

高山杜鹃组培快繁技术体系研究

汤桂钧¹, 覃娟²

(1. 上海市闵行区农业科学研究所 上海 201109; 2. 上海交通大学 农业与生物学院, 上海 200240)

摘要:以高山杜鹃嫩芽茎段为外植体,掌握高山杜鹃组织培养快速繁殖技术体系。对高山杜鹃进行初代培养、继代增殖培养、生根培养和试管苗假植练苗,筛选出高山杜鹃的最佳组织培养的培养基配方及摸索出快速繁殖的适宜条件。结果表明:最佳的发生培养基为 1/4MS+MS 铁盐+1/10MS 微量元素+VB5+水解乳蛋白 500 mg/L+蔗糖 30 g/L+ZT 2 mg/L+琼脂 6 g/L,发生率为 81%;继代增殖培养基同发生培养基,最佳的增殖率为 1:5;试管苗的生根培养基为珍珠岩+泥炭+自制生根粉,生根率达 96%,试管苗练苗成活率达 98%。

关键词:高山杜鹃;嫩芽茎段;微繁殖技术

中图分类号:S 685.21 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2009)03-0114-03

高山杜鹃(*Rhododendron delavayi*)是杜鹃花科杜鹃属灌木类高档观赏植物,原产我国华东、华南及中西部地区的高山密林中,后由德国、比利时等引种栽培驯化,并改良选育出许多优良品种。高山杜鹃花色繁多,花期长,色彩艳丽,四季常绿,自然花期在 4~5 月,经人工催花可至 1~2 月开花,可作春节前后年宵花中珍品上市,近年来已逐渐成为盆花中的珍贵花卉受到我国南北大中城市花卉爱好者的青睐。随着人们生活水平的提高,其特有的品质越来越受到众多的苗艺公司和广大消费者的青睐,市场需求量很大,具有广阔的市场开放前景^[1]。

高山杜鹃枝粗叶少,无种子,通常靠扦插繁殖,但生长周期长,繁殖系数低,扦插成活率低,同时受母株材料和繁殖季节影响,常规的繁殖方法无法满足高山杜鹃目前的需求^[1]。应用组织培养技术进行繁殖,具有繁殖速度快,不受季节影响等特点,对于优良品种的引进和规模化繁殖具有重要意义,该试验应用组织培养技术对高山杜鹃种苗进行快速繁殖,以实现种苗的规模化生产。

1 试验材料

高山杜鹃引进德国种苗,品种花色为大红、粉红、亮红、兰紫色等,栽植于上海市闵行区农业科学研究所,生长良好。试验的外植体取尚未木质化的枝条上的嫩芽茎段,包括茎段、茎尖。试验培养条件为:温度(23±1)℃,光照 12 h/d,光强 2 000~3 000 lx。

2 试验方法

2.1 初代培养

第一作者简介:汤桂钧(1953-),男,高级农艺师,研究方向为园林植物微繁技术。

基金项目:上海市委重大资助项目(06DZ19130)。

收稿日期:2008-10-22

社,2003:259-260。

[4] 熊丽,吴丽芳.观赏花卉的组织培养及大规模生产[M].北京:化学工

业出版社,2003:98-99。

[5] 张彦萍.设施园艺[M].北京:中国农业出版社,2002:25-26。

Tissue Culture of *Chrysanthemum Indicum* L. Young Stems

HAN Lei, QIN Xiao-jie, WANG Hong-bo, ZHAO Cong-kai, FANG Shi-mei
(Weifang Vocational College, Weifang, Shandong 261041, China)

Abstract: Under optimal culture conditions, young stems of *Chrysanthemum indicum* L. were used as explants. Plant regeneration grew well on MS medium through tissue culture. The surviving rate of the young regenerated plantlets reached 100% after being hardened and transplanted to soils. They were strong growth. Their stems were strong, and their leaves were darkened in color. The results showed that expanding propagation of *Chrysanthemum indicum* L. through tissue culture was simple.

Key words: *Chrysanthemum indicum* L.; Young stem; Tissue culture

初代培养是观赏植物组织培养快速繁殖过程的基础,也是决定培养成功与否的关键,其目的是建立无菌材料,并使外植体发育起来^[5]。试验选取尚未木质化的嫩芽茎段作外植体,选择最适的组织培养条件。

2.1.1 外植体处理 当新芽生长至 6 cm,枝条尚未木质化,叶片刚转绿平展后,将整条枝条剪下,剪去叶片,在自来水龙头冲洗 10 min,再用洗洁精洗涤 3 次,用滤纸沥干备用。在无菌室超净台上用“三步法”消毒灭菌:第一步用 75%酒精消毒 1 min;第二步用 1:50 新洁尔灭液消毒 20 min;第三步用 0.1%氯化汞消毒 15 min,最后用无菌蒸馏水冲洗 3 遍沥干^[3]。

2.1.2 无菌材料建立 外植体经严格消毒清洗后,在超净台上剥取茎尖(长度 0.5~1 mm),在切下带茎尖的顶端后,余下的嫩芽茎段切成 1 cm 的茎段(每段带 1~3 个腋芽节)。试验配置 3 种发生培养基:高发 1: 1/4MS+MS 铁盐+1/10MS 微量元素+VB5+水解乳蛋白 500 mg/L+蔗糖 30g/L+ZT 2 mg/L;高发 2: MS₀(即 MS 全量不添加任何激素);高发 3: 1/2MS+KT 2 mg/L(MS 中铁盐及糖不减半),上述发生培养基重复 3 次,从中筛选适合的发生培养基配方。外植体接种后,放置培养室恒温培养,温度(23±1)℃,光照 12 h/d,光强 2 000 lx,培养 30 d 后观察统计各培养基配方下的发生率。

2.2 继代增殖培养

在初代培养基础上,获得的芽、苗数量有限,不能充分发挥组织培养快速繁殖的优势,需经继代繁殖以获取大量增殖材料。继代培养外植体为初代培养所得的茎段。继代增殖培养主要是愈伤组织途径的增殖培养。经初代培养获得的无菌且带腋芽的茎段和芽转接到分化培养基上,进行增殖培养^[5]。在外植体发生成功后,待幼苗长至 1 cm 以上时,即转入继代增殖培养阶段,每隔 30 d 增殖 1 次。试验表明,开始阶段,新芽生长缓慢,2 个月后,侧芽才开始生长,故为促进侧芽生长,继代培养仍用“高发 1”的发生培养基配方。培养室温度控制在 23℃,光照 12 h/d,光强提高为 3 000 lx,以促进试管苗生长。侧芽增殖系数同植株长势矛盾的,为达到苗壮苗齐及防止变异的目的,确定一个合理的繁殖系数是必要的。资料表明,增殖率并非越高越好,在过高增值率下苗细弱,生长势差,退化快,产量低质量差。该试验在同样光照条件下,进行不同增值率的对比,设置了 4 种处理,分别是 1:3、1:5、1:7、1:9,观察试管苗的生长情况^[4]。

2.3 生根培养

当增殖达到一定数量后,将长度达到 3 cm 叶片、4 叶以上、叶色深绿、健壮的幼苗转至生根培养基上生根成苗。但为了保证种苗生长健壮,提高生根率,在转入生根培养基时,须进行 30 d 的壮苗过渡,其培养基为

MS₀,即全量元素配方,不添加任何激素,经壮苗后再转至生根培养^[2]。该试验共配置了 14 种培养基配方(见表 2)作生根培养对比试验。每个处理接种 100~120 株苗,培养 15 d 观察生根情况,25 d 统计生根数和生根率,3 次重复,培养室温度控制在 23℃,光照时间 12 h/d,光强提高为 2 500 lx。

2.4 试管苗驯化

试验采用试管苗二步练苗技术。第一步,试管苗移入泥炭+珍珠岩基质中,比例 1:1,浇足水后塑料薄膜覆盖 1 周,保湿控温保存,每天根据天气情况叶面喷雾 2~3 次,防止失水萎蔫。1 周揭开塑料薄膜逐步练苗,根据基质干湿情况适当浇水,一般保持基质持水量的 70%,过湿易烂苗,过干不利生长。15 d 后施营养液,一般用 0.2% NH₄NO₃+0.2% KH₂PO₄作叶片喷雾,结合浇水用 0.1%浓度根际浇洒,促进幼苗正常生长。温室温度控制在 25~28℃(冬季 12~15℃),移苗时间以 2~5 月、9~11 月较好,活棵快,存活率高,此第一步育苗期为 2 个月。第二步,将幼苗拔起,移入塑料穴盘中(一般 72 穴),育苗基质为泥炭+珍珠岩,配比为 3:1,此阶段以保健壮生长为主,育苗棚内空气相对湿度保持 60%,温度夏、秋季 25~28℃,绝对高温不超过 30℃,冬、春季 15~25℃。水分管理上保持基质不发白,不湿粘,持水量 65%~70%。每 15 d 左右施 1 次营养液,用 0.1% NH₄NO₃和 KH₂PO₄喷洒。此阶段育苗期约为 2 个月。

3 结果与分析

3.1 初代培养

在外植体(茎段、茎尖)接种 10 d 时,首先在嫩茎段上腋芽开始萌发生长,15 d 时已长至 0.2~0.5 cm,有的茎段甚至长有 3 个腋芽。培养 30 d 观察,新芽已长至 1 cm 以上,茎段腋芽发生率达到 38%,45 d 观察腋芽发生率达 81%。

表 1 外植体发生培养基比较试验结果

配方编号	接种瓶数	发芽瓶数	发生率/%
高发 1	90	35	38.8
高发 2	90	3	3.3
高发 3	90	10	11.1

由表 1 可知,外植体发生培养基配方经 3 次重复试验后,筛选出“高发 1”配方,即 1/4 MS+MS 铁盐+1/10MS 微量元素+VB5+水解乳蛋白 500 mg/L+蔗糖 30 g/L+ZT 2 mg/L。此配方具有发生速度快及发生率高的特点,其他两种配方无论在发生速度及发生率上均不如“高发 1”配方。

在茎尖培养中,外植体生长速度较慢,15 d 时观察其茎尖仍未伸长,30 d 时观察茎尖刚开始伸长,长度不到 0.5 cm,但发生率很低,只有 10%,由此可得出结论:在发生速度及发生率上,嫩茎段发生培养优于茎尖培

养,这可能是木本植物及双子叶植物所特有的习性。

3.2 继代增殖培养

通过不同的增殖率的种苗生长对比试验可知,在增殖率超过1:7时,瓶苗细长,叶片小,叶色淡,且有“玻璃苗”现象,不利于幼苗的生根及质量的提高。在1:3时虽瓶苗长势较好但是繁殖的系数太小,因此1:5的增殖率是较合适的。在此增殖率下,瓶苗矮壮,叶色深绿,叶面积较大。

表2 高山杜鹃生根培养基配方比较试验

配方 编号	配方组成	接种苗数 /株	生根数 /株	生根率 /%
1	1/2MS+NAA 0.5 mg/L	100	0	0
2	1/2MS+NAA 1 mg/L	100	0	0
3	1/2MS+NAA 2 mg/L	100	0	0
4	1/2MS+NAA 4 mg/L	100	21	21
5	1/2MS+NAA 5 mg/L	100	35	35
6	1/2MS+IBA 0.5 mg/L	100	93	93
7	1/2MS+IBA 1 mg/L	100	80	80
8	1/2MS+IBA 2 mg/L	100	78	78
9	1/2MS+IBA 4 mg/L	100	35	35
10	1/2MS+IBA 5 mg/L	100	30	30
11	1/2MS+NAA 10 mg/L+珍珠岩	100	76	76
12	1/2MS+NAA 10 mg/L+活性炭 0.5%	100	95	95
13	1/2MS+NAA 10 mg/L+珍珠岩+泥炭	100	61	61
14	珍珠岩+泥炭+自制生根粉	100	91	91

3.3 生根培养

生长素对组培中外植体不定根的诱导有着比较显著的作用。通过对不同生长素作用效果差异的研究发现NAA和IBA应用比较广泛,不仅促进生根效果好,而且根的进一步生长较正常^[9]。由表2可知,经过3周的培养,发现6、12、14号生根培养基上的生根效果较好,尤以12号为最佳,生根率达到95%。由1~5号对比结果可知,激素B的浓度太低,不利于生根,由6~10号对比结果可知,激素F的浓度低有利于生根,在浓度为0.5 mg/L时生根率达到了93%,随着浓度的升高,生根率下

降,且用激素F的生根效果明显的高于激素B的效果。11~14号培养基均增加了珍珠岩,有利于提高生根培养基的通透性,生根率最高的是12号,达到了95%,其次是14号,生根率为91%,而11和13号的生根率都较低。但12号的苗体比14号的稍瘦些,因此综合考虑,高山杜鹃的最佳生根培养基配方为14号,即珍珠岩+泥炭+自制生根粉,其生根率高,苗体质量好,通透性好,有利于解决木本难生根的问题。

3.4 试管苗驯化

育苗期4个月,总育苗成活率98%,标准穴盘苗出圃时苗高6~8 cm,叶片6~8对,茎粗0.3 cm,叶片青秀,无病虫害,根系发达。

4 结论

高山杜鹃的最佳的发生培养基为1/4MS+MS铁盐+1/10MS微量元素+VB5+水解乳蛋白500 mg/L+蔗糖30 g/L+ZT 2 mg/L+琼脂6 g/L,发生率为81%;继代增殖培养基同发生培养基,最佳的增殖率为1:5;试管苗的最佳生根培养基为珍珠岩+泥炭+自制生根粉,生根率达96%,试管苗练苗成活率达98%。

参考文献

[1] 毛元荣,周根余.杜鹃组织培养研究进展[J].株洲师范高等专科学校学报,2003,8(5):1-5.
[2] 邱璐,梁晓华.杜鹃组织培养研究进展[J].安徽农业科学,2005,33(9):1717-1719.
[3] 苗永美,王永青.大树杜鹃组织培养研究[J].安徽科技学院学报,2007,21(6):23-26.
[4] 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.
[5] 李林蔓,周广柱.金缘连翘组织培养技术的研究[J].北方园艺,2007(5):207-209.
[6] 崔丽华.植物生长调节物质对组织培养中不定芽不定根的作用[J].辽宁师专学报,2000,6(2):97-99.

Study on Micropropagation Technological System of *Rhododendron delavayi*

TANG Gui-jun¹, QIN Juan²

(1. Institut of Minhang Agricultural Science, Shanghai 201109, China; 2. School of Agriculture and Biology, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200240, China)

Abstract: This study took *Rhododendron delavayi* stem apexes as explants to explore *Rhododendron delavayi* rapid propagation tissue culture technology stem. Through early-generation training, following generation multiplication training, training to take root and actually, to select *Rhododendron delavayi*'s best tissue culture medium, and find the most optimum environmental conditions. The results showed: the optimal medium for callus inducement was 1/4MS+MS molysite+1/10MS microelement+VB5+ hydrolyzed lactoprotein 500 mg/L+sucrose 30 g/L+ZT 2 mg/L+agar 6 g/L, and the inductivity reached 81%, the best proliferation of clump sprouts was the same as the callus inducement medium, and the rate of the proliferation was 1:5, the best medium for the plantlet rooting was perlite+Peat+home-made rooting powder, and the rooting rate was up to 96%, the transplant survival percent was 98%.

Key words: *Rhododendron delavayi*; Stem apexes; Micropropagation