

## 培养基配比对‘金踯躅’茎段组培和试管苗生根的影响

田晓玲<sup>1</sup>, 刘广超<sup>1</sup>, 何 娇<sup>2</sup>, 路登宇<sup>2</sup>, 黄承玲<sup>1,①</sup>

(1. 贵州民族大学人文科技学院, 贵州 贵阳 550025; 2. 贵州思源农旅综合开发有限公司, 贵州 盘州 553537)

**Effects of medium proportion on tissue culture of stem segment and rooting of plantlet of *Rhododendron molle* ‘Jinzhizhu’** TIAN Xiaoling<sup>1</sup>, LIU Guangchao<sup>1</sup>, HE Jiao<sup>2</sup>, LU Dengyu<sup>2</sup>, HUANG Chengling<sup>1,①</sup> (1. The College Humanities & Sciences of Guizhou Minzu University, Guiyang 550025, China; 2. Guizhou Siyuan Agricultural Tourism Comprehensive Development Co., Ltd., Panzhou 553537, China), *J. Plant Resour. & Environ.*, 2019, 28(2): 115-117

**Abstract:** Taking stem segments of one-year-old branch of *Rhododendron molle* ‘Jinzhizhu’ as explants, and using WPM medium (containing 6.5 g · L<sup>-1</sup> agar, pH 5.6) as basic medium, effects of medium proportion on differentiation of stem segment, proliferation of adventitious bud and rooting of plantlet were studied. The results show that differentiation rate of stem segment is the highest (83.3%) in induction medium (containing 6.5 g · L<sup>-1</sup> agar and 30 g · L<sup>-1</sup> sucrose, pH 5.6) with 1.0 mg · L<sup>-1</sup> 2-ip and 0.1 mg · L<sup>-1</sup> NAA, and is significantly higher than that in other media; proliferation rate of adventitious bud is the highest (93.3%) in proliferation medium (containing 6.5 g · L<sup>-1</sup> agar, pH 5.6) with 1.0 mg · L<sup>-1</sup> 2-ip, 0.05 mg · L<sup>-1</sup> NAA and 30 g · L<sup>-1</sup> sucrose or 1.5 mg · L<sup>-1</sup> 2-ip, 0.10 mg · L<sup>-1</sup> NAA and 20 g · L<sup>-1</sup> sucrose, and proliferation multiple is also bigger. Rooting rate of plantlet is the highest in rooting medium (containing 6.5 g · L<sup>-1</sup> agar and 30 g · L<sup>-1</sup> sucrose, pH 5.6) with 0.50 mg · L<sup>-1</sup> NAA, which reaches 70.0%, but combined addition of NAA and IBA has no evident promotion effect on rooting of *R. molle* ‘Jinzhizhu’ plantlet.

**关键词:** ‘金踯躅’; 茎段; 组培; 激素配比

**Key words:** *Rhododendron molle* ‘Jinzhizhu’; stem segment; tissue culture; hormone proportion

中图分类号: S685.21; Q813.1<sup>+</sup>2 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2019)02-0115-03

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7895.2019.02.17

‘金踯躅’(*Rhododendron molle* ‘Jinzhizhu’)是园林绿化植物中不可多得的黄色杜鹃花品种,由羊踯躅(*Rhododendron molle* G. Don)实生苗开花植株经芽变选育获得,‘金踯躅’的花冠金黄色,与羊踯躅的纯黄色花冠有明显区别。该品种无种子繁殖体,并且扦插繁殖困难。目前,有关羊踯躅的繁育研究主要集中于繁殖生物学以及扦插和压条方法等方面<sup>[1],[2]1-4,[3]3-16,[4]</sup>,但对羊踯躅组培快繁的研究较少<sup>[2]4-8</sup>,不利于羊踯躅及其品种的繁殖和推广应用。作者以‘金踯躅’茎段为外植体,对诱导培养基、增殖培养基和生根培养基中的激素种类和浓度以及增殖培养基中的蔗糖浓度进行筛选,以期建立稳定、高效的‘金踯躅’离体再生体系,为该品种的规模化繁育及稳定生产奠定基础。

### 1 材料和方法

#### 1.1 材料

供试‘金踯躅’栽培苗取自中国科学院昆明植物研究所

植物园。于2016年6月初剪取长7~10 cm的‘金踯躅’当年生枝条,切成带1或2个腋芽的茎段,用体积分数75%乙醇漂洗20 s,无菌水冲洗3~5遍,再用质量体积分数0.1%氯化汞消毒5~8 min,无菌水冲洗3~5遍,作为外植体备用。

#### 1.2 方法

1.2.1 诱导培养基中激素配比及培养 通过预实验确定WPM培养基(含6.5 g · L<sup>-1</sup>琼脂,pH 5.6)为基本培养基,添加30 g · L<sup>-1</sup>蔗糖以及不同浓度的细胞分裂素和生长素组合。其中,细胞分裂素为1.0 mg · L<sup>-1</sup>6-BA(6-苄氨基腺嘌呤)、1.0 mg · L<sup>-1</sup>2-ip(异戊烯基腺嘌呤)和1.0 mg · L<sup>-1</sup>KT(激动素);生长素为0.1 mg · L<sup>-1</sup>NAA(萘乙酸)、0.1 mg · L<sup>-1</sup>IAA(吲哚乙酸)和0.1 mg · L<sup>-1</sup>IBA(吲哚丁酸),采用完全随机实验设计,共设置9个处理组;每处理组10瓶,每瓶接种3个茎段。于温度20℃~23℃、空气相对湿度50%~60%、光照度1500~1800 lx、光照时间8 h · d<sup>-1</sup>的条件下培养30 d;统计分化出不定芽的茎段数,按照公式“分化率=(分化出不定芽的茎段数/接种茎段数)×100%”计算分化率,并据此确定适宜

收稿日期: 2018-09-10

基金项目: 贵州省科技计划项目(黔科合平台人才[2017]5229)

作者简介: 田晓玲(1986—),女,山西孝义人,硕士,讲师,主要从事珍稀濒危植物的保护生物学研究。

①通信作者 E-mail: 282148027@qq.com

的诱导培养基。

1.2.2 增殖培养基配比的正交试验 采用  $L_9(3^4)$  正交试验设计,设置3因子分别为2-ip浓度、NAA浓度和蔗糖浓度,其中,2-ip浓度分别为0.5、1.0和1.5  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,NAA浓度分别为0.05、0.10和0.15  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,蔗糖浓度分别为20、30和40  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ,共设置9个处理组;每处理组10瓶,每瓶接种3个不定芽。在WPM培养基中按上述正交试验设计分别添加2-ip、NAA和蔗糖,并按照上述条件培养30d,统计试管苗数,按照公式“增殖率=(试管苗数/接种不定芽数) $\times 100\%$ ”和“增殖倍数=试管苗数/出现试管苗的不定芽数”计算增殖率和增殖倍数,并据此确定适宜的增殖培养基。

1.2.3 生根培养基中激素配比及培养 在含有30  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 蔗糖的WPM培养基中分别添加NAA(浓度分别为0.10、0.50和1.00  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )、IBA(浓度分别为0.10、0.50和1.00  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )和NAA-IBA(NAA和IBA浓度均分别为0.05、0.25和0.50  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ),共设置9个处理组;每处理组10瓶,每瓶接种3株试管苗。按照上述培养条件培养30d,统计生根苗数,按照公式“生根率=(生根苗数/接种苗数) $\times 100\%$ ”计算生根率,并据此确定适宜的生根培养基。

### 1.3 数据处理和分析

采用EXCEL 2007和SPSS 16.0软件对实验数据进行统计分析。

## 2 结果和分析

### 2.1 诱导培养基中激素配比对‘金脚躄’茎段分化的影响

诱导培养基中细胞分裂素和生长素浓度对‘金脚躄’茎段分化率的影响见表1。结果显示:总体上看,在添加1.0  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 2-ip的培养基中,茎段分化率(分化率均值为66.7%)显著高于添加1.0  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA或1.0  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ KT

表1 诱导培养基中激素配比对‘金脚躄’茎段分化率的影响( $\bar{X} \pm SE$ )  
Table 1 Effect of hormone proportion in induction medium on differentiation rate of stem segment of *Rhododendron molle* ‘Jinzhizhu’ ( $\bar{X} \pm SE$ )

| 编号<br>No. | 激素配比<br>Hormone proportion   | 分化率/% <sup>1)</sup><br>Differentiation rate <sup>1)</sup> |
|-----------|--|---|
| 1         | 1.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 2-ip-0.1 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA | 83.3 $\pm$ 5.6a   |
| 2         | 1.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 2-ip-0.1 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IAA | 60.0 $\pm$ 6.7b   |
| 3         | 1.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 2-ip-0.1 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IBA | 56.7 $\pm$ 7.1b   |
| 4         | 1.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA-0.1 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA | 36.7 $\pm$ 7.8c   |
| 5         | 1.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA-0.1 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IAA | 30.0 $\pm$ 7.8cd  |
| 6         | 1.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA-0.1 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IBA | 33.3 $\pm$ 7.0cd  |
| 7         | 1.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ KT-0.1 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA   | 16.7 $\pm$ 5.6de  |
| 8         | 1.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ KT-0.1 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IAA   | 6.7 $\pm$ 4.4e  |
| 9         | 1.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ KT-0.1 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IBA   | 3.3 $\pm$ 3.3e  |

<sup>1)</sup> 同列中不同的小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ ) Different lowercases in the same column indicate the significant ( $P < 0.05$ ) difference.

的培养基(分化率均值分别为33.3%和8.9%),而在添加0.1  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA的培养基中,茎段分化率(分化率均值为45.6%)显著高于添加0.1  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IAA或0.1  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IBA的培养基(分化率均值分别为32.2%和31.1%)。其中,在添加1.0  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 2-ip和0.1  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA的培养基中,茎段基部分化出大量不定芽,分化率达到83.3%,显著高于其他培养基。

### 2.2 增殖培养基配比对‘金脚躄’不定芽增殖的影响

增殖培养基中2-ip、NAA和蔗糖浓度对‘金脚躄’不定芽增殖率的影响见表2。结果显示:在添加0.5  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 2-ip、0.05  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA和20  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 蔗糖,添加1.0  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 2-ip、0.05  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA和30  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 蔗糖以及添加1.5  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 2-ip、0.10  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA和20  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 蔗糖的3组培养基中,不定芽增殖率均大于90%,且总体上显著大于其他培养基,其中后2组培养基中不定芽增殖率均达到93.3%,增殖倍数也较大,分别为3.4和3.5。在添加0.5  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 2-ip、0.15  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA和40  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 蔗糖的培养基中,不定芽增殖率最低,仅为13.3%。

表2 增殖培养基配比对‘金脚躄’不定芽增殖率影响效应的  $L_9(3^4)$  正交试验结果( $\bar{X} \pm SE$ )

Table 2 Result of  $L_9(3^4)$  orthogonal experiment on effect of proportion of proliferation medium on proliferation rate of adventitious bud of *Rhododendron molle* ‘Jinzhizhu’ ( $\bar{X} \pm SE$ )

| 编号<br>No. | 因子和水平 <sup>1)</sup><br>Factor and level <sup>1)</sup> |      |    | 增殖率/% <sup>2)</sup><br>Proliferation rate <sup>2)</sup> | 增殖倍数<br>Proliferation multiple |
|-----------|---|------|----|---|--------------------------------|
|           | A   | B    | C  |   |                                |
| 1         | 0.5   | 0.05 | 20 | 90.0 $\pm$ 5.1a   | 2.5                            |
| 2         | 0.5   | 0.10 | 30 | 43.3 $\pm$ 5.1cd  | 1.5                            |
| 3         | 0.5   | 0.15 | 40 | 13.3 $\pm$ 5.4d   | 2.0                            |
| 4         | 1.0   | 0.05 | 30 | 93.3 $\pm$ 4.4a   | 3.4                            |
| 5         | 1.0   | 0.10 | 40 | 73.3 $\pm$ 4.4b   | 1.5                            |
| 6         | 1.0   | 0.15 | 20 | 86.7 $\pm$ 5.1ab  | 1.7                            |
| 7         | 1.5   | 0.05 | 40 | 56.7 $\pm$ 5.1c   | 2.7                            |
| 8         | 1.5   | 0.10 | 20 | 93.3 $\pm$ 7.4a   | 3.5                            |
| 9         | 1.5   | 0.15 | 30 | 56.7 $\pm$ 5.4c   | 2.5                            |

<sup>1)</sup> A: 2-ip浓度 Concentration of 2-ip ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ); B: NAA浓度 Concentration of NAA ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ); C: 蔗糖浓度 Concentration of sucrose ( $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ).

<sup>2)</sup> 同列中不同的小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ ) Different lowercases in the same column indicate the significant ( $P < 0.05$ ) difference.

### 2.3 生根培养基中激素配比对‘金脚躄’试管苗生根的影响

生根培养基中生长素浓度对‘金脚躄’试管苗生根的影响见表3。结果显示:在添加0.50和1.00  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA的培养基中试管苗的生根率较高;其中,在添加0.50  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA的生根培养基中试管苗的生根率最高,达到70.0%,显著高于其他培养基。在添加0.50  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA和0.50  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IBA的生根培养基中试管苗的生根率最低,仅为13.3%。总体上

表3 生根培养基中激素配比对‘金蹄躄’试管苗生根状况的影响 ( $\bar{X} \pm SE$ )

Table 3 Effect of hormone proportion in rooting medium on rooting status of *Rhododendron molle* ‘Jinzhihu’ plantlet ( $\bar{X} \pm SE$ )

| 编号<br>No. | 激素配比<br>Hormone proportion                                  | 生根率/% <sup>1)</sup><br>Rooting rate <sup>1)</sup> |
|-----------|---|---|
| 1         | 0.10 mg · L <sup>-1</sup> NAA                               | 16.7 ± 5.6c                                       |
| 2         | 0.50 mg · L <sup>-1</sup> NAA                               | 70.0 ± 6.0a                                       |
| 3         | 1.00 mg · L <sup>-1</sup> NAA                               | 40.0 ± 6.7b                                       |
| 4         | 0.10 mg · L <sup>-1</sup> IBA                               | 23.3 ± 8.7bc                                      |
| 5         | 0.50 mg · L <sup>-1</sup> IBA                               | 33.3 ± 7.0b                                       |
| 6         | 1.00 mg · L <sup>-1</sup> IBA                               | 20.0 ± 7.4c                                       |
| 7         | 0.05 mg · L <sup>-1</sup> NAA-0.05 mg · L <sup>-1</sup> IBA | 13.3 ± 5.4c                                       |
| 8         | 0.25 mg · L <sup>-1</sup> NAA-0.25 mg · L <sup>-1</sup> IBA | 30.0 ± 9.2bc                                      |
| 9         | 0.50 mg · L <sup>-1</sup> NAA-0.50 mg · L <sup>-1</sup> IBA | 33.3 ± 7.0bc                                      |

<sup>1)</sup> 同列中不同的小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ ) Different lowercases in the same column indicate the significant ( $P < 0.05$ ) difference.

看,在生根培养基中组合添加 NAA 和 IBA 对‘金蹄躄’试管苗生根无明显的促进作用。

### 3 讨 论

杜鹃属(*Rhododendron* Linn.)在中国包含9个亚属,且各亚属种类具有不同的特性,因而,虽然对杜鹃属植物的组培已有较多研究报道<sup>[5-8],[9]4-9,[10-13]</sup>,但杜鹃属不同种类对应的最适培养条件存在较大差别<sup>[9]36-39</sup>。毛元荣等<sup>[6]</sup>认为,对多数杜鹃属植物而言,低盐度的培养基较为适合;本研究使用的基本培养基为 WPM 培养基,属于中低盐度培养基,较适宜‘金蹄躄’茎段的组培,佐证了毛元荣等<sup>[6]</sup>的研究结果。

在杜鹃属植物的组培过程中,使用不同生长调节剂可导致外植体分化率差异明显<sup>[10]</sup>;常用的细胞分裂素多为 2-ip、6-BA 和 KT 单独使用或组合使用<sup>[6]</sup>。苗永美等<sup>[13]</sup>的研究结果表明:6-BA 仅有利于某些杜鹃属种类的组培,而 2-ip 则有利于多数杜鹃属种类的组培,且某些种类的丛生芽需转移至含 2-ip 的培养基上才能生长良好。本研究中,在添加 2-ip 的培养基上‘金蹄躄’茎段分化率显著高于添加 6-BA 或 KT 的培养基,并以 2-ip 和 NAA 组合使用的促分化效果最好,说明在诱导培养基中添加 2-ip 有利于‘金蹄躄’茎段的分化。

羊蹄躄扦插生根困难,生根率最高只能达到 43.2%<sup>[3]34</sup>。

通常情况下在生根培养基中添加 NAA、IBA 和 IAA 可促进试管苗生根,但单一生长素及生长素组合对生根的作用效应存在差异,其中组合使用生长素对某些植物试管苗的生根有协同促进作用<sup>[14]</sup>。在本研究中,仅添加 NAA 可使‘金蹄躄’试管苗的生根率显著提高,但 NAA 过高则导致其生根率降低,这可能与‘金蹄躄’内在特性或内源激素水平有关<sup>[11]</sup>,因此,在‘金蹄躄’试管苗的生根培养过程中应将生长素浓度控制在适宜范围内。

### 参考文献:

- [1] 杨春江,孙绍芳.羊蹄躄压条、扦插育苗技术初探[J].林业调查规划,2006,31(增刊):82-85.
- [2] 翁明武.羊蹄躄压条繁殖和组织培养技术研究[D].贵阳:贵州师范大学生命科学学院,2008.
- [3] 石登红.羊蹄躄种子萌发与扦插繁殖技术研究[D].贵阳:贵州师范大学生命科学学院,2006.
- [4] 杨灿娇,郑硕理,杨荣萍,等.羊蹄躄和日本杜鹃的传粉生物学与杂交育种初探[J].中国野生植物资源,2016,35(6):47-52.
- [5] 林魁,魏云华,魏宾斌.高山杜鹃组培快繁研究进展[J].现代农业科技,2017(13):144-145.
- [6] 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):20-24.
- [7] 蓝伟根,白宇清,谢利娟.杜鹃组织培养研究进展[J].南方林业科学,2016,44(4):25-28.
- [8] 苗永美.几种杜鹃组织培养技术研究[D].成都:四川农业大学林学院,2004:2-5,31-36.
- [9] 郭颖.三种高山杜鹃组织培养快繁技术研究[D].北京:北京林业大学园林学院,2015.
- [10] 周艳,陈训.马缨杜鹃继代培养培养基配方研究[J].安徽农业科学,2007,35(29):9213-9214.
- [11] 陈平芬,王连润,高飞,等.常绿杂交杜鹃组培快繁研究[J].安徽农业科学,2012,40(36):17482-17484.
- [12] 顾宏辉,袁群英,朱春燕,等.羊蹄躄的组织培养与快速繁殖[J].植物生理学通讯,2006,42(4):683.
- [13] 苗永美,简兴.杜鹃组培的研究[J].北方园艺,2004(3):76-77.
- [14] 李国树,李文春,徐成东,等.几种植物生长调节剂对山茶花扦插生根的影响[J].北方园艺,2011(14):65-69.

(责任编辑:郭严冬)