

李 媛,侯可雷. 五莲山野生迎红杜鹃组织快繁技术[J]. 江苏农业科学,2014,42(8):55-56,180.

# 五莲山野生迎红杜鹃组织快繁技术

李 媛,侯可雷

(日照职业技术学院,山东日照 276826)

**摘要:**以野生迎红杜鹃幼嫩枝芽为试验材料,进行组织培养技术研究。结果表明:当年生野生迎红杜鹃嫩枝的最佳消毒方法为,先用 0.25 g/L 多菌灵浸泡 45 min,然后用 75% 乙醇溶液消毒 30 s,再用 0.1%  $\text{HgCl}_2$  消毒 6 min;最佳启动培养基配方为 Read + 3 mg/L ZT + 0.1 mg/L NAA + 30 g/L 蔗糖 + 6.5 g/L 琼脂粉,pH 值 5.5,该条件下诱芽率达到 89.73%;最佳继代增殖培养基配方为 1/2 Read + 2 mg/L ZT + 0.1 mg/L NAA;最适生根培养基配方为 Read + 0.5 mg/L NAA + 20 g/L 蔗糖。

**关键词:**迎红杜鹃;正交设计;组织培养

**中图分类号:** S685.210.4<sup>+</sup>3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)08-0055-02

杜鹃花是世界著名的园林观赏植物,也是我国十大传统名花之一,与龙胆、报春并称为世界三大高山野生花卉<sup>[1]</sup>。我国杜鹃花栽培历史悠久,种质资源丰富,在环境绿化、园林观赏等方面应用很广<sup>[2-3]</sup>。五莲山位于山东省日照市,是我国野生杜鹃花资源的主要分布地之一,拥有迎红杜鹃(*Rhododendron mucronulatum*)、映山红(*Rhododendron simsii*)、照山白(*Rhododendron micramthum*)等三大品系共 40 多个杜鹃花品种,是长江以北地区最大的野生杜鹃花栖息地<sup>[4]</sup>。迎红杜鹃别称迎山红、万荆子、蓝荆子、尖叶杜鹃等<sup>[5]</sup>,属杜鹃花科杜鹃花属的落叶灌木,生于山地灌丛及石砾子上,喜光、喜湿润,稍耐阴,耐寒冷,喜酸性土壤,忌高温、干旱,花粉红绚丽,秋叶绿、红、黄相间,娇艳优美,盛花期长达 1 个月,彩叶期长达 2 个月,是花带、花境、花丛等园林景观设计的优良素材<sup>[6]</sup>。

迎红杜鹃在长江以北地区少有推广<sup>[7]</sup>,仅停留在少量野生苗被移植应用的水平上,主要是因为常规繁殖方法下繁殖系数较低,而且其对生长环境要求苛刻,驯化栽培有一定难度<sup>[8-11]</sup>。本研究探讨了迎红杜鹃快速繁殖技术,该技术在较短时间内凭借少量母本材料获得了较多无性系名贵苗木,以期为该树种更好地服务于未来城乡绿化建设提供支持。

## 1 材料与与方法

### 1.1 材料

在五莲山采集野生迎红杜鹃嫩枝条。在连续晴天 3 d 以上、枝条无露水时进行取样,取样时间一般在 09:00—10:00,剪取无病虫害、生长健壮的枝梢。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 外植体消毒灭菌** 用流水冲洗、去除外植体表面附着物后,放入洗洁精稀释液中逐个清洗并浸泡 5 min,再置于流水中 1 h 以上,彻底洗去洗涤剂后转入超净工作台内,进行灭

菌处理。对外植体先用 0.25 g/L 多菌灵浸泡,再用 75% 乙醇溶液浸泡,最后用 0.1%  $\text{HgCl}_2$  进行消毒。每种消毒剂的消毒时间设 3 个水平,采用  $L_9(3^4)$  正交设计进行试验(表 1)。每个处理重复 3 次。统计外植体污染率、褐化率、成活率。

表 1 外植体消毒灭菌正交试验因素水平

水平	因素		
	A:0.25 g/L 多菌灵 消毒时间(min)	B:75% 乙醇溶液 消毒时间(s)	C:0.1% $\text{HgCl}_2$ 消毒时间(min)
1	15	15	4
2	30	30	6
3	45	60	8

**1.2.2 启动培养基配方筛选** 采用  $L_9(3^4)$  正交试验探索培养基(1/4 MS、Read、WPM)、激素(ZT、NAA)对迎红杜鹃茎段诱导的影响,培养基中加 30 g/L 蔗糖、6.5 g/L 琼脂,pH 值为 5.5,因素水平见表 2。每瓶接种 1 个外植体,每次每个处理接种 10 瓶,重复 3 次。

表 2 启动培养基配方筛选正交试验因素水平

水平	因素		
	A:培养基	B:ZT(mg/L)	C:NAA(mg/L)
1	1/4MS	1	0.1
2	Read	2	0.5
3	WPM	3	1.0

**1.2.3 继代培养基配方筛选** 以改良 Read 培养基为基本培养基,以 ZT 为影响因素,ZT 设 1、2、3 mg/L 等 3 个水平,每个组合 30 瓶,重复 2 次,统计增殖率。

**1.2.4 生根培养方案** 基本培养基选用 Read 和 1/2 Read,蔗糖浓度分别为 10、20、30 g/L。每个处理接种 10 株组培苗,3 次重复,生长调节剂均为 0.5 mg/L NAA,pH 值 5.5,40 d 后调查其生根率。

**1.2.5 驯化移栽** 选取根系健壮且数量多的幼苗,将其培养瓶移出光照培养箱,放在 18~25℃ 室温下炼苗。炼苗结束后将幼苗从培养瓶中取出,洗净根部的培养基,将其移栽到已灭菌并完全冷却的基质(沙、珍珠岩、营养土体积比为 1:1:2)中。

收稿日期:2013-11-06

基金项目:日照职业技术学院自然科学基金(编号:11Y165)。

作者简介:李 媛(1982—),女,山东临沂人,硕士研究生,讲师,从事植物组织培养教学和科研工作。E-mail:angelalee1231@163.com。

2 结果与分析

2.1 不同消毒方法对杀菌效果的影响

由表 3 可以看出,不同消毒剂、消毒时间对迎红杜鹃外植体的杀菌效果有显著差异。从接种后的迎红杜鹃组培苗情况来看,最好消毒方法为 A<sub>8</sub> 处理,即 0.25 g/L 多菌灵浸泡 45 min,75% 乙醇溶液消毒 30 s,0.1% HgCl<sub>2</sub> 消毒 6min。该消毒方式能够保证迎红杜鹃外植体褐化率最低,感染率最低,成活率最高。对西洋杜鹃组培苗的成活率进行极差分析,同样可以得出最佳消毒方式是 A<sub>8</sub> 处理。

表 3 消毒方法对杀菌效果的影响

处理	因素			褐化率 (%)	感染率 (%)	成活率 (%)
	A:0.25 g/L 多菌灵 消毒时间	B:75% 乙醇溶液 消毒时间	C:0.1% HgCl <sub>2</sub> 消毒时间			
A <sub>1</sub>	1	1	1	15.00	65.00	20.00
A <sub>2</sub>	1	2	2	16.67	18.33	65.00
A <sub>3</sub>	1	3	3	40.00	11.67	48.33
A <sub>4</sub>	2	1	2	30.00	45.00	25.00
A <sub>5</sub>	2	2	3	58.33	26.67	15.00
A <sub>6</sub>	2	3	1	28.33	46.67	25.00
A <sub>7</sub>	3	1	3	51.67	13.33	35.00
A <sub>8</sub>	3	2	2	10.00	8.33	81.67
A <sub>9</sub>	3	3	1	46.67	16.67	36.66

2.2 不同培养基配方对出芽诱导效果的影响

由表 4 可见,不同基本培养基和激素配比对茎段芽的诱导培养影响(出芽率)差异显著。极差分析和方差分析可知,各因素对出芽率影响效果的大小依次为:培养基类型>ZT 浓度>NAA 浓度。3 种基本培养基对出芽率的影响差异显著,使用 Read 基本培养基的出芽率最高(B<sub>6</sub> 处理);ZT 浓度在高水平时对迎红杜鹃出芽有促进作用;NAA 浓度为 0.1 mg/L 时诱导出芽效果最佳。

表 4 芽诱导培养效果

处理	因素			出芽率 (%)
	A:培养基	B:ZT (mg/L)	C:NAA (mg/L)	
B <sub>1</sub>	1	1	1	6.53
B <sub>2</sub>	1	2	2	12.24
B <sub>3</sub>	1	3	3	18.67
B <sub>4</sub>	2	1	2	62.89
B <sub>5</sub>	2	2	3	68.54
B <sub>6</sub>	2	3	1	89.73
B <sub>7</sub>	3	1	3	47.60
B <sub>8</sub>	3	2	1	55.42
B <sub>9</sub>	3	3	2	58.16

2.3 ZT 浓度对增殖培养的影响

由表 5 可以看出,Read + 3 mg/L ZT + 0.1 mg/L NAA 和 Read + 2 mg/L ZT + 0.1 mg/L NAA 处理的增殖系数较高,可以达到 4 以上。但 ZT 浓度达到 3 mg/L 时,增殖苗较细小瘦弱,且有部分玻璃化。因此,迎红杜鹃的适合增殖培养基为 Read + 2 mg/L ZT + 0.1 mg/L NAA。

2.4 不同配方对生根培养的影响

由表 6 可知,基本培养基为 1/2 Read、蔗糖浓度为 20 g/L

表 5 ZT 浓度对增殖系数的影响

培养基配方	增殖系数
Read + 1 mg/L ZT + 0.1 mg/L NAA	2.8
Read + 2 mg/L ZT + 0.1 mg/L NAA	4.2
Read + 3 mg/L ZT + 0.1 mg/L NAA	4.6

时,迎红杜鹃组培苗瓶内生根效果最好,生根率达到 81.72%,与其他组合处理差异较大,说明迎红杜鹃组培苗瓶内生根所需的基本培养基和蔗糖浓度均较低。

表 6 不同配方对生根效果的影响

基本培养基	蔗糖浓度(g/L)	生根率(%)
Read	30	31.83
	20	59.24
	10	42.89
1/2 Read	30	56.73
	20	81.72
	10	67.34

3 结论

野生迎红杜鹃外植体表面携带各种污染微生物,消毒较困难,仅靠提高消毒剂浓度和消毒时间,虽然在一定条件下能将细菌、真菌等污染微生物全部杀死,但同时会将植物外植体细胞杀死或损坏大部分外植体而引起褐变,最终会导致外植体死亡。消毒时间过短又无法完全清除外植体上的真菌、细菌等。因此,如何在外植体污染率、成活率、褐变率间找到动态平衡点,选择合适的消毒剂种类、浓度和消毒时间是关键。多菌灵是一种广谱、低毒、内吸性杀菌剂,虽然不能防止细菌污染,但对多种霉菌生长有强烈抑制作用,具有较好的防霉效果,它和 HgCl<sub>2</sub>、乙醇溶液联合组成的复合消毒剂的效果明显好于单一使用某种消毒剂。本研究表明,先用 0.25 g/L 多菌灵浸泡 45 min,然后用 75% 乙醇溶液消毒 30 s,最后用 0.1% HgCl<sub>2</sub> 消毒 6 min,是最好的迎红杜鹃外植体消毒方式,该方式能保证较高的外植体成活率以及较低的褐化率、污染率。

迎红杜鹃的最佳启动培养基是 Read + 3 mg/L ZT + 0.1 mg/L NAA。迎红杜鹃是一种对培养基渗透压反应敏感的植物,盐分浓度低及 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>/NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 高的基本培养基对迎红杜鹃的培养效果较好,如本研究使用的 1/4 MS、Read、WPM。Read 培养基减少了 NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>、KNO<sub>3</sub> 用量,加入(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 使 NH<sub>4</sub><sup>+</sup>: NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 为 1:1,同时去除碘化钾(KI),将培养基 pH 值降至 5,更适于耐寒落叶杜鹃的培养<sup>[12]</sup>。高浓度的 ZT 能够很好地刺激杜鹃组培苗诱导出芽,增殖系数高;但其浓度过高时,培养的试管苗细弱,容易形成玻璃苗。

为了获得大量组培苗,须要对芽诱导培养后获得的芽体进行增殖培养。使用较高浓度的细胞分裂素和一定浓度的生长素能有效提高芽体的增殖速率,并获得较高品质的新芽,但此过程中必须控制好二者间的浓度关系。细胞分裂素浓度过高将会降低芽体质量,从而抑制芽体的增殖效果。适合迎红杜鹃增殖的培养基配方为 Read + 2 mg/L ZT + 0.1 mg/L NAA。

杜鹃花是木本植物,瓶内生根培养困难,生根率较低,需  
(下转第 180 页)

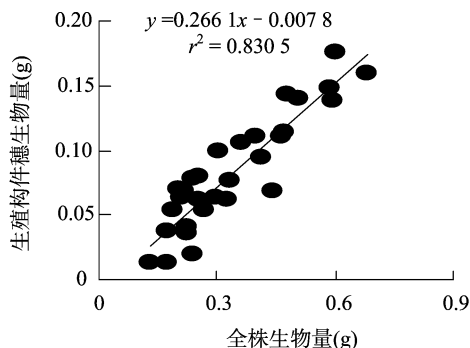


图3 华北剪股颖种群生殖构件穗生物量与全株生物量的观测值与拟合曲线

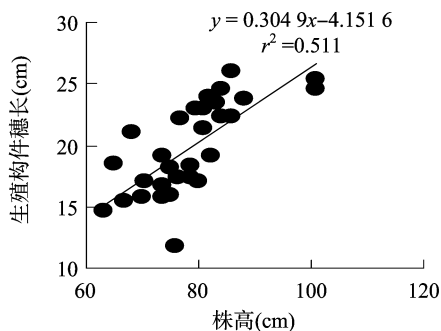


图4 华北剪股颖种群生殖构件穗长与株高的观测值与拟合曲线

引起,48.9%由环境差异和试验误差等其他因素引起,说明生殖构件穗长的表型可塑性比较大。

### 3 结论与讨论

影响植物种群生殖分配的因素非常复杂,遗传特性、自然环境、生长年限、栽培管理等方面都制约着植物种群的生殖分配,其存在的差异也很可能受多重因素的交互作用影响而不容易被发现。生殖生长分配 = 平均穗长/平均株高 × 100%; 生殖分配 = 繁殖器官生物量/地上植株总生物量;用各构件的

生物量占地上全株总生物量的比例作为生物量分配的数量指标,即叶生物量分配 = 叶生物量/地上全株总生物量 × 100%<sup>[9]</sup>。

本试验结果表明,在华北剪股颖种群生殖分配格局中,生殖分配与叶生物量分配、秆生物量分配呈明显的负相关,说明营养元素在植株体内按一定比例流动;生殖生长分配与秆生长分配呈明显的负相关,说明在生殖生长过程中植株体内的营养元素从各构件流向繁殖器官。

在生殖构件穗长与株高的线性函数中, $a$  值为  $-4.1516$ ,可见当株高达到  $13.62\text{ cm}$  时才有生殖构件穗生长,说明植株的营养生长和生殖生长具有按比例生长的高度协调性。

在穗生物量与地上全株生物量的线性函数中, $a$  值为  $-0.0078$ ,说明华北剪股颖地上全株生物量积累到  $0.029\text{ g}$  时,才开始有生殖构件穗的物质积累。

### 参考文献:

- [1] 操国兴,谢德体,钟章成,等. 植物种群的生殖分配[J]. 四川林业科技,2003,24(2):25-29.
- [2] 钟章成. 植物种群的繁殖对策[J]. 生态学杂志,1995,14(1):37-42.
- [3] 刘霞,彭燕. 剪股颖属草坪草适应性研究进展[J]. 安徽农业科学,2006,34(12):2708-2710,2741.
- [4] 谢彩云,尚以顺,范国华. 贵州野生剪股颖属植物资源研究[J]. 贵州农业科学,2004,32(5):12-14.
- [5] 谢彩云,莫志萍,唐成斌,等. 贵州野生匍匐剪股颖结实特性研究[J]. 四川草原,2003(3):19-20,36.
- [6] 宋金枝,李海燕,周丽威. 长白山区华北剪股颖无性系构件的结构及生长[J]. 生态学杂志,2011(10):2145-2148.
- [7] 王霞,陈君,徐荣,等. 宁夏地区肉苁蓉人工栽培居群生殖分配规律的初步研究[J]. 中国中药杂志,2011,36(4):409-413.
- [8] 田迅,杨允菲. 西辽河平原不同生境草芦种群分株生长的可塑性[J]. 草地学报,2004,12(1):17-20,30.
- [9] 焦聪,阚国仕,陈红曼,等. 紫花地丁自然种群生物量生殖分配研究[J]. 安徽农业科学,2012,40(24):12031-12034.
- [6] 柏广新,崔万成,王永明. 中国长白山野生花卉[M]. 北京:中国林业出版社,2003:112-115.
- [7] 陈有民,王玉华,俞玖,等. 迎红杜鹃引种北京平原的研究[J]. 北京林业大学学报,1992,14(4):111-118.
- [8] 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(5):335-337.
- [9] 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):178-179.
- [10] 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.
- [11] 张艳红. 我国杜鹃花的繁育研究进展[J]. 安徽农业科学,2007,35(23):7170-7171,7209.
- [12] Economou A S, Read P E, Spanoudaki M J. Azalea regeneration from callus culture[J]. Acta Hortieuhurae,1988,226(1):209-216.

(上接第56页)

要较低的培养基浓度和蔗糖浓度;也可采用组培苗瓶外微条扦插生根的方法,不仅能够迅速扩大繁殖系数,而且能省去生根培养时间,提高商品化生产效率。

### 参考文献:

- [1] 王守中. 杜鹃[M]. 上海:上海科技出版社,1989.
- [2] 刘茂成. 杜鹃的原种、园艺品种及科学施肥法[J]. 花卉,1998(3):4.
- [3] 余树勋. 杜鹃花[M]. 北京:金盾出版社,1992:66-67.
- [4] 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.
- [5] 郁书君. 华北乡土杜鹃——迎红杜鹃[J]. 中国花卉盆景,1992(7):6.