

毛棉杜鹃的组织培养与快速繁殖

赵富群^{1,2}, 尹茜², 洪文君^{2,3}, 唐光大^{2,*}

¹湖南环境生物职业技术学院园林学院, 湖南衡阳421005; ²华南农业大学中国南方石灰岩植物研究中心, 林学与风景园林学院, 广州510642; ³三亚市林业科学研究院, 海南三亚572000

摘要:以毛棉杜鹃种子为外植体, 采用丛生芽发生, 建立毛棉杜鹃组织培养与快速繁殖体系。结果表明, 毛棉杜鹃种子在0.6%琼脂和2.5%蔗糖的基本培养基中, 发芽率最高, 为64.6%。WPM培养基作为继代培养基, 植株状态最好, 培养60 d, 平均伸长长度达0.92 cm。最佳增殖培养基为Read+0.02 mg·L⁻¹ IBA+1.0 mg·L⁻¹ ZT, 培养60 d, 增殖倍数达4.50。最佳生根培养基为1/2WPM+1.0 mg·L⁻¹ IBA+0.02 mg·L⁻¹ ZT, 生根率高达83.33%。添加0.1%活性炭对苗高、生根率、生根数和根长均有较好的促进作用。组培苗移栽至泥炭土:珍珠岩(3:1)的培养穴盘中, 30 d后, 成活率超过90%。

关键词:毛棉杜鹃; 组织培养; 快速繁殖

毛棉杜鹃为杜鹃花科常绿灌木或小乔木, 自然分布于我国长江流域以南及印度东北部、印尼、马来西亚半岛、缅甸等地海拔400~1 500 m的丛林、灌丛及岩石旁。毛棉杜鹃极具观赏价值, 可观艳丽的花朵、嫩红的新叶、苍劲的树干, 园林应用可作造型盆景树、行道树、营造花丛和花群景观、作庭院孤植树、营造专类园等应用, 还兼具水土保持功能(黄滔等2009)。不少学者对毛棉杜鹃开展了地理分布、种群生态学(吴志等2009)、成花机理(孙敏等2009)、繁殖技术(李文华和贾彩娟2012; 熊友华等2011)和光合生理特性(张华等2012)等方面的研究, 这些研究为毛棉杜鹃资源的开发利用奠定了重要的理论基础。目前, 尚未见其组织培养方面相关报道。扦插等传统繁殖技术显示, 毛棉杜鹃种子播种幼苗生长缓慢, 高压繁殖受母株材料和繁殖季节的影响, 扦插繁殖生根率低。利用组织培养和快速繁殖技术, 开展毛棉杜鹃的产业化育苗研究, 具有繁殖系数高、繁殖速度快、不受季节影响、易于产业化、易于保留母株优良性状等优点, 对毛棉杜鹃的引种驯化和推广具有重要的生产实践指导意义。

材料与方法

1 实验材料

试验材料为毛棉杜鹃(*Rhododendron moulmainense* Hook. f.)种子, 采于广东省韶关市天井山。

2 实验方法

2.1 培养条件

培养基以3%蔗糖浓度, 琼脂0.6%, pH 5.8为基本培养条件。光照时间为12 h·d⁻¹, 培养温度为

25°C, 光照强度为40 μmol·m⁻²·s⁻¹。

2.2 种子灭菌

选取饱满种子, 包在纱布中, 先置于自来水下冲洗30 min, 用75%酒精浸泡1 min, 再用滴加2滴吐温-80的0.1%升汞(HgCl₂)消毒90 s, 无菌水冲洗5次, 用灭菌滤纸吸干种子表面的残留水分, 备用。

2.3 启动培养

将灭菌后的种子接种于添加0.6%琼脂、25%蔗糖、pH 5.8的基本培养基中, 培养基设以下三个处理: (1) 1/4MS; (2) WPM; (3) 无营养培养基(不添加任何营养的培养基)。每处理培养30瓶, 每瓶接种12粒种子。

2.4 继代培养

将具有3~4片真叶的毛棉杜鹃无菌种苗切去胚根, 继代于Read、1/4MS、MS、WPM 4种基本培养基中, 不添加任何植物激素。60 d后记录植株的生长状态, 筛选最佳继代基本培养基。

2.5 增殖培养

取毛棉杜鹃2 cm高的顶芽作增殖材料, 接种到所设计的各实验处理培养基中。每处理接种20株, 重复3次。每隔10 d观察植株的生长情况, 60 d后统计增殖系数。增殖系数=增殖总芽数/接种的外植体总数×100%。

2.5.1 基本培养基筛选

以基本培养基WPM、Read、1/4MS为3个处

收稿 2017-04-20 修定 2017-08-01

资助 广东省林业厅项目(粤财农[2017]83号)广州市科技计划项目(11C12100776/L1110887)。

* 通讯作者(E-mail: gatang@scau.edu.cn)。

理组进行基本培养基筛选实验, 添加相同的植物生长调节剂(0.1 mg·L⁻¹ NAA+0.5 mg·L⁻¹ ZT)。

2.5.2 生长素筛选

选取Read+0.5 mg·L⁻¹ ZT培养基, 分别设置了NAA (0.02、0.05、0.1和0.5 mg·L⁻¹)、IAA (0.02、0.05、0.1、0.5和1.0 mg·L⁻¹)、IBA (0.02、0.05、0.1、0.5和1.0 mg·L⁻¹), 以不添加生长素为对照组, 共15个处理组。

2.5.3 细胞分裂素筛选

选取Read+0.02 mg·L⁻¹ IBA培养基, 分别设置6-BA (0.2、0.5、1.0和1.5 mg·L⁻¹)、ZT (0.1、0.2、0.5、1.0和1.5 mg·L⁻¹)、TDZ (0.001、0.01、0.1和0.2 mg·L⁻¹), 以不添加细胞分裂素为对照组, 共14个处理组。

2.6 生根诱导

选取生长健壮的无根幼苗作试验材料。接种到所设计的各实验处理培养基中。每处理20株, 3次重复。培养60 d后统计生根率、生根数和平均根长。

2.6.1 不同生长素对生根的影响

采用1/2WPM培养基, 分别添加NAA (0.02、0.1、0.5、1.0、1.5和2.0 mg·L⁻¹)、IAA (0.02、0.1、0.5、1.0、1.5和2.0 mg·L⁻¹)、IBA (0.02、0.1、0.5、1.0、1.5和2.0 mg·L⁻¹)共18个处理组。

2.6.2 不同ZT浓度对生根的影响

试验以1/2WPM+1.0 mg·L⁻¹ IBA培养基, 添加不同浓度ZT (0、0.02、0.1、0.2和0.5 mg·L⁻¹)共5个处理组。

2.6.3 不同比例活性炭对生根的影响

选取1/2WPM+1.0 mg·L⁻¹ IBA培养基, 添加不同比例(0、0.1%、0.2%、0.3%、0.4%和0.5%)的活性炭共6个处理组。

2.7 炼苗及移栽

将培养瓶移至自然环境下, 放置3 d左右; 拧松瓶盖, 继续培养5~7 d后; 移栽到以泥炭土和珍珠岩(体积比3:1)的基质中, 30 d后统计成活率。

3 数据处理

试验数据采用SPSS进行数据统计与分析。

实验结果

1 不同基本培养基对无菌种子萌发率的影响

种子在接种后13 d, 开始有绿色芽点长出, 分

别在15、25、35和45 d统计发芽率。从表1可以看出, 无营养培养基中, 毛棉杜鹃无菌种子萌发状态最好(图1-A), 发芽率最高, 为64.6%, 显著高于WPM和1/4MS培养基。

表1 不同基本培养基对毛棉杜鹃无菌种子萌发的影响

Table 1 Effects of different media on seed germination of *R. moulmainsense*

培养基	发芽率/%			
	15 d	25 d	35 d	45 d
无营养培养基	7.6	49.6	64.6	64.6 ^a
WPM	4.5	25.8	30.0	30.0 ^b
1/4MS	1.7	19.4	25.7	25.7 ^b

同列不同小写字母表示在0.05水平上的差异显著。下表同此。

2 毛棉杜鹃继代和增殖

2.1 不同基本培养基对毛棉杜鹃继代和增殖的影响

不添加任何激素继代培养毛棉杜鹃无菌种苗, 在4种基本培养基(WPM、1/4MS、Read和MS)中的平均增高依次分别为(0.92±0.06)、(0.69±0.04)、(0.69±0.04)和0 cm。结果显示, 毛棉杜鹃在MS培养基中无增高现象、亦无腋芽的生长, 继代30 d后, 28.3%种苗干枯死; 在其余三种基本培养基中均有一定的增高, WPM培养基中植株健壮(图1-B), 增高幅度最大, 显著大于其他三种培养基, 最适毛棉杜鹃继代培养。

3种不同基本培养基增殖培养实验结果(表2)显示, 毛棉杜鹃苗在1/4MS培养基中有轻微玻璃化及扭曲现象, 增殖倍数最低; WPM培养基上的植株有丛芽增殖, 增殖倍数中等, 但其芽苗长势健壮, 茎红色, 节间短, 后期生长快; 在Read培养基上的植株丛芽多, 增殖倍数最高(4.22), 显著高于WPM和1/4MS培养基。综合增殖倍数和植株生长状态分析, Read培养基对毛棉杜鹃茎段增殖效果最佳。

2.2 生长素对毛棉杜鹃增殖的影响

Read+0.5 mg·L⁻¹ ZT为基本培养基, 添加IBA、NAA和IAA浓度为0.02 mg·L⁻¹时, 增殖倍数在同类生长素中均呈现最大。随着浓度的增加, 增殖倍数降低(表3)。添加较低浓度(0.02~0.1 mg·L⁻¹) IAA、(0.02 mg·L⁻¹) NAA与对照处理的植株均出现玻璃化现象, 分化芽多为无效芽; 添加1.0 mg·L⁻¹ IBA、0.5~1.0 mg·L⁻¹ IAA和0.05~0.5 mg·L⁻¹ NAA

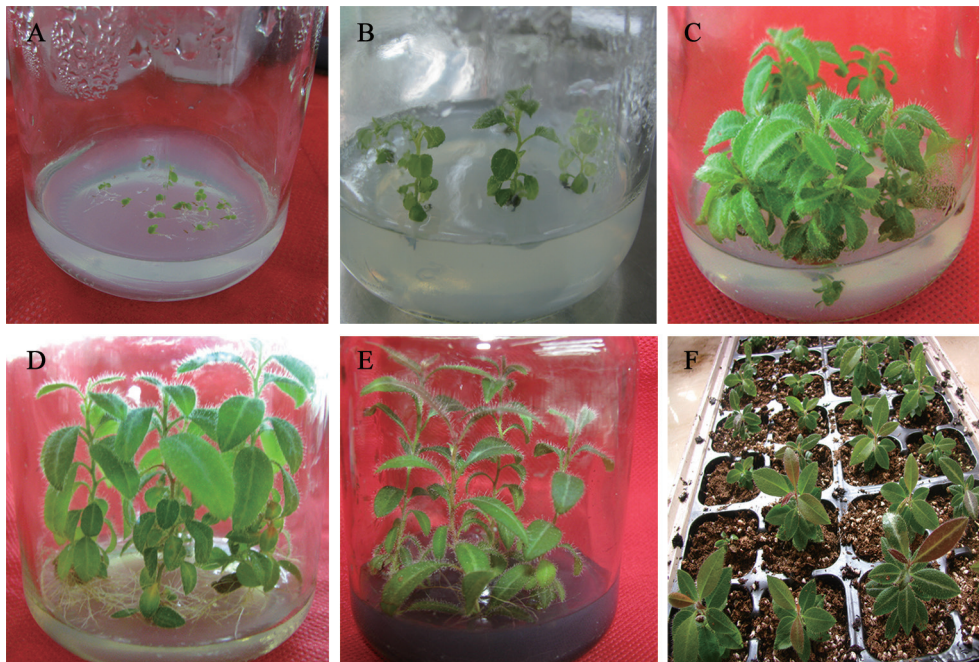


图1 毛棉杜鹃无菌播种与快速繁殖

Fig.1 Aseptic seeding and rapid propagation of *R. moultmainense*

A: 无菌种子萌发; B: 继代培养; C: 增殖培养; D: 生根培养; E: 生根培养添加活性炭; F: 移栽。

表2 不同基本培养基对毛棉杜鹃增殖的影响

Table 2 Effects of different media on multiplication of *R. moultmainense*

基本培养基	增殖倍数	生长形态描述
WPM	2.57±0.29 ^{ab}	苗粗壮、茎红色, 节间短, 后期生长快
1/4MS	1.62±0.22 ^b	苗有轻微玻化、扭曲现象, 叶脉显白, 部分基部叶枯黄
Read	4.22±1.03 ^a	苗新抽顶芽节间长, 有丛生芽增殖

表3 不同生长素及其浓度对毛棉杜鹃增殖和生长状态的影响

Table 3 Effects of different auxins and concentrations on multiplication and growth status of *R. moultmainense*

生长素浓度/mg·L ⁻¹	增殖倍数	生长描述	
对照	2.14±0.34 ^{def}	玻璃化, 主要分化无效芽	
IBA	0.02	3.32±0.12 ^a	主要进行丛芽分化
	0.05	2.61±0.01 ^{bc}	主要进行丛芽分化
	0.10	2.17±0.16 ^{def}	主要进行丛芽分化
	0.50	1.99±0.16 ^{fg}	丛芽矮小, 基部分化红色愈伤组织
	1.00	2.34±0.16 ^{cdef}	茎伸长, 少分化丛芽, 基部分化愈伤组织
IAA	0.02	2.78±0.12 ^b	玻璃化, 分化无效芽
	0.05	2.00±0.07 ^f	玻璃化, 分化无效芽
	0.10	2.55±0.15 ^{bcd}	玻璃化, 分化无效芽
	0.50	2.47±0.27 ^{bcd}	茎伸长, 少分化丛芽
	1.00	2.22±0.02 ^{cdef}	茎伸长, 少分化丛芽
NAA	0.02	2.57±0.36 ^{bcd}	玻璃化, 分化无效芽
	0.05	2.21±0.13 ^{cdef}	茎伸长, 少丛芽分化, 基部分化愈伤组织
	0.10	2.07±0.26 ^{ef}	茎伸长, 少丛芽分化, 基部分化愈伤组织
	0.50	1.62±0.21 ^g	茎伸长, 少丛芽分化, 基部分化愈伤组织

时, 芽的伸长生长好, 但增殖少, 基部分化红色愈伤组织。从表3可见, IAA或NAA处理组的增殖效果均不佳, 玻璃化苗多, 植株分化的丛芽少或为无效芽。0.02 mg·L⁻¹ IBA处理组有丛芽分化, 增殖倍数显著最高。

2.3 细胞分裂素对毛棉杜鹃增殖的影响

以Read+0.02 mg·L⁻¹ IBA为基本培养基进行细胞分裂素的筛选试验。预实验结果表明, 添加6-BA处理的植株生长较慢, 无从芽增殖; 添加TDZ的外植体虽然初期见到每个节有芽点分化, 但随后绿色芽点变黑, 最终倒伏; 只有添加ZT的植株出现丛芽增殖。表4显示, 以1.5 mg·L⁻¹ ZT处理组的增殖倍数最大, 但芽纤细, 叶片细小; 低浓度(0.1~0.2 mg·L⁻¹) ZT处理组的植株生长状况和增殖倍数

与对照差异不显著, 其叶面反卷, 生长纤弱。ZT浓度为0.5~1.0 mg·L⁻¹时, 植株分化芽健壮, 以培养基Read+0.02 mg·L⁻¹ IBA+1.0 mg·L⁻¹ ZT的增殖效果最好, 植株生长健壮(图1-C)。

3 毛棉杜鹃的生根诱导

3.1 不同生长素对毛棉杜鹃生根的影响

表5显示, 高浓度IBA处理的生根率较高, 根系生长较好, 以1.5 mg·L⁻¹ IBA处理的生根率最高(80.17%)、平均生根数较多(13.57条)、根长较长(1.78 cm), 其次是1.0和0.5 mg·L⁻¹ IBA, 其余IBA处理的生根率均低于50%, 平均根数及根长亦较差。NAA处理的以0.5 mg·L⁻¹ NAA的生根率较高(75%), 其次是1.5和1.0 mg·L⁻¹ NAA, 其余处理的均低于52%, 根系生长状态则以1.0 mg·L⁻¹ NAA处理较好

表4 不同ZT浓度对毛棉杜鹃顶芽增殖的影响

Table 4 Effects of different ZT concentrations on phyllophore multiplication of *R. moulmainsense*

ZT浓度/mg·L ⁻¹	增殖倍数	生长状态
0 (对照)	2.48±0.19 ^b	植株叶面反卷, 生长纤细
0.1	2.37±0.13 ^b	植株叶面反卷, 生长纤细
0.2	3.22±0.19 ^b	植株叶面反卷, 生长纤细
0.5	4.42±0.28 ^a	增殖倍数显著增加, 分化芽健壮
1.0	4.50±0.40 ^a	增殖倍数显著增加, 分化芽健壮
1.5	5.08±0.80 ^a	增殖丛芽显著增多, 但芽纤细, 叶片细小

表5 不同生长素及其浓度对毛棉杜鹃生根的影响

Table 5 Effects of different auxins and their concentrations on rooting of *R. moulmainsense*

生长素浓度/mg·L ⁻¹	生根率/%	生根数/条	平均根长/cm	
IBA	0.02	41.1 ^{ef}	3.64±2.22 ^{ef}	0.58±0.34 ^g
	0.1	38.9 ^{ef}	7.17±1.89 ^{bcdef}	1.13±0.38 ^{def}
	0.5	75.0 ^{abc}	11.94±6.25 ^{ab}	1.48±0.13 ^{cde}
	1.0	77.5 ^{ab}	11.95±2.67 ^{ab}	1.48±0.67 ^{cde}
	1.5	80.17 ^a	13.57±3.88 ^a	1.78±0.53 ^{bc}
	2.0	43.6 ^{def}	5.58±0.38 ^{cdef}	0.92±0.18 ^{ef}
NAA	0.02	46.7 ^d	3.18±1.16 ^f	0.71±0.15 ^f
	0.1	51.7 ^{cde}	3.92±1.01 ^{def}	1.22±0.39 ^{edef}
	0.5	75.0 ^{abc}	9.36±2.91 ^{abc}	1.67±0.33 ^{bcd}
	1.0	65.5 ^{abcd}	10.29±5.68 ^{abc}	2.30±0.68 ^b
	1.5	66.7 ^{abcd}	8.63±3.46 ^{abcde}	1.45±0.33 ^{cde}
	2.0	44.4 ^{def}	5.88±2.72 ^{cdef}	1.16±0.34 ^{edef}
IAA	0.02	52.2 ^{cde}	3.88±0.98 ^{def}	0.69±0.12 ^f
	0.1	50.0 ^{de}	2.97±0.73 ^f	0.54±0.10 ^g
	0.5	66.7 ^{abcd}	7.82±3.51 ^{abcdef}	1.17±0.64 ^{cedf}
	1.0	21.1 ^f	8.92±5.13 ^{abcd}	1.11±0.10 ^{def}
	1.5	59.0 ^{bcd}	9.33±4.11 ^{abcd}	1.23±0.11 ^{odef}
	2.0	74.4 ^{abc}	8.83±2.11 ^{abcde}	2.46±0.55 ^a

(平均生根数10.29条, 平均根长2.30 cm)。IAA处理的以 $2.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ IAA的生根率较高(74.4%)、平均根长最长(2.46 cm), $1.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 处理的平均根数较多。从生长状态来看, 生长素浓度高于1.0时, 毛棉杜鹃幼苗基部常常诱导出红色愈伤组织, 且随着浓度的增加, 愈伤组织生长越旺盛, 植株长势受到影响, 植物倾斜倒伏, 叶片变黄, 不利于后期移栽。综合考虑生根率、根系状态、植株生长状态, 以添加 $1.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ IBA作为毛棉杜鹃生根诱导为宜。

3.2 不同ZT浓度对毛棉杜鹃生根的影响

在培养基 $1/2\text{WPM}+1.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ IBA+ $0.02 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ZT中, 组培苗的生根率为83.33%, 生根数约14条, 平均根长为1.97 cm, 均最佳(表6)。不添加ZT的植株基部分化大量愈伤组织, 生根率(73.61%)、平均

生根数(10.69条)、平均根长(1.34 cm)均低于添加 $0.02 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ZT的; ZT浓度过高时, 则诱导丛生芽分化, 降低生根率。说明添加低浓度ZT利于减少愈伤组织, 促进生根(图1-D)。

3.3 不同活性炭浓度对毛棉杜鹃生根的影响

活性炭有利于根的正常生长和发育(毛元荣2004), 被广泛应用于组培材料的生根。添加不同比例的活性炭可显著提高毛棉杜鹃芽苗的平均根长。当活性炭含量为0.1%时, 芽苗的生根率、生根数和平均根长均达到最高(图1-F); 当活性炭含量大于0.2%时, 其芽苗的叶片发黄, 生根率、生根数和平均根长均呈下降趋势(表7); 由此可见培养基中添加0.1%活性炭对毛棉杜鹃芽苗生根的促进作用最佳。

表6 不同ZT浓度对毛棉杜鹃生根的影响

Table 6 Effects of different ZT concentrations on rooting of *R. moulmainsense*

ZT浓度/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	生根率/%	生根数/条	平均根长/cm	植株生长状态
0 (对照)	73.61 ^{ab}	10.69±3.02 ^{ab}	1.34±0.21 ^{bc}	植株基部分化大量愈伤。
0.02	83.33 ^a	13.74±3.65 ^a	1.97±0.45 ^a	植株健壮、根系良好, 白色。
0.10	80.00 ^b	12.06±4.02 ^{ab}	1.72±0.16 ^{ab}	植株健壮、根系良好, 白色。
0.20	39.17 ^b	6.67±1.53 ^b	1.35±0.15 ^{bc}	植株分化丛生芽, 根浅绿色。
0.50	35.83 ^b	4.33±1.53 ^c	1.20±0.1 ^c	植株分化丛生芽, 根浅绿色。

表7 不同活性炭浓度对毛棉杜鹃生根的影响

Table 7 Effects of different activated carbon concentrations on rooting of *R. moulmainsense*

活性炭浓度/%	生根率/%	生根数/条	平均根长/cm
0 (对照)	75.33 ^a	10.79±2.88 ^{ab}	1.36±0.19 ^c
0.1	81.00 ^a	11.57±2.46 ^a	2.42±0.38 ^a
0.2	66.67 ^{abc}	8.88±2.40 ^{abc}	2.03±0.36 ^{ab}
0.3	73.00 ^{ab}	7.93±0.48 ^{abc}	1.73±0.15 ^b
0.4	44.33 ^{bc}	7.23±1.80 ^{bc}	1.79±0.11 ^b
0.5	42.00 ^c	6.25±2.18 ^c	1.75±0.15 ^b

4 毛棉杜鹃组培苗的移栽

毛棉杜鹃组培苗移栽30 d后统计成活率, 成活率在90%以上。移栽50 d左右, 毛棉杜鹃叶片舒展, 加厚, 并有嫩红色新叶长出(图1-F)。

讨 论

杜鹃花属植物的组织培养的基本培养基有多种, 其中最常用的是Read、WPM、Anderson、改良

的MS、 $1/4\text{MS}$ 等5种(陈振光等1984)。本试验结果发现毛棉杜鹃无菌种苗继代以WPM为基本培养基可获得健壮植株, 但增殖培养以Read培养基增殖倍数最高, 达4.5。这与露珠杜鹃(*R. irroratum*)的组培研究结果一致(郭颖2015), 但在云锦杜鹃(*R. fortunei*)的培养中, 以 $1/4\text{MS}$ 培养基更佳(唐映红等2015); 牛皮杜鹃(*R. chrysanthum*)以WPM培养基为最佳(丁洪玲2008)。由此可见, 杜鹃花属不同种类的组培对基本培养基的要求有所不同, 筛选合适的基本培养基, 是成功实现杜鹃花属植物组培繁殖的第一步。

在杜鹃花的增殖过程中, 不同种类杜鹃花外植体在形成芽时, 需要的激素种类及浓度差异较大。6-BA在本试验中未能诱导毛棉杜鹃芽的增殖, 亦未能诱导马缨杜鹃(*R. delavayi*)腋芽增殖(周艳和陈训2007), 且在含有6-BA培养基上, 大树杜鹃(*R. protium*)芽苗长势弱, 有死亡迹象(苗永美等2007), 说明6-BA不利于包括毛棉杜鹃在内的某些杜鹃花属的增殖生长。

TDZ对杜鹃花属植物分化丛生芽的诱导效果较好, $0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ TDZ适合诱导杜鹃花(*R. simsii*)叶片分化丛生芽(秦静远和黄玉敏2003); $0.8 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ TDZ适合诱导马缨杜鹃无菌苗茎段分化丛生芽(程雪梅等2008); $2.3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ TDZ适合诱导烈香杜鹃(*R. anthoponoides*)嫩茎腋芽(顾地周等2012)分化丛生芽。本研究使用 $0.001 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ TDZ即可诱导芽点, 但后期苗生长倒伏、畸形, 说明毛棉杜鹃对TDZ的反应极为敏感, 不同杜鹃花种类对TDZ浓度要求存在差异。

ZT是用于杜鹃属植物组培增殖的常用生长调节剂, $5.0\sim 10.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ZT比较适合牛皮杜鹃生长(丁洪玲2008); $5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ZT浓度适合露珠杜鹃增殖(郭颖2015), $7 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ZT更适合云锦杜鹃芽诱导(唐映红等2015)。本试验结果表明, $1.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ZT对毛棉杜鹃的增殖效果较好, 明显低于前三者的浓度, 说明不同杜鹃花属植物的组培增殖对ZT浓度的要求存在差异。

当生长素浓度过高时, 杜鹃组培苗基部会分化愈伤瘤, 影响根系形态, 最终会导致杜鹃组培苗的移栽成活率下降, 但添加低浓度的ZT或添加活性炭均可减缓愈伤瘤的分化(毛元荣等2004; 顾地周等2009)。活性炭能吸附培养物在培养过程中分泌的酚类、醌类物质, 防止导致褐变的有害物质积累; 但活性炭也能吸附植物生长调节物质, 不利于诱导出芽和愈伤组织(刘用生和李友用1994)。本研究结果显示生长素浓度高于 $1.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时, 毛棉杜鹃芽基部的基部会产生愈伤组织; 添加 $0.02 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ZT或 0.1% 活性炭可减少愈伤组织形成, 促进根的生长。因此, 诱导毛棉杜鹃生根的最适于培养基为 $1/2\text{WPM}+1.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ IBA+ $0.02 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ZT+ 0.1% 活性炭。

杜鹃花属植物组培的外植体多采用茎尖(Anderson 1975)或带芽的幼嫩茎段(顾地周等2012), 但也有一些研究人员采用叶片(秦静远和黄玉敏2003)、花苞(郭颖2015)等作为外植体, 并成功培养出再生植株, 这些研究为毛棉杜鹃组织培养技术的优化提供了重要的成功范例。毛棉杜鹃的种子细小, 数量极多, 取材容易, 本研究利用毛棉杜鹃种子作为外植体, 构建了组织培养技术体系, 对该物种的人工培养和开发利用具有重要的生产实践意义。

参考文献

- Chen XM, Zhao MX, He CZ, Zhou M, Xu CH (2008). Tissue culture and rapid propagation of *Rhododendron delavayi* Franch. *Plant Physiol Commun*, 44 (02): 297–298 (in Chinese) [程雪梅, 赵明旭, 何承忠, 周敏, 许昌慧(2008). 马缨杜鹃的组织培养与快速繁殖. *植物生理学通讯*, 44 (02): 297–298]
- Chen ZG, Xie XY, Lin QL, Wang TC (1984). The stem tip rapid propagation of famous *Rhododendron* in Fujian. *Fujian Fruits*, (02): 28–29 (in Chinese) [陈振光, 谢锡瑜, 林庆良, 王天池(1984). 我省名贵杜鹃茎尖培养快速繁殖. *福建果树*, (02): 28–29]
- Ding HL (2008). Study on the tissue culture and anatome plantarum of *Rhododendron chrysanthum* Pall [Master's thesis]. Yanbian: Yanbian University (in Chinese with English abstract) [丁洪玲(2008). 牛皮杜鹃组织培养及植株解剖学研究(硕士论文). 延边: 延边大学]
- Gu DZ, Gao HD, Guo YX, Cao X, Zhu JY, Jiang YT (2009). *In vitro* culture and germplasm preservation in vitro system of *Rhododendron confertissimum* Nakai. *J Northwest Sci-Tech Univ Agric For (Nat & Ed)*, (04): 151–157 (in Chinese with English abstract)[顾地周, 高捍东, 郭玉昕, 曹逊, 朱俊义, 姜云天(2009). 毛毡杜鹃离体培养及种质试管保存体系的建立. *西北农林科技大学学报(自然科学版)*, (04): 151–157]
- Gu DZ, Lu S, Ba CY, Li YY (2012). *In vitro* culture and efficient plantlet regeneration of *Rhododendron anthopogonoides* Maxim. *Plant Physiol J*, 48 (04): 381–385 (in Chinese with English abstract) [顾地周, 陆爽, 巴春影, 李媛媛(2012). 烈香杜鹃的离体培养和高效植株再生. *植物生理学报*, 48 (04): 381–385]
- Guo Y (2015). *In vitro* rapid propagation of three *Rhododendron* spp [Master's thesis]. Beijing: Beijing Forestry University (in Chinese with English abstract) [郭颖(2015). 三种高山杜鹃组织培养快繁技术研究(硕士论文). 北京: 北京林业大学]
- Huang T, Liao JY, Tang H (2010). Geographica distribution and utilization of *Rhododendron moulmainsense* in China. *J Hunan Environ-Biol Polytechnic*, 29 (2): 1–4 (in Chinese with English abstract) [黄滔, 廖菊阳, 唐红(2010). 毛棉杜鹃地理分布及其开发利用. *湖南环境生物职业技术学院学报*, 29 (2): 1–4]
- Li WH, Jia CJ (2012). The study on the reproduce of *Rhododendron moulmainsense*. *Jilin Agric*, 264 (2): 164–165 (in Chinese with English abstract) [李文华, 贾彩娟(2012). 毛棉杜鹃繁殖研究. *吉林农业*, 264 (2): 164–165]
- Liu YS, Li YY (1994). The use of activated charcoal in plant tissue culture. *Plant Physiol Commun*, 30 (3): 214–217 (in Chinese) [刘用生, 李友用(1994). 植物组织培养中活性炭的使用. *植物生理学通讯*, 30 (3): 214–217]
- Mao YR, Lu Q, Tang M, Zhou GY (2004). Factors effecting the rooting of *Rhododendron delavayi*. *J Qufu Normal Univ (Nat Sci)*, 30 (1): 88–91 (in Chinese with English abstract) [毛元荣, 路群, 汤敏, 周根余(2004). 影响高山杜鹃生根的几个因素. *曲阜师范大学学报(自然科学版)*, 30 (1): 88–91]
- Miao YM, Wang YQ, Zhuang P, Jian X (2007). Study on technique of tissue culture in *Rhododendron protisum* var *giganteum*. *J Anhui Sci-Tech Univ*, 21 (6): 23–26 (in Chinese with English abstract) [苗永美, 王永清, 庄平, 简兴(2007). 大树杜鹃组织培养技术研究. *安徽科技学院学报*, 21 (6): 23–26]

- Qin JY, Huang YM (2003). Tissue culture and rapid propagation of *Rhododendron simsii*. *Plant Physiol Commun*, 39 (11): 38 (in Chinese) [秦静远, 黄玉敏(2003). 杜鹃的组织培养及快速繁殖. *植物生理学通讯*, 39 (11): 38]
- Sun M, Xie LJ, Kang ML, Tian ZH, Li YH (2009). Studies on the correlation between flower formation of *Rhododendron moulmainense* Hook. f. and soil factors and some physiological characters. *J Anhui Agri Sci*, 37 (16): 7392–7395 (in Chinese with English abstract) [孙敏, 谢利娟, 康美丽, 田自华, 李永红(2009). 毛棉杜鹃成花与土壤因子和某些生理特性的相关研究. *安徽农业科学*, 37 (16): 7392–7395]
- Tang YH, Sheng F, Liu F, Guo QQ, Kang YQ, Chen JR (2015). Study on tissue culture of *Rhododendron fortunei* in Xinning. *Nor Horticult*, (07): 94–97 (in Chinese with English abstract) [唐映红, 沈帆, 刘芳, 郭清泉, 康用权, 陈建荣(2015). 新宁云锦杜鹃组织培养研究. *北方园艺*, (07): 94–97]
- Wu Z, Liu N, Wang DY, Liu YJ (2009). Status analysis of *Rhododendron moulmainense* population of Xiaowutong Mountain in Shenzhen. *Fore Resour Manag*, (5): 69–72 (in Chinese with English abstract) [吴志, 刘念, 王定跃, 刘永金(2009). 深圳市小梧桐毛棉杜鹃种群现状分析. *林业资源管理*, (5): 69–72]
- Xiong YH, Wu Z, Wang DY, Liu N, Liu YJ, Xu T (2011). Softwood cutting propagation of *Rhododendron moulmainense*. *Nor Horticult*, (11): 106–108 (in Chinese with English abstract) [熊友华, 吴志, 王定跃, 刘念, 刘永金, 徐涛(2011). 毛棉杜鹃嫩枝扦插繁殖研究. *北方园艺*, (11): 106–108]
- Zhang H, Xie LJ, Bai YQ, Wang DY (2012). Photosynthetic characteristics of three *Rhododendron* Cultivars. *J Northeast For Univ*, 40 (5): 59–61, 79 (in Chinese with English abstract) [张华, 谢丽娟, 白宇晴, 王定跃(2012). 3种杜鹃光合特性的比较. *东北林业大学学报*, 40 (5): 59–61, 79]
- Zhou Y, Chen X (2007). Study on subculture medium prescription of *Rhododendron delavayi* Franch. *J Anhui Agri Sci*, 35 (29): 9213–9214 (in Chinese with English abstract) [周艳, 陈训(2007). 马缨杜鹃继代培养培养基配方研究. *安徽农业科学*, 35 (29): 9213–9214]

Tissue culture and rapid propagation of *Rhododendron moulmainense*

ZHAO Fu-Qun^{1,2}, YIN Qian², HONG Wen-Jun^{2,3}, TANG Guang-Da^{2*}

¹College of Landscape Architecture, Hunan Environmental-Biological Polytechnic College, Hengyang, Hunan 421005, China;

²South China Limestone Plants Research Center; College of Forestry and Landscape Architecture, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China; ³Sanya Academy of Forestry, Sanya, Hainan 572000, China

Abstract: The tissue culture and rapid propagation system of *Rhododendron moulmainense* was established by using the seeds as explants and by means of cluster buds cultivation. The results showed that in the basic medium of 0.6% agar and 2.5% sucrose, the germination rate (64.6%) was the highest. The best medium for subculture was WPM medium, in which the seedlings growth status were best and the average elongation reached 0.92 cm after 60 d. The best medium for multiplication was Read+0.02 mg·L⁻¹ IBA+1.0 mg·L⁻¹ ZT, and the propagation coefficient was 4.50 after 60 d. The best rooting medium was 1/2WPM+1.0 mg·L⁻¹ IBA+0.02 mg·L⁻¹ ZT, the rooting rate reached 83.33%. The supplement of 0.1% activated carbon could obviously promote the seedling height, rooting rate, rooting number and rooting length. Then these cultured seedlings were transplanted into the culture tray with peat soil:perlite (3:1), the survival rate was over 90% after 30 d.

Key words: *Rhododendron moulmainense*; tissue culture; rapid propagation

Received 2017-04-20 Accepted 2017-08-01

This work was supported by the Project of the Department of Forest of Guangdong Province (Grant No. YUE CAI NONG [2017] No. 83) and the Science and Technology Program of Guangzhou, China (Grant No. 11C12100776/L1110887).

*Corresponding author (E-mail: gatang@scau.edu.cn).