

不同生长调节物质对迎红杜鹃组培快繁的影响

孙扬吾, 任雪芹, 朱元娣, 张 文

(中国农业大学 农学与生物技术学院 果树逆境生理与分子生物学北京市重点实验室 北京 100193)

摘 要:以枝条新发的幼梢为外植体, Read 为基本培养基, 研究不同生长调节物质对迎红杜鹃组织培养过程中增殖系数的影响。结果表明: 继代培养中诱导丛生芽最佳培养基为 Read+ZT 5.0 mg/L+IBA 0.5 mg/L+GA₃ 0.5 mg/L, 不定芽再生率 100%, 增殖倍数为 9.53; 采用 Read+ZT 1.5 mg/L+IBA 0.5 mg/L+GA₃ 0.5 mg/L 进行壮苗培养, 效果良好。在添加 0.5 mg/L IBA 和 0.5 mg/L GA₃ 的 Read 基本培养基上, ZT 浓度是促进迎红杜鹃不定芽增殖的关键影响因子, 只有当 ZT 浓度达到 3 mg/L, 才能诱导迎红杜鹃的不定芽分化。

关键词: 迎红杜鹃; 微繁殖; 不定芽增殖; 生长调节物质

中图分类号: S 685.210.36 **文献标识码:** B **文章编号:** 1001-0009(2011)06-0149-03

杜鹃花属(*Rhododendron* Linn.)植物是世界著名的观赏植物, 分布在北温带。我国约 650 种, 其中特有的杜鹃花 420 种, 几乎占世界种类的一半^[1,2]。华西南地区是世界杜鹃花属植物的自然分布中心和原始发源地, 除新疆和宁夏未发现野生杜鹃花外, 其它各省区均有杜鹃花的分布。华北地区的野生杜鹃花有 2 种, 即迎红杜鹃(*Rhododendron mucronujatum* Turcz.)和照山白(*Rhododendron micranthum* Turcz.)^[3]。

迎红杜鹃又名迎山红、蓝荆子、万荆子、尖叶杜鹃等, 为落叶灌木, 株高 1 m 以上, 自然分布于北京郊区山地海拔 1 000 ~ 2 000 m 的阴坡灌丛或稀疏林下, 稍耐荫、喜湿润、喜酸性土壤^[4]。原种花色粉紫至紫红, 早春先花后叶, 花期稍后于山桃而与金钟、连翘同期开放, 盛花期长达 1 个月。秋叶绿红黄相间, 彩叶期长达 2 个月, 是花境、花带、花丛等园林绿地设计的优良乡土树种。杜鹃花通常采用种子、扦插、压条和嫁接方法繁殖, 但受种类或品种、季节、母株材料等因素限制, 难于进行大量的商业化生产^[5,6]。自 1975 年 Anderon 首次成功地建立了山杜鹃(*Rhododendron* xx)的离体培养体系, 组织培养已成为杜鹃花繁殖的重要手段, 广泛应用于种质资源保护、遗传育种和无性系苗木的商业化生产中^[7-9]。

对于特定的杜鹃花种类、品种, 其离体繁殖成功的关键在于基础培养基的选择, 在外植体的诱导和增殖培养中对所添加激素种类及配比的优化, 以及对驯化移栽中环境因子的调控。但是, 由于杜鹃花种类和品种间的差别, 在组织培养过程中继代增殖培养、诱导生根、组培苗的驯化移栽体系的建立, 仍是组织培养中急需解决的问题, 特别是丛生芽和不定芽分化率低的问题, 是组培快繁的瓶颈。目前迎红杜鹃的繁殖以种子繁殖和扦插繁殖为主, 野生的迎红杜鹃观赏性状差异较大, 种子繁殖不利于优良株系的保存, 扦插繁殖又局限于母株材料稀少。因此, 通过研究不同生长调节物质对北京野生迎红杜鹃组织培养快速繁殖的影响, 确定适宜迎红杜鹃增殖的最佳生长调节物质及其浓度配比, 不仅能够提高繁殖系数, 减少繁殖成本, 更能合理地保护和开发利用珍贵的乡土种质资源, 为园林绿化服务。

1 材料与方法

1.1 试验材料

采自北京市房山区霞云岭的野生迎红杜鹃, 春季开花后新梢或 1 a 生枝条, 室内促发新芽为外植体。

1.2 试验方法

1.2.1 外植体消毒及启动培养 外植体在自来水下冲洗 0.5 h 以上, 无菌超净工作台内用 75% 酒精漂洗 30 s, 0.1% 升汞浸泡 5 min, 用无菌水冲洗 3 ~ 5 次, 后用无菌的吸水纸吸去植株表面水分。将消毒后的外植体分别接种在 MS 基本培养基(MS+蔗糖 30 g/L+琼脂 6.5 g/L, pH 5.8)、1/4MS(除了大量元素是 MS 的 1/4, 其它成分同 MS 基本培养基)、Read 基本培养基(Read+蔗糖 30 g/L+琼脂 6.5 g/L, pH 5.0)和启动培养基(Read 基本培养基+ZT 0.5 mg/L+IBA 0.5 mg/L+

第一作者简介: 孙扬吾(1958), 女, 北京人, 现主要从事植物组织培养方面的研究工作。E-mail: a2006055001@163.com。

通讯作者: 张文(1955), 男, 本科, 副教授, 研究方向为果树生长发育系统调控和高效栽培。

基金项目: 北京市科委“科技成果转化”专项资助项目(Z080005032508014)。

收稿日期: 2010-12-31

GA₃ 0.5 mg/L, pH 5.0)4 种培养基上。每种培养接种 30 个外植体, 每隔 10 d 统计外植体生长情况。

1.2.2 外植体的增殖培养 将外植体消毒(方法同上), 然后接种于启动培养基上。培养 30 d 后, 将健壮的幼梢转到增殖培养基上。根据加入的 ZT 浓度的不同, 设计了 5 种增殖培养基: M1: R+ZT 0.5 mg/L+IBA 0.5 mg/L+GA₃ 0.5 mg/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 6.5 g/L, pH 5.0; M2: R+ZT 1.0 mg/L+IBA 0.5 mg/L+GA₃ 0.5 mg/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 6.5 g/L, pH 5.0; M3: R+ZT 1.5 mg/L+IBA 0.5 mg/L+GA₃ 0.5 mg/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 6.5 g/L, pH 5.0; M4: R+ZT 3.0 mg/L+IBA 0.5 mg/L+GA₃ 0.5 mg/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 6.5 g/L, pH 5.0; M5: R+ZT 5.0 mg/L+IBA 0.5 mg/L+GA₃ 0.5 mg/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 6.5 g/L, pH 5.0。每个处理分别接种 30 株。每隔 30 d 继代培养 1 次。统计继代 2 次后每株外植体所萌发的不定芽的发生率、增殖倍数以及不定芽的生长情况。培养条件: 光照培养箱内温度设定 25 ℃, 光照强度 3 000 lx, 12 h/d 光照。

1.2.3 不定芽的壮苗培养 将继代得到的健壮的不定芽接种到壮苗培养基(Read+ZT 1.5 mg/L+IBA 0.5 mg/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 6.5 g/L, pH 5.0)上, 每隔 30 d 继代培养 1 次, 培养 2 代后统计外植体生长情况。

1.3 统计分析

增殖倍数=生长健壮的嫩梢(≥1 cm)数目/外植体数目, 统计结果应用 Spss 10.0 分析软件进行分析。

2 结果与分析

2.1 启动培养基的确定

外植体消毒后分别接种在 MS、1/4MS、Read 基本培养基和启动培养基 4 种培养基上, 经 10 d 培养, 外植体在 MS 基本培养基上全部死亡, 在 1/4MS 和 Read 基本培养基上最初几天生长较好, 但之后很快萎焉。20 d 后, 外植体在启动培养基依然生长良好, 但没有不定芽分化(图 1-A)。结果表明, 添加不同生长调节物质的 Read 培养基对迎红杜鹃的启动培养是必需的。

2.2 不同生长调节物质对迎红杜鹃增殖培养的影响

启动培养后将健壮的侧芽转接到 5 种不同的增殖培养基上培养。统计不定芽的发生率、增殖倍数以及不定芽的生长情况, 结果见表 1。继代培养 2 代以后, 在 M1~M3 中未见有不定芽的分化, 外植体生长缓慢; 在 M3 中不定芽发生率仅为 10%, 但不定芽生长健壮(图 1-B); 在 M5 中不定芽发生率为 100%, 并且增殖倍数很高, 平均增殖 9.53 倍, 但丛生芽生长较细弱(图 1-C)。结果表明, 在添加 0.5 mg/L IBA 和 0.5 mg/L GA₃ 的 Read 基本培养基上, ZT 浓度是促进北京野生迎红杜鹃

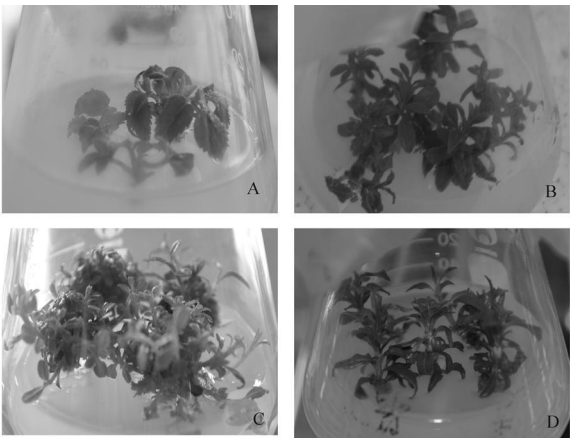


图 1 不同培养基对迎红杜鹃组培苗生长的影响
注: A: 启动培养基上外植体的生长情况; B: M4 对迎红杜鹃增殖培养的影响; C: M5 对迎红杜鹃增殖培养的影响; D: M3 上对不定芽进行壮苗培养。

组培快速增殖的关键影响因子, 低浓度的 ZT 不能诱发不定芽的分化, 高浓度 ZT 能提高迎红杜鹃的继代增殖倍数, 但组培苗生长随着 ZT 浓度升高而变细弱。

表 1 不同的培养基配方对迎红杜鹃增殖培养的影响

编号	接种苗数/株	产生丛生芽的苗数/株	不定芽发生率/%	增殖倍数	不定芽生长状况
M1	30	0	0	0	/
M2	30	0	0	0	/
M3	30	0	0	0	/
M4	30	3	10	1.33±1.29 *	丛生芽健壮
M5	30	30	100	9.53±1.98 *	丛生芽较细弱

注: * 增殖倍数=平均值±标准差

2.3 不定芽的壮苗培养

为了提高不定芽的生根诱导培养, 将从 M5 继代培养得到的不定芽分别接种于 M2、M3 和 M4 上进行壮苗培养。1 个月后 M3 培养基上小植株生长优于 M2 和 M4 培养基, 株高和粗度明显增加(图 1-D), 说明添加低浓度的 ZT 利于组培苗的健壮生长。

3 结论与讨论

北京野生杜鹃花属组培适宜的基础培养基为低盐组份的培养基, 如该试验 1/4MS 和基本的 Read 培养基。Read 培养基减少了 NH₄NO₃ 和 KNO₃ 的用量、增加入 (NH₄)₂SO₄使 NH₄⁺:NO₃⁻ 为 1:1, 同时去除碘化钾

(KI), 将培养基的 pH 降至 5.0 更适于耐寒落叶杜鹃^[1]的培养。该试验在迎红杜鹃的启动培养过程中没有发现褐化现象, 但是启动培养基在不添加任何生长调节物质的情况下外植体很难成活。因此, 野生迎红杜鹃组培快繁的启动培养基一定要添加一定浓度的生长调节物质, 以诱导外植体成活与分化。

诱导不定芽分化是迎红杜鹃组培快繁体系中的关键步骤, 不同生长调节物质对不定芽分化影响很大。该试验中在添加 0.5 mg/L IBA 和 0.5 mg/L GA₃ 的 Read 基本培养基上, 随着 ZT 浓度升高, 不定芽分化率增大, 但不定芽生长变细弱。当 ZT 浓度为 5.0 mg/L 时增殖倍数很大, 约为 9.53 倍, 适合迎红杜鹃组培继代培养。但是细弱的组培苗难于诱导生根, 很多植物快繁体系中壮苗培养不可或缺^[11-12]。该试验利用 ZT 浓度为 1.5 mg/L、IBA 0.5 mg/L 和 GA₃ 0.5 mg/L 的 Read 培养基进行壮苗培养, 组培苗生长健壮, 可以进行下一步的生根诱导培养。因此, 利用该试验探索得到的 2 种适合迎红杜鹃继代增殖和不定芽壮苗的培养基配方, 将可以顺利地通过直接不定芽发生的方式实现迎红杜鹃的快速繁殖。对于迎红杜鹃野生资源保护和大规模的商业化生产是一种很好的方法。

参考文献

[1] 贺士元 刑其华 尹祖棠. 北京植物志(下册)[M]. 北京: 北京出版社, 1992.

[2] 朱春艳 李志炎 鲍淳松, 等. 我国杜鹃花资源的保护与开发利用[J]. 中国野生植物资源, 2007(26): 28-30.

[3] 徐娟 田艳丽 赵丽波, 等. 兴安杜鹃、迎红杜鹃播种繁殖技术的研究[J]. 国土与自然资源研究, 2009(3): 87-88.

[4] 钟宇 张健 罗承德, 等. 西洋杜鹃组织培养技术体系研究(1)基本培养基和外植体的选择[J]. 四川农业大学学报, 2001(19): 141-143.

[5] 朱春艳 李志炎 鲍淳松, 等. 云锦杜鹃组培快繁技术研究[J]. 中国农学通报, 2006(22): 335-337.

[6] 郁永英 张志军 刘桂英. 野生兴安杜鹃和迎红杜鹃的园林应用[J]. 国土与自然资源学报, 2009(3): 78-79.

[7] 张晓雅 孙红梅 田颖辉. 杜鹃组织培养技术研究进展[J]. 北方园艺 2006(4): 76-77.

[8] 张艳红. 我国杜鹃花的繁育研究进展[J]. 安徽农业科学, 2007(35): 7170-7172.

[9] Anderson W C. A revised tissue culture medium for shoot multiplication of rhododendron[J]. Journal of the American Society for Horticultural Science 1984, 109(3): 343-347.

[10] Economou A S, Read P E, Spanoudaki M J. Azalea regeneration from callus culture[J]. Acta horticulturae, 1988, 226(1): 209-216.

[11] 颜昌敬. 植物组织培养手册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1990: 81.

[12] 黄慧莲 刘贤旺 吴祥松, 等. 金线莲无根苗的壮苗促根试验研究[J]. 中国野生植物资源, 2001, 20(6): 24, 76-77.

Effect of Different Plant Growth Regulators on Rapid Micropropagation of *Rhododendron mucronujatum* Turcz

SUN Yang-wu, REN Xue-qin, ZHU Yuan-di, ZHANG Wen

(College of Agriculture and Biotechnology, China Agricultural University, Key Laboratory of Beijing Municipality's Stress Physiology and Molecular Biology for Fruit Trees, Beijing 100193)

Abstract: The young shoots were used as explants on the basic Read medium to explore the effects of different plant growth regulators on shoot multiplication. The results showed that the most suitable medium for shoot proliferation was the Read medium supplementing with 5.0 mg/L ZT, 0.5 mg/L IBA, and 0.5 mg/L GA₃. The regeneration rate of adventitious shoots reached 100 % and the multiple of proliferation was 9.53. The Read medium supplementing with 1.5 mg/L ZT, 0.5 mg/L IBA, and 0.5 mg/L GA₃ was preferable to strengthen the vigor of plantlets. Therefore, the concentration of ZT was the key factor for shoot multiplication of the *Rhododendron* species 'Yinghong'. Only when the concentration of ZT was added to 3.0 mg/L, adventitious shoots can be induced efficiently.

Key words: *Rhododendron mucronujatum* Turcz; micropropagation; shoot proliferation; plant growth regulator