

高山杜鹃离体快繁技术研究

王吉¹, 张守琪¹, 张志勇¹, 胡相伟¹, 李毅², 何芳兰²

(1. 甘肃省兰州市林木种苗繁育中心, 甘肃兰州 730085; 2. 甘肃农业大学林学院, 甘肃兰州 730070)

摘要: 以高山杜鹃茎尖和茎段为外植体进行了诱导和植株再生实验, 结果表明: 茎尖外植体诱导无菌芽效果较好, 相对较优的芽诱导培养基为 R+ZT 2.00 mg/L+NAA 0.05 mg/L; 继代增殖培养基为 R+ZT 2.00 mg/L+GA₃ 1.00 mg/L+IAA 0.5 mg/L; 杜鹃生根培养基为 R+NAA 2.00 mg/L+AC(活性炭)5 g/L, 移栽成活率在 75% 以上。

关键词: 高山杜鹃; 快速繁殖

中图分类号: S685.14 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-1463(2006)08-0011-03

Study on Rapid Propagation of *Rhododendron delavayi* in vitro

WANG Ji¹, ZHANG Shou-qi¹, ZHANG Zhi-yong¹, HU Xiang-wei¹, LI Yi², He Fang-lan²

(1. Center of Forest Breed of Lanzhou City, Lanzhou Gansu 730085, China; 2. College of Forestry, Gansu Agricultural University, Lanzhou Gansu 730070, China)

Abstract: The stem apexes of *Rhododendron delavayi* were used as explants, and the experiment of inducing the plant regeneration was carried out. The proliferation of clump sprouts and the text-tube plantlet rooting chose that best medium for explants induction was R+ZT 2.00 mg/L+NAA 0.05 mg/L, the best proliferation of clump sprouts was R+ZT 2.00 mg/L+GA₃ 1.00 mg/L+IAA 0.50 mg/L, and the best medium for the plantlet rooting was R+NAA 2.00 mg/L+AC(activated charcoal)5 g/L, the transplant survival percent more than 75%.

Key words: *Rhododendron delavayi*; Rapid propagation

高山杜鹃 (*Rhododendron delavayi*) 又名红山茶、马缨花等, 为杜鹃花科杜鹃属的一种常绿灌木, 其以有硕大的花序、鲜艳的色彩、优美的花姿而深受人们的喜爱。目前国内市场上销售的高山杜鹃基本全是从比利时进口, 价格一直居高不下, 种苗市场紧俏, 加之我国至今尚未形成高山杜鹃的规模化商品生产, 种苗的进口量呈逐年上升趋势。针对国内高山

杜鹃种苗奇缺、扦插成活率低而不适应优良品种快速繁育的现状^[1-4], 我们应用组织培养技术进行了高山杜鹃的快速繁殖技术研究, 以期作为优良品种的引进和推广以及工厂化育苗提供依据。

1 材料和方法

1.1 材料

供试材料为从比利时进口的当年生高山杜鹃。

收稿日期: 2006-05-16

作者简介: 王吉(1961-), 男, 甘肃榆中人, 工程师, 主要从事林业生产管理工。联系电话: (0931)6262128。

表 4 2004 年沈单 16 母本 K₁₂ 的物候期记载结果

覆盖方式	物候期 (日/月)						生育期 (d)
	播种期	出苗期	拔节期	大喇叭口期	吐丝期	成熟期	
全膜覆盖	26/4	10/5	4/6	18/6	11/7	13/9	140
条膜覆盖	26/4	12/5	7/6	23/6	17/7	22/9	149

表 3 不同覆盖方式下制种玉米的地温记载^① °C

覆盖方式	不同深度土层的地温					平均
	5 cm	10 cm	15 cm	20 cm	25 cm	
全膜覆盖	27.44	25.78	24.17	23.50	22.76	24.70
条膜覆盖	25.89	24.11	22.51	21.72	20.97	23.04

①表中地温数据为 2a 的 4 月 23 日至 6 月 3 日平均值。

明显, 较条膜覆盖增产 1 732.5 kg/hm², 节水 1 604 m³/hm², 水分利用效率提高了 5.92 kg/(mm·hm²)。

3.2 全地面地膜覆盖栽培技术可以有效的提高玉

米的产量构成因素, 较条膜覆盖穗粒数增加 7.34~48.62 粒, 穗粒重增加 3.22~20.89 g, 千粒重增加 2.93~23.87 g。同时全膜覆盖还可明显提高地温, 缩短制种玉米从播种到出苗的时间, 加快制种玉米的生育进程, 缩短生育期, 使制种玉米的成熟期提前 8~12 d, 为中晚熟玉米品种在河西灌区进行种子生产繁殖提供了有利条件, 扩大制种玉米在河西灌区的适种范围, 是一项适宜在河西灌区玉米种子生产中推广应用的新的节水栽培技术。

(本文责编: 郑立龙)

1.2 试验方法

1.2.1 无菌外植体材料的获得 选取当年生的高山杜鹃茎尖和带单芽茎段作为外植体,将所取材料先用流水冲洗干净,接着在加有适量洗衣粉的水中浸泡 20 min,再用流水冲洗干净,然后将其置于无菌室超净工作台进行灭菌,用 75% 的酒精浸泡 30 s,无菌水冲洗 2 次,再用 1 g/kg 的升汞溶液消毒 12 min,用无菌水冲洗 3 次,并用无菌滤纸吸掉外植体表面余水。接种到不同激素浓度配比的诱导培养基上,观察茎尖与茎段的成芽率。

1.2.2 不同细胞分裂素对高山杜鹃丛芽诱导的影响 丛芽诱导培养基共 9 组配方处理(表 1)。基本培养基为 Read(简写 R,下同),每种配方处理中均加入 NAA 0.05 mg/L,细胞分裂素浓度分别为:6-BA 1.00 mg/L、2.00 mg/L、3.00 mg/L,激动素 KT 1.00 mg/L、2.00 mg/L、3.00 mg/L,玉米素 ZT 1.00 mg/L、2.00 mg/L、3.00 mg/L。每个处理均接种 20 瓶,每瓶接 1 个外植体。培养 40 d 以后,统计丛芽诱导率。培养基的琼脂用量为 5 g/L,蔗糖用量为 30 g/L,pH 为 5.5~5.8,培养室的温度为(25±1)℃,光照为 12~14 h/d,光照强度为 2 000 Lx(下同)。

1.2.3 不同细胞分裂素对高山杜鹃丛芽增殖的影响 继代增殖培养基共 7 组配方处理(表 2),基本培养基为 R,每种配方处理中均加入 GA₃ 1.00 mg/L 和 IAA 0.50 mg/L,细胞分裂素浓度分别为:6-BA 1.00 mg/L、2.00 mg/L,KT 1.00 mg/L、2.00 mg/L,ZT 1.00 mg/L、2.00 mg/L、3.00 mg/L。将诱导出的丛生芽进行分割,并转入到增殖培养基中,每个处理接种 30 瓶,每瓶接种 1 个带芽的愈伤组织块。培养 40 d 以后,统计增殖倍数及小苗的发育情况。

1.3 生根培养

将高山杜鹃 2~3 cm 高的组培无根苗从基部切下,接种到生根培养基 R+NAA 2.00 mg/L+AC(活性炭)5 g/L、1/2 MS+NAA 2.00 mg/L+AC 5 g/L、1/4 MS+NAA 2.00 mg/L+AC 5 g/L、1/8 MS+NAA 2.00 mg/L+AC 5 g/L 上,每处理接种 100 株小芽,培养 40 d 后统计小芽生根率及根系发育情况。

1.4 生根苗的驯化移栽

当试管苗根长 1~2 cm 时在温度为 25~30℃ 条件下光培炼苗 2~3 d,然后打开瓶口驯化 7 d。取出试管苗,洗去根部培养基,移入蛭石与泥炭土按 1:1 比例混合配制的栽培基质中,栽苗后将基质轻轻压实,浇足水并用塑料薄膜罩盖,相对湿度保持在 85% 以上,移栽 7 d 后,追施 R 培养液,其浓度视苗的大小,逐渐由 1 g/kg 提高到 3 g/kg 左右,每隔 7 d 喷 1 次 70% 百菌清可湿性粉剂 1 000 倍液进行保苗。移栽 40 d 后揭去塑料薄膜,调查移栽成活率。

2 结果与分析

2.1 外植体的选择

将消毒好的茎尖和带单芽茎段接种到不同的诱导培养基上 8 d 后,茎尖和茎段开始萌动,30 d 后在相同培养基上茎尖诱导成芽率明显高于茎段。因此,初代培养以选取茎尖作外植体为好。

2.2 不同细胞分裂素对高山杜鹃丛芽诱导率的影响

从表 1 看出,添加不同细胞分裂素的培养基对高山杜鹃丛芽的诱导结果差异较大,在添加 6-BA 的 1~3 号培养基上,外植体的褐化死亡率较高,为 80%~90%,无从生芽诱出;在添加 KT 的 4~6 号培养基上,虽然褐化死亡率比添加 6-BA 处理的有所下降,同时有一定的愈伤组织产生,但仍不能诱导出丛生芽或侧芽;而在添加 ZT 的 7~9 号培养基上,不仅褐化死亡率较低,为 10%~35%,而且均有丛生芽或侧芽产生,诱导率为 65%~90%。在 ZT 添加浓度为 1.00~3.00 mg/L 时,其诱导率、诱芽系数随 ZT 浓度的升高而增加,以在培养基 R+ZT 3.00 mg/L+NAA 0.05 mg/L 上诱导率最高,为 90%。可见,在丛生芽诱导过程中采用活性较强的 ZT,并适当提高 ZT 的浓度,有利于其丛生芽的产生,这与杨乃博等人的研究结果一致^[5-7]。

表 1 不同细胞分裂素对高山杜鹃丛芽诱导的影响

编号	培养基 ^①	接种芽数(个)	褐化死亡率(%)	诱导率(%)	幼芽系数
1	R+6-BA 1.00+NAA 0.05	20	80	0	0
2	R+6-BA 2.00+NAA 0.05	20	90	0	0
3	R+6-BA 3.00+NAA 0.05	20	85	0	0
4	R+KT 1.00+NAA 0.05	20	70	0	0
5	R+KT 2.00+NAA 0.05	20	75	0	0
6	R+KT 3.00+NAA 0.05	20	80	0	0
7	R+ZT 1.00+NAA 0.05	20	35	65	3.1
8	R+ZT 2.00+NAA 0.05	20	20	80	4.0
9	R+ZT 3.00+NAA 0.05	20	10	90	5.6

①激素浓度单位均为 mg/L(下表同)。

2.3 不同细胞分裂素对高山杜鹃丛生芽增殖的影响

从表 2 可知,在选用的 3 种细胞分裂素中,ZT 对高山杜鹃的增殖效果较好,在供试浓度范围内,随着 ZT 浓度的升高,增殖倍数也提高,当 ZT 浓度为 3.00 mg/L 时,增殖倍数达到 9 倍,但试管苗细长瘦弱,叶色淡,且有部分呈玻璃化(叶色淡而半透明);而 6-BA、KT 对高山杜鹃的增殖效果较差,但小苗发育较健壮。综合考虑增殖倍数和小苗发育情况,认为以 R+ZT 2.00 mg/L+GA₃ 1.00 mg/L+IAA 0.50 mg/L 培养基继代增殖较好。当小苗增殖到需

表2 细胞分裂素对高山杜鹃增殖率及小苗发育的影响

编号	培养基	接种芽数 (个)	增殖倍数 (%)	小苗发育情况
1	R+6-BA 1.00+GA ₃ 1.00+IAA 0.5	30	1.5	健壮
2	R+6-BA 2.00+GA ₃ 1.00+IAA 0.5	30	2.0	健壮
3	R+KT 1.00+GA ₃ 1.00+IAA 0.5	30	2.0	健壮
4	R+KT 2.00+GA ₃ 1.00+IAA 0.5	30	3.0	健壮
5	R+ZT 1.00+GA ₃ 1.00+IAA 0.5	30	5.6	一般
6	R+ZT 2.00+GA ₃ 1.00+IAA 0.5	30	8.6	一般
7	R+ZT 3.00+GA ₃ 1.00+IAA 0.5	30	9.0	较细弱(部分玻璃化)

表3 不同培养基对高山杜鹃组培苗生根的影响

编号	培养基	接种芽数 (个)	生根率 (%)	根数 (条)	苗况
1	R+AC 5 g/L+NAA 2.00	100	75	>5	苗壮、叶大
2	1/2MS+AC 5 g/L+NAA 2.00	100	40	>5	苗较壮,叶中等
3	1/4MS+AC 5 g/L+NAA 2.00	100	35	>3	苗较细弱
4	1/8MS+AC 5 g/L+NAA 2.00	100	18	<3	根细苗弱

要的数量时应使用 R+KT2.00 mg/L+GA₃1.00 mg/L+IAA 0.50 mg/L,以便使小苗生长健壮。

2.4 不同培养基对高山杜鹃组培苗生根率的影响

由表3可知,1号生根培养基上的生根率最高,达75%,且根数多,苗壮、叶大;其次为2号培养基,生根率为40%,根数多,苗较壮、叶中等;4号培养基的生根率最低,且根细苗弱。因此高山杜鹃相对较适宜的壮苗生根培养基为R+AC 5 g/L+NAA 2.00 mg/L。由于在所采用的生根培养基中,除了基本培养基有区别外,其余因素均相同,因此生根率及根系发育的不同主要是基本培养基影响所致,表明Read基本培养基较适宜高山杜鹃试管苗的生根。

2.5 组培苗的移栽成活率

实验结果表明,试管苗的生根数及生根质量是影响其移栽成活率的关键。1号和2号生根培养基得到的生根苗移栽成活率比较高,多数可达到75%以上,而3号和4号生根培养基上得到的生根苗移栽成活率比较低,不到50%,生长情况也不理想。

3 小结与讨论

3.1 对高山杜鹃快繁研究结果表明,以茎尖作外植体诱导无菌芽效果较好,相对较优的芽诱导培养基为R+ZT 2.00 mg/L+NAA 0.05 mg/L;继代增殖培养基为R+ZT 2.00 mg/L+GA₃ 1.00 mg/L+IAA 0.50 mg/L;壮苗生根培养基为R+NAA 2.00 mg/L+AC(活性炭)5 g/L,移栽成活率75%以上。

3.2 在1.00~3.00 mg/L浓度下,随着培养基中ZT浓度的提高,丛生芽增殖倍数也相应提高,但试管苗细长细弱,而添加2.00 mg/L KT的培养基增殖率虽较低,但试管苗生长粗壮。因此,当试管苗繁殖达到一定数量时,可以改用2.00 mg/L KT代替ZT,以提高试管苗的质量。

3.3 高山杜鹃继代增殖培养中,对细胞分裂素的要求比初代培养有所下降,虽然增殖效应仍随ZT用量的增加而上升,但已不如初代培养时那么明显^[8]。为了加快高山杜鹃的繁殖速度,提高丛生芽的增殖率,除使用活性较强的ZT外,加入适量的GA₃和IAA也有一定的促进作用。

3.4 与其它植物不同,高山杜鹃在壮苗生根培养中要求无机盐的浓度较高,蔗糖的用量应保持在30 g/L水平,生长素NAA的添加量以1.50~2.00 mg/L为佳,同时加入活性炭,有利于促进高山杜鹃小苗个体的发育和壮苗生根^[9~10]。

参考文献:

- [1] 朱红. 海外园林专版[N]. 中国花卉报, 2003-03-18(4).
- [2] 曹致义. 实用组织培养技术教程[M]. 兰州: 甘肃科学技术出版社, 1996.
- [3] 钟宁, 张健, 罗承德, 等. 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(2): 141~143.
- [4] 阙国宁. 西洋杜鹃嫩梢试管繁殖[J]. 植物生理学通讯, 1985, (4): 39.
- [5] 陈云志, 何小弟, 蒋佩尧, 等. 杜鹃的组织培养[J]. 江苏农学院学报, 1985, 6(3): 2~4.
- [6] 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.
- [7] 陈震光. 福建名贵杜鹃的茎尖培养快速繁殖[J]. 福建果树, 1984, (2): 28~29.
- [8] 陈振光. 园艺植物离体培养学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1995.
- [9] 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, 1997.
- [10] 裴文达. 园艺植物组织培养[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1984.

(本文责编:刘润萍)