品化大量生产中不需要专门进行生根培养,而将进行继代培养转接扩繁几次后的组培苗或壮苗培养后转接扩繁几次的组培苗直接练苗移栽即可.这样不仅能够迅速扩大繁殖系数,而且还能省去生根培养的时间,提高商品化生产的效率.

参考文献:

- [1] 柏广新,崔万成,王永明.中国长白山野生花卉[M].北京:中国林业出版社,2002,112—115.
- [2] 扬旭,丁炳扬,胡仁勇.浙江杜鹃花属植物资源开发及利用[J].中国野生植物资源,2005,24(2):22—25.
- [3] 宫汝淳.长白山区野生杜鹃花属种质资源及其开发利用[J].林业科技,2004,29(5):55—56.
- [4] 张淑梅,王兴国,郑成淑,等.长白山杜鹃花科植物资源的园林应用[J].中国野生植物资源,2006,20(2):34.
- [5] 董春枝,郑开文,蒋佩尧.三种杜鹃花组培快繁初步研究[J].北京农业大学学报,1989,15(2):164—166.
- [6] 商慧君.杜鹃碱性和缺铁胁迫生理机制初探和迎红杜鹃的研究[D].北京:中国农业大学,1999.
- [7] 孙振元,徐文忠,赵梁军,等.高 pH 值和铁素对毛白杜鹃和迎红杜鹃根系 Fe^{3+} 还原酶活性的影响[J].核农学报,2005(6):456—460.
- [8] 张士亮,俞玖.迎红杜鹃萌蘖条不定根起源和形态发生的研究[J].北京林业大学学报,1998,3(2):48—50.

Study of the rapid propagation technic of *Rhododendron mucronulamm Turcz* by tissue culture

ZHOU Lan¹, CAO Hou-nan^{2*}, SUN Bo², HE Wei², YU Qiu-yan²

(1. Research Institute of Agricultural Science of Yanbian, Longjing Jilin 133400, China;

2. Horticultural Department, Agricultural Colloege of Yanbian University,

Longjing Jilin 133400,China)

Abstract: The best disinfection time of water cultured explant and current shoot of *Rh. mucronulamm Turcz* were 2 min and 5 min. The best primary culture medium was improved MS + ZT 5.0 mg/L + NAA 0.05 mg/L + sucrose 30 g/L + agar 6.5 g/L (pH is 5.0), the differentiation rate was 87.45%; subculture medium was improved MS + ZT 1.0 mg/L + NAA 0.1 mg/L, shoot multiplication coefficient and increased height was 8.94 and 1.88 cm, respectively; the best rooting conditions were 1/4 improved MS + IBA 0.5 mg/L + sucrose 20 g/L, rooting rate reached 93%; the best way for domestication was transplanted in turfy soil : humus soil : river sand = 1 : 2 : 1 after training in the sand for 10 days, the survival rate reached 92.45 %.

Key words: *Rh. Mucronulatum Turcz*; tissue cultur; rapid propagation