

大叶榉组培苗生根诱导和移栽试验

汪灵丹, 张日清

(中南林业科技大学 资源与环境学院, 湖南 长沙 410004)

摘要: 为了解决大叶榉组织培养中生根难的问题, 利用培养中得到的生长旺盛、茎长在 2~4 cm 的小植株作为试验材料, 配合不同质量浓度的激素配比进行诱导生根和移栽试验。试验结果表明: 大叶榉的最佳生根培养基为 WPM+ABT 2.0 mg/L, 生根率可达 97.3%, 且生根的质量较好。炼苗阶段以黄心土和腐殖质土(质量比 2:1)为基质进行移栽, 成活率高达 100%。

关键词: 植物生理学; 大叶榉; 生根; 移栽; 组织培养

中图分类号: S792

文献标识码: A

文章编号: 1003-8981(2008)03-0059-05

Root Induction and Transplanting of Tissue Culture Seedling in *Zelkova schneideriana* Hand.-Mazz.

WANG Ling-dan, ZHANG Ri-qing

(College of Resources and Environment, Central South University of Forestry & Technology, Changsha 410004, Hunan, China)

Abstract: In order to solve the difficult problem of root induction in *Zelkova schneideriana* Hand.-Mazz. tissue culture, root induction and transplanting were researched by different mass concentrations of hormones, taking vigorous tissue culture seedling with 2-4 cm long stem as materials. The results indicated that the optimum root induction medium was WPM supplemented with 2.0 mg/L ABT, in which the rooting rate of seedling could reach 97.3% and quality of roots was good. Seedling was transplanted, taken yellow soil mixed with humus soil that the mass ratio was 2:1 as medium, at hardening-seedling stage, and the survival rate reached 100%.

Key words: plant physiology; *Zelkova schneideriana* Hand.-Mazz.; rooting; transplanting; tissue culture

大叶榉 *Zelkova schneideriana* Hand.-Mazz. 为榆科 Ulmaceae 榉属 *Zelkova* Spach 落叶大乔木, 在我国主要分布于江苏、浙江、湖南、安徽、广东、广西、云南等地, 是国家二级保护树种。榉属共 6 种, 我国产 4 种, 即大叶榉、大果榉、光叶榉、台湾榉^[1~4]。其中大叶榉木材致密坚硬, 纹理美观, 不易伸缩, 耐腐性强, 是造船及生产各类高档家具和工艺品等的上等木材, 属于高档的硬阔叶用材树种; 茎皮含纤维, 是制造人造棉、绳索和纸的原料; 根系发达, 能够固持水土, 保养水源, 改善土壤透气性和结构, 是较好的水土保持树种; 树形优美, 树冠冠幅大, 叶色季相变化丰富, 因而又是深受人们喜爱的传统园林树种和重要的园林绿化景观树种^[5~7]。由于大叶榉具有较高的经济价值、生态价值、景观利用价值, 而被过度开发利用, 为保护这一濒危树种, 许多学者利用组织培养技术来进行快速繁殖和良种选育等方面的研究, 但目前仍处于初级阶段, 生根难是大叶榉组织培养研究中的瓶

收稿日期: 2008-05-08

基金项目: 中南林业科技大学青年基金项目“大叶榉组织培养与工厂化育苗技术研究”(2008003B)。

作者简介: 汪灵丹(1981—), 女, 湖北黄冈人。助教, 硕士, 主要从事经济林栽培育种方面的研究。

通讯作者: 张日清(1959—), 男, 湖南醴陵人。教授, 博导, 主要从事经济林栽培育种方面的教学与科研工作。

E-mail: hanzhangriqing@yahoo.com.cn.

颈问题,笔者在前人研究的基础上,进行了大叶榉的生根组培试验,并取得较大突破^[8,9]。

1 材料与方法

1.1 材料

利用大叶榉幼嫩实生苗顶芽诱导的生长旺盛、节间较长、叶片较小并呈嫩绿色、茎叶夹角小,茎长2~4 cm的小植株作为试验材料。

1.2 方法

1.2.1 生根诱导

(1)激素对诱导生根的影响 以WPM为基本培养基,分别添加不同质量浓度激素IBA、NAA、ABT,共15个处理。每种处理接种20个样本,重复3次。30 d后统计生根率、平均根数、根的生长情况,找出最佳的激素及其质量浓度。

(2)活性炭对诱导生根的影响 以WPM为基本培养基,分别添加IBA 0.5 mg/L及不同质量浓度的活性炭,共3个处理。每种处理接种20个样本,重复3次。30 d后统计生根率、平均根数、根的生长情况,找出最佳的活性炭质量浓度。

(3)继代培养次数对诱导生根的影响 以WPM添加IBA 0.5 mg/L为生根培养基,将第1~12次继代的新芽段分别接入生根培养基中,每试验重复3次。30 d后统计生根率、平均根数和平均根长,并进行分析,找出最佳的继代培养次数。

1.2.2 炼苗和移栽

当大叶榉的生根组培苗在瓶内长到4~5 cm,并且生根正常,将封口薄膜打开,在室温下放置3~4 d进行炼苗,使小苗逐步适应外界环境。如果室内空气干燥,可在瓶内适量加水。然后用镊子将组培苗夹出,用自来水洗净基部粘附的培养基,由于根系较细嫩,冲洗时要小心,以免伤根。进行移栽时要细心操作。

移栽后,沿着塑料盆壁浇水,一般以浇透为好,使小苗根部与基质接触。开始一段时间要用塑料薄膜或遮阴网袋保水并遮阴,以阻挡外界强烈的光照和防止水分的散失。严格控制培养环境的湿度是保证移栽成活的关键环节。保持苗木环境的湿度在80%左右,温度在20~26℃范围内。

(1)移栽基质对成活率的影响 将生根小苗随机分成3组,每组30株,分别移栽在盛有不同基质的塑料盆内,移栽前对基质进行灭菌。3种基质分别为黄心土+腐殖质土(质量比2:1)、灰炭土+珍珠岩(质量比2:1)、纯沙。

每20 d调查记录1次试管苗在不同基质中的生长情况,比较叶片、茎、根的生长速度和生长质量,统计小苗的成活率,共调查统计3次。

(2)移栽时间对成活率的影响 以黄心土和腐殖质土(质量比2:1)为基质,将生根的健壮组培苗先后在4月15日、7月15日、10月15日进行移栽,每次移栽30株。观察在不同季节移栽的试管苗的生长情况,30 d后观察记录成活率和小苗的长势。

2 结果与分析

2.1 激素对诱导生根的影响

在组织培养中,木本植物中的物种相对于草本植物物种而言是比较难生根的,而大叶榉又是一种较难生根的木本植物。生根的培养基一般是含低分裂素和高生长素或者是完全以生长素为主的,即分裂素与生长素比例是较低的^[10~12]。不同激素配方对生根培养的影响结果见表1。

由表1可以看出,生根率随着IBA的质量浓度升高而增大,当IBA质量浓度为0.5 mg/L时达到最大值,生根诱导率为88.9%,生根质量好,基部无愈伤组织;之后随着IBA质量浓度升高,生根率逐渐降低。愈伤组织的量随着IBA的质量浓度升高而增多,呈线性关系。可见,IBA的质量浓度过高抑制根的形成,而导致大量愈伤组织的形成。然而,IBA质量浓度低时,生根率降低,且根短,须根少。如何提高生根率和抑制愈伤组织的形成,从而使组培苗基部直接生根成了大叶榉组织培养成功的关键。

由表1可以看出,NAA质量浓度对生根的影响不显著。相对于IBA和ABT来说,NAA诱导生根的效果较差,而且有大量的愈伤组织生成,并且不定芽变黄,生长势较弱,不太适合作为诱导生根的激素。

表 1 激素对诱导生根的影响[†]

Table 1 Effects of hormones on root induction

激素质量浓度 Mass concentration of hormones/(mg · L ⁻¹)			生根率 Rooting rate/%	平均根数 Average number of roots	根形态 Morphology of roots
IBA	NAA	ABT			
0.1	—	—	35.1	3.30±1.13	乳白色,根较短细,须根少,基部无愈伤组织
0.3	—	—	57.1c	5.70±1.00	乳白色,较粗,须根较多,基部无愈伤组织
0.5	—	—	88.9b	7.10±0.79	乳白色,较粗,须根多,基部无愈伤组织
1.0	—	—	71.3c	6.10±0.88	乳白色,较粗,须根多,基部无愈伤组织
4.0	—	—	33.0	3.50±1.23	乳白色,较短细,须根少,基部无愈伤组织
—	0.1	—	20.1	2.30±1.13	乳白色,较短细,须根少,基部无愈伤组织
—	0.5	—	28.3	2.50±0.90	乳白色,较短细,须根少,基部无愈伤组织
—	1.0	—	30.3	2.80±1.00	乳白色,较短细,须根少,基部无愈伤组织
—	2.0	—	33.1	3.00±1.45	乳白色,较短细,须根少,基部无愈伤组织
—	4.0	—	28.1	2.50±1.00	乳白色,较短细,无须根,基部无愈伤组织
—	—	0.1	56.7c	5.50±0.83	乳白色,较粗,须根较少,基部无愈伤组织
—	—	0.5	75.0c	6.40±1.30	乳白色,较粗,须根较多,基部无愈伤组织
—	—	1.0	85.7b	7.10±1.20	乳白色,较粗,须根较多,基部无愈伤组织
—	—	2.0	97.3a	8.10±1.56	乳白色,较粗,须根较多,基部无愈伤组织
—	—	3.0	78.2c	6.70±1.00	乳白色,较粗,须根较多,基部无愈伤组织

[†] WPM 为培养基;“a,b,c”不同字母表示在 0.05 水平存在显著差异,相同字母表示在 0.05 水平不存在显著差异。
Medium is WPM; different letter show significant difference at 0.05 level, or lese no significant difference.

由表 1 可以看出,ABT 对大叶桉组培苗生根的影响与 IBA 相似,生根率随 ABT 质量浓度的升高而增大,当 ABT 的质量浓度为 2.0 mg/L 时到达最大值 97.3%,而且生根苗生长迅速。之后随着 IBA 质量浓度的升高,生根率逐渐降低,且根部容易褐化。相对于 IBA 来说,ABT 的生根效果较好,生根也较快,且生根诱导率也高于 IBA,高达 97.3%。

2.2 活性炭对诱导生根的影响

以 WPM 培养基添加 IBA0.5 mg/L 及不同质量浓度的活性炭为培养基质进行试验,结果见表 2。由表 2 可以看出,活性炭对大叶桉组培苗的生根影响主要是在生根质量方面,经方差分析得出活性炭对生根率影响不显著。生根的质量随着活性炭质量浓度的升高而提高,生根条数多,且新生根基部愈伤组织少,根嫩白,细长而强壮。但当活性炭质量浓度达到 2.5 g · L⁻¹时,生根质量有所下降。

表 2 活性炭对诱导生根的影响

Table 2 Effects of activated carbon on root induction

编号 NO.	活性炭质量浓度 Mass concentration of activated carbon/(g · L ⁻¹)	生根率 Rooting rate/%	平均根数 Average number of roots	根形态 Morphology of roots
1	1.0	86.0	7.60±1.01	白色,较细而长,有须根,基部无愈伤组织
2	2.0	87.1	7.70±1.14	白色,较细而长,有须根,基部无愈伤组织
3	2.5	85.0	7.50±1.26	略带褐色,较细而长,有须根,基部少量愈伤组织

2.3 继代次数对诱导生根的影响

以 WPM 培养基+IBA0.5 mg/L 为基本培养基,对继代次数不同的芽进行生根诱导试验,结果表明继代次数对生根有较大的影响,不同继代次数对诱导生根的影响也不同。随着继代次数的增加,苗的生根率逐渐提高,当继代次数为 4~9 次时生根率在 97.3%左右,之后生根率随着继代次数的增加而降低。这可能是因为经过多代培养从成年状态回到幼年状态的组培苗易生根,但继代次数较少时继代苗幼嫩,木质素含量较少,影响了根系的形成;当继代的次数增加时,苗的木质化程度提高,当继代次数为 4~9 次时,苗大多处于半木质化状态,生根率达到最高值;之后继代苗逐渐老化,由于继代次数过多,苗内积累的大量激素等影响了根系的发育,生根率下降。所以,当苗继代 4~9 次时转入生根培养基生根效果较好,这也满足了工厂化育苗的需要。

2.4 炼苗和移栽

2.4.1 移栽基质对生根苗成活率的影响

当大叶桉的植株长出完整发达的根系后,即可进行移栽,分别移栽入黄心土+腐殖质土(质量比为 2:1),

灰炭土+珍珠岩(质量比 2 : 1),河沙 3 种基质中,20 d 和 40 d 后统计成活率,结果见表 3。由表 3 可以看出,黄心土+腐殖质土中的大叶桉再生植株的成活率最高,达到了 100%,长势也较好,为大叶桉组织培养再生植株的最优移栽基质。

表 3 生根苗在不同基质中的移栽成活率
Table 3 Survival rate of transplant seedlings in different media

编号 NO.	基 质 Media	移栽 20 d 后 On the 20th day after transplanting			移栽 40 d 后 On the 40th day after transplanting		
		移栽苗数 Number of transplant seedlings	成活苗数 Number of survival seedlings	成活率 Survival rate /%	移栽苗数 Number of transplant seedlings	成活苗数 Number of survival seedlings	成活率 Survival rate /%
1	黄心土+腐殖质土(质量比 2 : 1)	55	55	100	50	50	100
2	灰炭土+珍珠岩(质量比 2 : 1)	55	54	98.1	40	38	95.0
3	纯 沙	55	48	87.2	45	23	51.1

本试验中大叶桉苗移栽成活率较高,生长情况较好。15~20 d,大叶桉苗均长至 10 cm 左右,苗绿,茎不断长高增粗。腐殖质土由枯枝落叶层等凋落物经腐熟加工而成,主要组成元素为碳、氢、氧、氮、硫、磷等,不仅是土壤养分的主要来源,而且对土壤的物理、化学、生物学性质都有重要影响,保水、保肥、保温效果都较好,肥沃、疏松、透气能力好的黄心土+腐殖质土,适合大叶桉生长,移栽苗成活率高达 100%。珍珠岩容重小,吸水量大,而且珍珠岩和灰炭土含有丰富的矿物质适于试管苗生长,因此灰炭土+珍珠岩为基质成苗率也较高,达到 95% 左右,但 20 d 左右因为养分不足,移栽苗出现生长缓慢的情况。沙中大量元素的含量较低,钙、铜、锌的含量往往偏高,这对植物的生长会产生毒害作用,而且河沙保持水分不足,容易造成移栽苗缺水,因此,以纯沙为基质移栽苗出现黄化、瘦小,甚至死亡的情况。所以,在基质选择上,以黄心土+腐殖质为基质移栽苗成活率最高,生长情况最好,为最佳移栽基质,灰炭土+珍珠岩次之,而纯沙效果最差。

2.4.2 移栽时间对生根苗成活率的影响

4 月 15 日、7 月 15 日、10 月 15 日分别在相同的基质珍珠岩中进行移栽,在移栽后 30 d 观察移栽苗成活情况。表 4 为移栽时间对大叶桉生根苗移栽成活率的影响结果。

表 4 移栽时间对成活率的影响
Table 4 Effects of transplanting time on survival rate

编号 NO.	移栽时间 Transplanting time	移栽苗数 Number of transplant seedlings	成活苗数 Number of survival seedlings	成活率 Survival rate/%
1	4 月 15 日	50	50	100
2	7 月 15 日	50	45	90
3	10 月 15 日	50	49	98

由表 4 可以看出,移栽时间对大叶桉组培苗的成活率有显著影响,移栽时温度高移栽成活率低。4 月 15 日移栽的组培苗成活率达 100%,生长状况较好。7 月 15 日移栽的组培苗成活率降低为 90%,比 4 月 15 日移栽减少 10%,而且幼苗徒长。大叶桉根系生长的适宜温度为 15~20 ℃,在 7~8 月份的我国南方地区,温度多在 25~30 ℃ 之间,不适于大叶桉根系的发生和生长,而且因为温度高,组培苗根容易腐烂。10 月 15 日移栽成活率 98%,因为移栽后置于日光温室,室内温度经常保持在 15~26 ℃ 之间,土温在 20~22 ℃ 之间,利于根系发育。综合上述情况,春秋季节,特别是 4 月份、10 月份适合温室中大叶桉组培苗从无菌条件下移栽到温室内培养,幼苗的生根成苗率较高,而且幼苗生长健壮。

3 讨论与结论

3.1 生根诱导

以 WPM 为基本培养基,大叶桉诱导生根的较好的培养基配方有:WPM+ABT 1.0 mg/L、WPM+ABT 2.0 mg/L、WPM+IBA 0.5 mg/L、WPM+IBA 0.5 mg /L+活性炭 2.0 g/L,其中最适宜的大叶桉生根培养基是 WPM+ABT 2.0 mg/L,生根率高达 97.3%,生根条数为 8~10 条,根较粗,长 8~10 cm,基部无愈伤组织。

对于木本植物来说,不定芽的生根难问题是整个组织培养过程中最难克服的^[13~19]。根据资料,大叶桉组培苗的生根率只有 46.7%。但经过一系列优化,本试验中大叶桉组培苗生根率高达 97.3%。

在激素的含量与种类对大叶榉不定芽生根的影响的试验中得出生长素 ABT 2.0 mg/L 和 IBA 0.5 mg/L 对大叶榉组培苗的诱导生根起到极显著作用。

3.2 炼苗和移栽

在炼苗移栽阶段,以黄心土+腐殖质土(质量比 2:1)为移栽基质,并浇以改良霍格兰营养液,移栽苗成活率可达 100%。

以黄心土+腐殖质土(质量比 2:1)为基质,用塑料薄膜保温,在日光温室内,除 7、8 月份以外的时间进行移栽,其生根成活率可达到 97.3%。大叶榉试管苗的移栽宜安排在春秋季节,避开冬季温室取暖增加成本和夏季高温高湿造成的移栽成苗率低等不利因素。

为了提高组培苗的移栽成活率,在组培苗的继代增殖培养中,激素的用量非常重要,如果偏高,组培苗在继代过程中,越变越弱,不容易成活。另外,在生根培养中,为了提高炼苗成活率,生根组培苗最好放到与外界一样的温度环境中,使组培苗逐步适应外界环境温度变化,有利于叶表面蜡质层的恢复和大叶榉的正常生长。

参考文献:

- [1] 金晓玲,何平.大叶榉愈伤组织诱导与继代培养的影响因素[J].中南林学院学报,2003,23(1):32-36.
- [2] 金晓玲,何平,张日清.大果榉未成熟胚愈伤组织的诱导和植株再生[J].中南林学院学报,2006,26(5):98-101.
- [3] 刘德良,张琴,陈志阳.榉树扦插繁殖试验[J].中南林学院学报,2001,21(1):94-95.
- [4] 金晓玲,何平,张日清.榉树茎尖的培养[J].中南林学院学报,2005,25(1):39-42.
- [5] 汪灵丹,张日清.榉树的研究进展[J].广西林业科技,2005,34(4):188-191,211.
- [6] 方元平,葛继稳,项俊,等.国家二级重点保护植物榉树的开发利用[J].中国野生植物资源,2002,21(5):20-21.
- [7] 中国科学院中国植物志编辑委员会.中国植物志:第二十二卷[M].北京:科学出版社,1999.
- [8] 曹孜义,刘国民.实用植物组织培养教程[M].兰州:甘肃科技出版社,1992:235.
- [9] 金晓玲.榉树的生物学特性和微繁殖技术的研究[D].长沙:中南林业科技大学,2003.
- [10] Chi-Ni Hsia, Korban. The influence of cytokinins and ionic strength of Anderson medium on shoot establishment and Proliferation of evergreen azalea[J]. Euphytica,1997,93:11-17.
- [11] 裴东,莫声珂.核桃早实品种微枝接穗试管扩繁技术的研究[J].林业科学,1998,11(4):350-354.
- [12] 王米力,曾平安.尾叶桉胚状体植株诱导与增殖研究[J].四川林业科技,1996,17(2):9-13.
- [13] 罗士韦,许智宏.经济植物组织培养[M].北京:科学出版社,1988.
- [14] 何志祥,曾艳玲,谭晓风.翠冠梨茎段组织培养的研究[J].中南林学院学报,2006,26(1):66-68.
- [15] 彭丽萍,董丽芬.樟子松组织培养不定根的诱导[J].中南林业科技大学学报:自然科学版,2008,28(1):93-97.
- [16] 陈建华,罗丽华,苏冬梅,等.不同板栗品种的组培技术[J].中南林业科技大学学报:自然科学版,2007,27(6):83-87.
- [17] 伍成厚,冯毅敏,叶振华,等.红千层愈伤组织诱导及植株再生[J].中南林业科技大学学报:自然科学版,2007,27(6):104-108.
- [18] 喻晓雁,刘克旺,梁文斌.穗花杉组织培养初探[J].中南林学院学报,2005,25(2):55-58.
- [19] 林雪坚,吴光金,程淑华,等.桉树愈伤组织抗病性的测定及其快速繁殖研究[J].中南林学院学报,2003,23(6):117-120.

[本文编校:闻丽]