

# 兴安杜鹃叶片离体培养技术研究

周金梅, 叶 飞, 建德锋

(吉林农业科技学院, 吉林 吉林 132101)

**摘 要:**以兴安杜鹃的叶片为外植体, 研究其离体培养技术。结果表明: 最佳愈伤组织诱导培养基为 1/4Anderson+2,4-D 1 mg/L+TDZ 0.1 mg/L, 最佳芽诱导培养基为 1/4Anderson+IBA 0.1 mg/L+TDZ 1 mg/L+2-IP 0.5 mg/L, 最佳生根培养基为 1/4Anderson+IBA 2 mg/L 或 1/4 Anderson+NAA 0.1 mg/L。

**关键词:**兴安杜鹃; 叶片; 培养基; 离体培养

**中图分类号:**S 685.21 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)21-0098-03

兴安杜鹃(*Rhododendron dauricum* L)为杜鹃花科杜鹃花属半常绿灌木, 又称满山红、达子香、达达香等, 主要分布于黑龙江、吉林和内蒙东部、辽宁东部山区及大、小兴安岭<sup>[1]</sup>。花期 5~6 月, 花色为紫红色, 开花时节非常美丽, 如火如荼, 似锦似霞, 在园林中用途比较广泛, 可片植、孤植形成美丽景观, 也是岩石园造园的上等材料。目前兴安杜鹃常见的繁殖方法有播种、分株、嫩枝扦插, 但由于其种子极小, 播种繁殖比较困难, 而分株繁殖的繁殖系数比较低, 不能短期内提供大量苗木, 嫩枝扦插繁殖的环境管理要求比较高, 造成目前生产中的成活率不高。因此, 该试验尝试采用离体繁殖技术来进行兴安杜鹃苗木的繁育, 为园林应用快速、高效、大量提供苗木奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

2011 年 8 月于吉林农业科技学院植物园内挑选生长健壮、无病虫害的兴安杜鹃植株, 采集叶片, 装入玻璃瓶中带回实验室。

### 1.2 试验方法

1.2.1 材料处理 将采集的叶片先用清水冲洗干净, 然后放在流水下冲洗 10 min, 沥干水后放入 75%酒精中消毒 30 min, 蒸馏水冲洗干净后放入接种室超净工作台面, 接种前用 0.1%的升汞消毒 30 min, 蒸馏水冲洗 4

次。在超净台内将叶片切割成 0.5 cm 小块进行接种<sup>[2]</sup>。

1.2.2 培养过程 叶片切块后接入愈伤组织诱导培养基上, 每瓶接入 30 块, 5 次重复, 15 d 后统计愈伤组织诱导情况; 将形成的愈伤组织切块后接入芽诱导培养基上, 每瓶 30 块, 5 次重复, 15 d 后统计芽诱导情况; 根据愈伤组织诱导和芽诱导情况, 在得出的最佳培养基配方上进行增殖扩繁, 待扩繁得到大量的芽时, 将芽切割转入生根培养基上, 30 d 左右观察生根情况<sup>[3]</sup>。

1.2.3 培养基配方 整个培养过程均采用 1/4Anderson 作为基本培养基, 愈伤组织诱导培养基中添加不同浓度的 TDZ、ZT、2,4-D、NAA, 设定 8 种配比(表 1); 芽诱导培养基中添加不同浓度的 TDZ、2-IP、ZT、IBA, 设定 12 种配比(表 2); 生根培养基中添加不同浓度的 IBA、NAA, 设定 8 种配比(表 3)。以上配方中均添加蔗糖 30 g/L, 琼脂 6 g/L, pH 4.8<sup>[4-5]</sup>。

1.2.4 培养条件 培养室湿度控制在 80%; 温度控制在 23~27℃; 光照时间 12 h/d, 光照强度 3 000 lx。

## 2 结果与分析

### 2.1 愈伤组织诱导情况

由表 1 可知, 8 种愈伤组织诱导培养基上的诱导情况各不相同, 当 TDA 和 ZT 浓度相同时, A1>A2, A3>A4, A5>A6, A7>A8, 说明添加 2,4-D 对于愈伤组织的诱导效果要优于 NAA; 而针对于 TDZ, A1、A2 均大于 A3、A4, 针对于 ZT, A5、A6 均大于 A7、A8, 说明 TDZ 和 ZT 低浓度的效果均优于高浓度, 综合比较, A1 的诱导率最高, 其次为 A5, 从生长状况上可以看出, A1 和 A5 的生长状况最好, 生长优良, 愈伤组织致密, 颜色纯正。综合比较得出, 在愈伤组织诱导阶段, 采用 1/4Anderson+2,4-D 1 mg/L+TDZ 0.1 mg/L 配方效果最好, 诱导率达到 99%, 诱导出的愈伤组织生长状况最好。

**第一作者简介:**周金梅(1976-), 女, 吉林省吉林市人, 硕士, 讲师, 研究方向为园艺植物育种与栽培。E-mail:82642444@qq.com。

**责任作者:**建德锋(1974-), 男, 河南灵宝人, 硕士, 副教授, 现主要从事园艺植物繁育方面的教学与科研工作。

**基金项目:**吉林省教育厅“十二五”科学技术研究资助项目(吉教科合字(2011)第 279 号)。

**收稿日期:**2012-06-08

表 1

不同配方中愈伤组织诱导情况

编号	配方	诱导率/%	生长情况
A1	1/4Anderson+2,4-D 1 mg/L+TDZ 0.1 mg/L	99	生长优良,愈伤组织致密,黄绿色
A2	1/4Anderson+NAA 2 mg/L+TDZ 0.1 mg/L	90	生长较好,愈伤组织疏松,部分黄色
A3	1/4Anderson+2,4-D 3 mg/L+TDZ 0.5 mg/L	85	生长较好,愈伤组织致密,部分黄色
A4	1/4Anderson+NAA 4 mg/L+TDZ 0.5 mg/L	82	生长老化,愈伤组织致密,黄色
A5	1/4Anderson+2,4-D 1 mg/L+ZT 0.5 mg/L	93	生长优良,愈伤组织致密,黄绿色
A6	1/4Anderson+NAA 2 mg/L+ZT 0.5 mg/L	91	生长较好,愈伤组织致密,淡绿黄色
A7	1/4Anderson+2,4-D 3 mg/L+ZT 1 mg/L	84	生长缓慢,愈伤表面老化,黄白色
A8	1/4Anderson+NAA 4 mg/L+ZT 1 mg/L	82	生长缓慢,愈伤表面老化,黄白色

## 2.2 芽诱导情况

由表 2 可知,各配方芽诱导情况也各不相同,从芽分化率可以看出 B2>B1,说明添加 IBA 有利于芽的诱导,另外 B3、B4、B5、B6、B7 均大于 B1 和 B2,说明添加 2-IP 有利于芽的诱导分化,但在添加浓度上有一定区别,随着 2-IP 浓度的增加,芽分化率相对增加,但增加到一定程度后,出现下降,在保持 2-IP 浓度不变的情况下,增加 IBA 和 TDZ 的浓度,芽分化率也出现下降,尤其 B9,TDZ 浓度达到 1.5 mg/L 时,突然下降。在保持 IBA 0.5 mg/L 和 2-IP 0.5 mg/L 情况下,改用 ZT,发现随着 ZT 浓度的增加芽分化率增加,但增加到一定程度后芽分化率会降低。说明配方中添加 TDZ、2-IP、ZT、IBA 均有利于芽的分化,但在用量上加以调节控制,综合比较, B5 配方中的芽分化率最高,达到 55%。而平均芽数和芽分化率呈正相关,芽分化率高的,平均芽数也多,因此,1/4Anderson+IBA 0.1 mg/L+TDZ 1 mg/L+2-IP 0.5 mg/L 培养基诱导效果最好。

表 2 不同配方中芽诱导情况

编号	配方	芽分 化率 /%	平均芽数 /每块 愈伤组织
B1	1/4Anderson+TDZ 0.5 mg/L	16	3.32
B2	1/4Anderson+IBA 0.1 mg/L+TDZ 0.5 mg/L	27	3.68
B3	1/4Anderson+IBA 0.1 mg/L+TDZ 0.5 mg/L+2-IP 0.1 mg/L	31	4.03
B4	1/4Anderson+IBA 0.1 mg/L+TDZ 1 mg/L+2-IP 0.1 mg/L	44	4.15
B5	1/4Anderson+IBA 0.1 mg/L+TDZ 1 mg/L+2-IP 0.5 mg/L	55	4.72
B6	1/4Anderson+IBA 0.1 mg/L+TDZ 1 mg/L+2-IP 1 mg/L	43	4.21
B7	1/4Anderson+IBA 0.2 mg/L+TDZ 1 mg/L+2-IP 0.5 mg/L	40	4.02
B8	1/4Anderson+IBA 0.5 mg/L+TDZ 1 mg/L+2-IP 0.5 mg/L	33	3.01
B9	1/4Anderson+IBA 0.5 mg/L+TDZ 1.5 mg/L+2-IP 0.5 mg/L	14	3.12
B10	1/4Anderson+IBA 0.5 mg/L+ZT 2 mg/L+2-IP 0.5 mg/L	30	4.09
B11	1/4Anderson+IBA 0.5 mg/L+ZT 4 mg/L+2-IP 0.5 mg/L	39	4.32
B12	1/4Anderson+IBA 0.5 mg/L+ZT 6 mg/L+2-IP 0.5 mg/L	30	3.98

## 2.3 不同培养基配方的生根情况

由表 3 可知,添加 IBA 和 NAA 的用量对于生根的效果不尽相同,随着 IBA 用量的增加,生根率和平均根数也相应增加,但增加到一定程度会出现下降,说明增加 IBA 浓度会对生根有促进作用,但达到一定程度后又会抑制生根;而对于 NAA 来说,随着浓度的增加,生根率和平均根数会出现下降,说明在生根方面,

NAA 的浓度不宜过大。综合比较 IBA 和 NAA 用量, C5 和 C3 的效果最好,说明 1/4Anderson+NAA 0.1 mg/L 或 1/4Anderson+IBA 2 mg/L 2 种配方均可作为生根培养基的配方。

表 3 不同配方中苗木生根情况

编号	配方	接种苗数	生根率/%	平均根数/条
C1	1/4Anderson+IBA 0.5 mg/L	100	25	2.33
C2	1/4Anderson+IBA 1 mg/L	100	29	2.26
C3	1/4Anderson+IBA 2 mg/L	100	43	3.34
C4	1/4Anderson+IBA 3 mg/L	100	18	1.56
C5	1/4Anderson+NAA 0.1 mg/L	100	56	3.23
C6	1/4Anderson+NAA 0.2 mg/L	100	33	2.41
C7	1/4Anderson+NAA 0.3 mg/L	100	21	1.16
C8	1/4Anderson+NAA 0.5 mg/L	100	18	1.12

## 3 结论与讨论

该试验结果表明,把经过消毒灭菌的兴安杜鹃叶片切块后接种到 1/4Anderson+2,4-D 1 mg/L+TDZ 0.1 mg/L 愈伤组织诱导分化培养基上,待分化出愈伤组织后,切割转入 1/4Anderson+IBA 0.1 mg/L+TDZ 1 mg/L+2-IP 0.5 mg/L 培养基上进行芽的诱导,在进行 3~4 次的继代培养形成大量芽后,转入 1/4Anderson+IBA 2 mg/L 或 1/4Anderson+NAA 0.1 mg/L 培养基上进行生根培养,生根后即可出瓶移栽,培育出兴安杜鹃苗木。在兴安杜鹃离体培养过程中,植物激素起着非常重要的作用,会发现增加激素的浓度会对愈伤组织和芽诱导起促进作用,但增加一定程度又会起到抑制作用,具体用量还有待于进一步考量,另在生根阶段,IBA 和 NAA 哪种激素更适合生根也有待于进一步研究。

### 参考文献

- [1] 任宪威. 树木学[M]. 北京:中国林业出版社,2006:264.
- [2] 孙杨吾,任雪芹,朱元娣,等. 不同生长调节物质对迎红杜鹃组培快繁的影响[J]. 北方园艺,2011(6):149-151.
- [3] 朱春艳,李志炎,鲍鑫松,等. 云锦杜鹃组培快繁技术研究[J]. 中国农学通讯,2006(5):68.
- [4] 高文强,樊金会,赵红霞,等. 杜鹃花组培快繁技术的研究[J]. 山东林业科技,2011(5):47.
- [5] 徐颖,金灿,宗成文,等. 长白山牛皮杜鹃组培快繁及初步驯化栽培研究[J]. 江苏农业科学,2010(2):88-90.

# 无籽西瓜“蜜童”子叶再生体系的建立

张 娜<sup>1,2</sup>, 彭定祥<sup>2</sup>, 孙玉宏<sup>1</sup>, 曾红霞<sup>1</sup>, 施先锋<sup>1</sup>, 任 俭<sup>1</sup>

(1. 武汉市农业科学研究所, 湖北 武汉 430345; 2. 华中农业大学 植物科学技术学院, 湖北 武汉 430070)

**摘 要:**以无籽西瓜“蜜童”无菌苗子叶为外植体,建立了高效的组培再生体系。结果表明:不定芽诱导培养基为 MS+1.0 mg/L 6-BA+0.1 mg/L NAA,诱导率达 88.33%,最佳伸长培养基为 MS+0.2 mg/L 6-BA,最佳生根培养基为 1/2MS+0.5 mg/L IBA,生根率达 90%。

**关键词:**无籽西瓜;子叶;再生体系

**中图分类号:**S 651 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)21-0100-03

“蜜童”西瓜是先正达公司的优质礼品西瓜品种,因高产、抗病、耐贮运、商品性好等优点受到生产者和消费者的广泛青睐<sup>[1]</sup>。但因其种子价格较高,加之对生产者的育苗技术也有较高要求<sup>[2]</sup>,影响了在生产上的广泛应用。现以“蜜童”西瓜子叶为外植体,建立其组培再生体系,以期在保证品种纯度基础上,在较短时间内获得大量健壮整齐的无籽西瓜瓶苗,为其种苗工厂化、规模化生产提供技术支持,同时为其遗传转化奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

“蜜童”西瓜种子购自先正达公司。基本培养基 MS、1/2MS,植物生长调节物质 6-苄基氨基腺嘌呤(6-BA)、萘乙酸(NAA)、吲哚丁酸(IBA)、激动素(KT)均购自武汉友援生物公司。

**第一作者简介:**张娜(1980-),女,在读博士,农艺师,研究方向为西瓜栽培与育种。E-mail:zn800329@163.com.

**责任作者:**彭定祥(1957-),男,硕士,教授,博士生导师,研究方向为苤蓿栽培与育种。E-mail:pdxiang@mail.hzau.edu.cn.

**基金项目:**武汉市科技攻关资助项目(201021112428-9);武汉市农业科学技术研究院创新资助项目。

**收稿日期:**2012-06-11

### 1.2 试验方法

**1.2.1 外植体的获得** 将无籽西瓜“蜜童”种子去壳后,在 10%的次氯酸钠溶液中浸泡 5 min,用无菌水彻底清洗干净,而后以无菌滤纸吸干种子表面水分,接种于 MS 培养基,蔗糖 30.0 g/L,琼脂粉 8.0 g/L,pH 5.8,置于温度 26℃,光照强度 2 500~3 000 lx、16 h/8h(光照/黑暗)光周期条件下培养。

**1.2.2 不定芽的诱导与增殖** 种子培养 7 d 左右,子叶转绿时切取子叶近轴端<sup>[3]</sup>,接种于不同培养基(表 1)。每处理接种 20 个外植体,3 次重复,进行不定芽诱导培养,培养条件同上。30 d 后观察不定芽的诱导情况,计算诱导率。不定芽诱导率=产生不定芽的外植体数/接种外植体总数×100%,将芽丛继代于相同培养基上增殖,继续培养 25 d 左右,观察增殖情况,计算增殖系数。增殖系数=全部外植体总芽数/接种外植体总数,培养条件同上。

**1.2.3 伸长培养** 增殖培养一段时间后,将长度 1 cm 及以上,有明显顶芽的幼芽轻轻剥离芽丛,接种于伸长培养基(表 2),150 mL 三角瓶每瓶接种 6 株,21 d 后统计伸长情况,培养条件同上。

**1.2.4 生根培养** 植株长至 3.5 cm 左右时接种于生根

## *In vitro* Rapid Propagation of *Rhododendron dauricum* Leaf

ZHOU Jin-mei, YE Fei, JIAN De-feng

(Jilin Agricultural Science and Technology College, Jilin, Jilin 132101)

**Abstract:** Taking the leaves as material, the rapid propagation culture *in vitro* of *Rhododendron dauricum* were studied. The results showed that the best callus induction medium was 1/4Anderson+2,4-D 1 mg/L+TDZ 0.1 mg/L; the best bud induction medium was 1/4Anderson+IBA 0.1 mg/L+TDZ 1 mg/L+2-IP 0.5 mg/L; the best rooting culture medium was 1/4Anderson+IBA 2 mg/L or the medium of 1/4Anderson+NAA 0.1 mg/L.

**Key words:** *Rhododendron dauricum* L.; leaf; medium; culture *in vitro*