

高山杜鹃组培快繁工艺研究

林魁 魏宾斌 潘宏

(福建省农业科学院农业工程技术研究所,福建福州 350003)

摘要 基于目前高山杜鹃扦插繁殖的生长和产量瓶颈,以组织培养为手段,研究不同培养基和激素配方对高山杜鹃丛生芽诱导、继代增殖和生根的影响,得到最佳的培养基配方和组培快繁工艺。结果表明,高山杜鹃组培快繁的最佳工艺为摘取高山杜鹃顶芽或侧芽,0.1%升汞消毒后接入1/4 MS培养基预培养;30 d后将生长健壮的无菌苗嫩芽接至培养基1/4 MS+ZT 3.0 mg/L+NAA 0.10 mg/L中进行继代增殖培养;30~50 d后取生长到2~3 cm的芽小苗或侧芽切下,接入培养基1/4 MS+NAA 2.0 mg/L+IBA 2.0 mg/L中生根;60 d后即可将生根的组培苗移入基质中进行炼苗生长。

关键词 高山杜鹃;组培;快繁

中图分类号 S685.21 **文献标识码** A **文章编号** 1007-5739(2018)16-0126-02

高山杜鹃(*Rhododendron lapponicum*)为杜鹃花科杜鹃属高山常绿灌木或小乔木,是一种高档花卉植物,自然生长状态下树高约3 m,生长在海拔2 500~4 000 m山地阴坡的冷杉林中或林缘草坡上,原产于我国中西部地区,后由比利时等国引栽驯化出很多优良品种。高山杜鹃花色鲜艳,花期4—5月,株型丰满,叶大花美,具有很高的观赏性与巨大的开发价值,高山杜鹃因种子少,基本依靠扦插进行繁殖^[1],但扦插繁殖易受到母株材料和繁殖季节等影响,生长速率和产量无法满足市场的需求。通过应用离体组织培养技术,可以克服季节影响等繁殖缺陷,对高山杜鹃的种苗快繁和规模化生产具有现实意义^[2-3]。

为进一步挖掘高山杜鹃的种质与价值,笔者向宁德引进当地高山杜鹃若干,通过对现有组织培养手段的探讨改良,旨在形成一套较为完善的工艺流程。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试高山杜鹃品种为红珊瑚,由福建天蓝蓝生态农业发展有限公司引进。

1.2 试验方法

1.2.1 外植体选择与消毒。将新鲜的高山杜鹃顶芽或侧芽作为试验材料,用自来水清洗干净后,加入适量洗衣液浸泡30 min,再用清水冲洗4 h。在超净工作台上进行消毒:70%酒精浸泡30 s,无菌水冲洗,加0.1%升汞水溶液分别消毒6、10、12 min,用无菌水冲洗后浸泡2 min,重复冲泡过程3~5次^[4-5]。

1.2.2 诱导丛生芽并建立无菌体系。将消毒好的芽接种到培养基中,附加6 g/L琼脂和30 g/L蔗糖,调整pH值至5.6,每个处理的接入茎段数均为10瓶,每个处理设3次重复,在(25±1)℃、光照12 h/d、光强2 000 lx的条件下培养30 d,诱导丛生芽并建立无菌体系^[6]。

1.2.3 芽的继代增殖培养。将诱导出的无菌苗嫩芽分别接种到不同激素组合的培养基中,附加6 g/L琼脂、30 g/L蔗糖和15 g/L AC,调整pH值至5.6,在(25±1)℃、光照12 h/d、光强2 000 lx的条件下培养30 d,具体试验设计见表1。统计

芽的增殖情况,考虑最佳继代增殖培养基配方。

表1 继代增殖培养基配比试验方案 L₉(3⁴)

处理	培养基种类(A)	ZT(B)/mg·L ⁻¹	NAA(C)/mg·L ⁻¹	空列
1	1(MS)	1(1.0)	1(0.05)	1
2	1(MS)	2(2.0)	2(0.10)	2
3	1(MS)	3(3.0)	3(0.20)	3
4	2(1/2MS)	1(1.0)	2(0.10)	3
5	2(1/2MS)	2(2.0)	3(0.20)	1
6	2(1/2MS)	3(3.0)	1(0.05)	2
7	3(1/4MS)	1(1.0)	3(0.20)	2
8	3(1/4MS)	2(2.0)	1(0.05)	3
9	3(1/4MS)	3(3.0)	2(0.10)	1

1.2.4 芽的生根培养。待继代增殖的组培苗长至2~3 cm时,将生长健壮的小苗接种在生根培养基中诱导生根。生根培养基使用1/4 MS为基本培养基,分别添加NAA、IBA,附加6 g/L琼脂、30 g/L蔗糖和15 g/L AC,调整pH值至5.6,在(25±1)℃、光照12 h/d、光强2 000 lx的条件下培养60 d,具体试验设计见表2,统计生根情况。

表2 生根培养试验方案

处理	NAA	IBA
1	0.5	0.5
2	0.5	1.0
3	0.5	2.0
4	1.0	0.5
5	1.0	1.0
6	1.0	2.0
7	2.0	0.5
8	2.0	1.0
9	2.0	2.0

注:基本培养基为1/4 MS、蔗糖30 g/L、琼脂6 g/L、AC 15 g/L,pH值5.6。下同。

2 结果与分析

2.1 不同升汞消毒时间对外植体污染率和褐变率的影响

不同升汞消毒时间对外植体污染率和褐变率有显著的影响。当消毒时间为6 min时,外植体污染率达到100%,褐变率为43.5%;当消毒时间增加,污染率逐渐降低,消毒时间为12 min时,污染率最低,为61.2%,褐变率为92.1%;而消毒时间为10 min时,污染率为70.3%,褐变率为80.6%(表3)。

由此可见,升汞消毒时间较短时,污染率高,褐变率低;升汞消毒时间较长时,污染率降低,但褐变率提高。污染率与褐变率成负相关关系,这可能是由于升汞消毒会对外植体造成一定的损伤。

基金项目 福建省属公益类科研院所基本科研专项(2016R1014-9)。
作者简介 林魁(1981-),男,福建福州人,助理研究员,从事植物引种栽培研究工作。
收稿日期 2018-06-04

表3 0.1%升汞灭菌对外植体接种效果的影响

消毒时间/min	外植体数/个	污染率/%	褐变率/%
6	30	100.0	43.5
10	30	70.3	80.6
12	30	61.2	92.1

2.2 不同激素浓度培养基对芽增殖的影响

采用正交试验方法,研究基本培养基、ZT 和 NAA 对无菌组培苗增殖率的影响。通过 9 组试验处理得出的增殖率极差分析结果,其中基本培养基的种类对组培苗的增殖率影响最为显著, R 值为 5.870;其次是 ZT, R 值为 5.427;NAA 的 R 值为 1.910,影响最小(表 4)。

随着培养基中 ZT 浓度的增加,组培苗单芽增殖数随之增加,但 ZT 浓度达到 4.0 mg/L 时,单芽增殖数减小且生长缓慢;当 ZT 浓度达到 3.0 mg/L 时,增殖芽数量最多且生长健壮。NAA 浓度的增加对组培苗增殖数及生长影响不太显著,当 NAA 浓度达到 0.1 mg/L 时趋于平缓。综上所述,高山杜鹃组培苗继代增殖的最佳培养基配方为 1/4 MS+ZT 3.0 mg/L+NAA 0.10 mg/L。

表4 平均增殖率极差分析

处理	培养基种类(A)	ZT(B) mg·L ⁻¹	NAA(C) mg·L ⁻¹	空列	平均增殖系数
1	1(MS)	1(1.0)	1(0.05)	1	0.10
2	1(MS)	2(2.0)	2(0.10)	2	0.30
3	1(MS)	3(3.0)	3(0.20)	3	0.40
4	2(1/2 MS)	1(1.0)	2(0.10)	3	0.70
5	2(1/2 MS)	2(2.0)	3(0.20)	1	5.66
6	2(1/2 MS)	3(3.0)	1(0.05)	2	5.89
7	3(1/4 MS)	1(1.0)	3(0.20)	2	1.58
8	3(1/4 MS)	2(2.0)	1(0.05)	3	4.46
9	3(1/4 MS)	3(3.0)	2(0.10)	1	12.37
K ₁	0.267	0.793	3.483		
K ₂	4.083	3.473	4.457		
K ₃	6.137	6.220	2.547		
R	5.870	5.427	1.910		

2.3 不同生长素对无菌苗生根的影响

无菌苗接入生根培养基后 30 d 左右,茎段基部有细根长出。从表 5 可以看出,NAA 和 IBA 的组合对比对高山杜鹃

(上接第 125 页)

和叶绿素 b 皆呈波动变化,但总体上叶绿素 a 和叶绿素 b 的含量均呈上升趋势;一品红叶片叶绿素 a 含量差异并不明显,而叶绿素 b 却存在一定的差异。随着处理天数的增加,叶绿素的总含量呈上升趋势,但光照条件下一品红叶片的叶绿素总含量比黑暗条件下以及 2 组保鲜剂处理组的叶绿素总含量多,而且上升快速;而黑暗条件下一品红叶片叶绿素总含量呈持续较缓慢上升的趋势。相比之下,STS 处理与 1-MCP 处理的叶绿素总含量上升的幅度更加缓慢,其中 1-MCP 处理的叶绿素总含量的变化幅度最小。由于黑暗条件抑制了光合作用,一品红的生长较为缓慢,反而延长了其本身的寿命,延缓了一品红盆花的衰老,起到一定的保鲜作用。因此,STS 处理与 1-MCP 处理的一品红皆处于缓慢生长阶段,从而延长了寿命,起到一定的保鲜作用,其中 1-MCP 处理的一品红盆花保鲜效果最好。

综上所述,在短期时间内,黑暗条件有利于一品红盆花

表5 生根培养试验方案

处理	NAA/mg·L ⁻¹	IBA/mg·L ⁻¹	生根率/%
1	0.5	0.5	9.0
2	0.5	1.0	10.7
3	0.5	2.0	58.5
4	1.0	0.5	56.2
5	1.0	1.0	55.1
6	1.0	2.0	35.2
7	2.0	0.5	48.3
8	2.0	1.0	54.8
9	2.0	2.0	63.7

茎段生根有显著影响,生根率最低的是处理 1,生根率仅为 9%;生根率最高的是处理 9,生根率达到 63.7%。随着 NAA 浓度的递增,生根率也呈现递增,但 NAA 浓度达到 1.5 mg/L 时,生根率出现峰值,并开始缓慢降低。而随着 IBA 浓度的增加,生根率一直稳定平缓上升,在 2.0 mg/L 时趋于平缓。从综合数据来看,取处理 9 所用培养基 1/4 MS+NAA 2.0 mg/L IBA 2.0 mg/L 为高山杜鹃生根培养的最佳培养基配方。

3 结论

综合可知,高山杜鹃组培快繁的最佳工艺为摘取高山杜鹃顶芽或侧芽,用 0.1%升汞消毒后接入 1/4 MS 培养基预培养;30 d 后将生长健壮的无菌苗嫩芽接至培养基 1/4 MS+ZT 3.0 mg/L+NAA 0.10 mg/L 中进行继代增殖培养;30~50 d 后取生长到 2~3 cm 的芽小苗或侧芽切下,接入培养基 1/4 MS+NAA 2.0 mg/L+IBA 2.0 mg/L 中生根;60 d 后即可将生根的组培苗移入基质中进行炼苗生长。

4 参考文献

- [1] 张长芹,冯宝钧,刘昌礼,等.几种常绿高山杜鹃的扦插试验[J].园艺学报,1994,21(3):307-308.
- [2] 汤桂钧,张建安.高山杜鹃的组织培养快速繁殖技术研究[J].上海农业学报,2004,20(3):15-18.
- [3] 王吉,张守琪,张志勇,等.高山杜鹃离体快繁技术研究[J].甘肃农业科技,2006(8):11-13.
- [4] 郭颖.三种高山杜鹃组织培养快繁技术研究[D].北京:北京林业大学,2015.
- [5] 王梓贞.高山杜鹃组织培养技术研究进展[J].特种经济动植物,2013,16(6):34-35.
- [6] 陈妹幼.高山杜鹃组织培养快速繁殖技术研究[J].现代农业科技,2008(17):13-14.

的保鲜,同时保鲜剂 STS 和 1-MCP 均有利于延长一品红种苗的寿命,其中 1-MCP 的保鲜效果比 STS 好。此外,STS 存在重金属污染的问题,而且含有剧毒,相比之下,1-MCP 具有高效、无污染、无毒、成本低等多种优点,为最理想的花卉保鲜剂。

4 参考文献

- [1] 贺冬仙,闫征南,宋金修,等.LED 光照条件下低温弱光贮藏对辣椒种苗质量的影响[J].中国蔬菜,2017,1(5):40-45.
- [2] 秦玉芝,陈珏,刘明月,等.聚乙二醇模拟干旱对马铃薯幼苗生长与细胞膜透性的影响[J].湖南农业大学学报(自然科学版),2011,37(6):627-631.
- [3] 解卫海,刘丹,孙金利,等.脱水和高氧压过程中单叶蔓荆叶片细胞膜透性分析[J].林业科学,2015,51(6):44-49.
- [4] 李栋栋,罗自生.植物衰老叶片与成熟果实中叶绿素的降解[J].园艺学报,2013,40(10):2039-2048.
- [5] 胡汉升,方志宏,胡孔峰.一品红盆花采后贮藏综合保鲜技术[J].信阳农业高等专科学校学报,2002(4):89.
- [6] 胡汉升,方志宏.一品红采后贮藏综合保鲜技术[J].中国花卉盆景,2002(12):28.