

# 樟树组织培养快繁育苗技术研究\*

龚 峥<sup>1</sup> 周丽华<sup>1</sup> 张卫华<sup>1</sup> 黎新宇<sup>2</sup>

(1. 广东省林业科学研究院 广州 510520; 2. 广东省东江林场)

**摘要** 文章报道了应用组织培养育苗技术对樟树家系进行快速繁殖的初步结果。试验表明:带腋芽的茎段外植体在添加细胞分裂素和生长素的 MS 培养基上可分化形成不定芽,但芽增殖和继代培养过程并不需要添加生长素。在 DCR + BA 3.0 mg/L 的培养基上增殖培养时,平均每个外植体增殖 4.7 个不定芽,高度小于 1.5 cm 的不定芽的比例为 74.1%;而在 DCR + BA 4.0 mg/L 的培养基上培养时,平均每个外植体增殖 2.4 个不定芽,高度大于 1.5 cm 的枝芽比例可提高至 58.1%。枝芽接种在 DCR + IBA 1.5 mg/L 的培养基上诱导生根培养 28 d 的生根率为 98%,移植的再生植株 95% 以上存活。

**关键词** 樟树 组织培养 快速繁殖

**中图分类号**:S722.3<sup>+7</sup> **文献标识码**:A **文章编号**:1006-4427(2007)05-0035-05

## Rapid Propagation of *Cinnamomum camphora* Via Tissue Culture

Gong Zheng<sup>1</sup> Zhou Lihua<sup>1</sup> Zhang Weihua<sup>1</sup> Li Xinyu<sup>2</sup>

(1. Guangdong Forestry Research Institute, Guangzhou, 510520; 2. Guangdong Dongjiang Forestry Farm)

**Abstract** This paper deals with the preliminary results on tissue culture and rapid propagation of *Cinnamomum camphora*. The adventitious buds could be induced from shoot tips and axillary buds derived from family material MZMJ402 on MS medium supplemented with BA and NAA. Nevertheless, the trial results from subcultures indicated that the auxins had a disadvantageous effect on multiplication of adventitious buds. The optimum propagation medium selected from the experiments were DCR containing BA 3.0 mg/L or 4.0 mg/L, in which the multiple coefficients reached 4.7 and 2.4 respectively. The trial identified that the optimum medium for root induction was DCR supplemented with IBA 1.5 mg/L and 98% of rooting percentage was obtained. The plantlet survival rate could exceed 95% provided that the nursery condition was acceptable.

**Key words** *Cinnamomum camphora* (L.) Presl, tissue culture, rapid propagation

樟树 (*Cinnamomum camphora* (L.) Presl) 又名香樟, 樟科樟属, 原产我国东南及西南各地。樟树为常绿乔木, 高大挺拔, 是我国南方著名的珍贵乡土用材树种, 国家二级重点保护植物<sup>[1]</sup>。由于乡土树种的适生范围广, 在发展桉树和相思等短轮伐期工业用材林有局限性的地区, 完全可以利用乡土树种来营造商品林和用材林, 因此樟树也就成为我省重点发展的乡土阔叶商品林树种。目前, 我省各地在发展樟树商品林时, 主要采用播种育苗, 因而在推广优良品系、提供性状表现一致的种植材料以及提高繁育速率等方面仍存在许多困难和明显的局限性。研究樟树组织培养快繁育苗技术, 有利于革新育苗技术手段, 确实推进“有性繁育、无性利用”的经营策略, 为大规模推广乡土树种优良品系提供一条新的途径, 促进我省林业产业化建设的进程。因此, 本文研究樟树组培快繁育苗技术, 初步建立了樟树快繁体系, 现将主要研究结果报道如下。

## 1 材料与方方法

### 1.1 试验材料

试验材料为 2005 年春在梅州市收集的樟树家系材料 (MZMJ402) 一年生实生苗。切取实生苗的幼嫩枝

\* 基金项目: 本文是广东省科技厅农业攻关项目 2006B20201024 的部分研究内容。

条,先用洗衣粉溶液刷洗枝条表面,流水冲洗 1 h。然后在超净工作台上用 70% 乙醇浸泡 2 min,接着用 0.1% 升汞消毒 6 min,无菌蒸馏水冲洗 4 次。切成带芽茎段,接种于培养基中。

### 1.2 试验方法

试验所用的培养基均添加蔗糖 30 g/L,卡拉胶 7 g/L,培养基的 pH 值在灭菌处理前调整为 5.8。培养条件为培养室温度 26℃,光照强度 1 500 lx,光照时间为 12 h/d。

1.2.1 初代培养物建立 经处理的外植体接种在诱导腋芽萌发的培养基上,基本培养基为 MS,主要附加成分为 BA 0.5 ~ 2.0 mg/L, NAA 0.1 ~ 0.5 mg/L,以及 CM 50 ml/L。

1.2.2 BA 浓度系比试验 在成功诱导腋芽萌发的基础上,进行不定芽增殖诱导。基本培养基为 MS,附加 BA 的浓度依次为 1.0, 2.0 和 3.0 mg/L。试验为拉丁方交叉设计,每处理接种 7 瓶,每瓶接 4 个外植体,试验重复 6 次。

1.2.3 芽增殖试验 将从生芽分切,接种在 3 种增殖培养基上培养,30 d 后分别统计高度达 1.5 cm 以上的枝芽和 1.5 cm 以下的不定芽的数量。基本培养基为 DCR 培养基,BA 的浓度依次为 1.5, 3.0 和 4.0 mg/L。试验为随机区组设计,3 次重复,每区组接种 15 瓶,每瓶接 5 个外植体。

1.2.4 不定根诱导试验 将得到的枝芽接种在 DCR + IBA 1.5 mg/L 的培养基上诱导生根,共接种 10 瓶,每瓶接种 10 株。培养 28 d 后统计每瓶生根株数和每株根数,并估测每株的平均根长。

1.2.5 再生植株移栽 经炼苗后,将生根植株从瓶中移出,洗去根部粘附的培养基,栽入营养袋中。移苗基质为黄心土,移栽后淋定根水并覆盖保湿。10 d 后逐渐去掉覆盖物,3 周后将小植株移至苗圃管理。

## 2 结果与分析

### 2.1 腋芽培养

经灭菌处理的带芽茎段在初始培养基上培养 30 d 可见腋芽萌发抽长。据观察,外植体在这种添加细胞分裂素和生长素的培养基上培养时,茎段基部容易形成愈伤组织团块。转入继代培养时,接触培养基的叶片部分极其容易特化形成愈伤组织。在持续继代培养的过程中发现,培养基含生长素 NAA 0.1 ~ 0.5 mg/L 时外植体基部愈伤组织增殖占明显优势,而不定芽生长受到抑制。BA 浓度在 1.0 mg/L 以下的,芽的分化呈明显的单枝形状,当 BA 浓度提高至 2.0 mg/L 时,才有丛生的不定芽形成,但小芽突起慢。上述结果表明:低浓度生长素足以诱导樟树愈伤组织形成与增殖,而且添加生长素不利于不定芽分化与增殖。主要试验结果见表 1。

表 1 樟树腋芽初代培养的结果

序号	植物生长调节剂		外植体数(个)	增殖芽数(个)	增殖率(%)	芽生长情况	愈伤组织形成
	BA (mg/L)	NAA (mg/L)					
1	0.5	0.1	12	26	117	单芽,生长慢	增殖
2	1.0	0.5	28	61	118	单芽,生长慢	大量增殖
3	2.0	0.5	49	133	171	形成丛生芽	大量增殖

### 2.2 BA 浓度比较试验

以 MS 为基本培养基,分别添加 1.0, 2.0 和 3.0 mg/L 三种不同浓度的 BA,进行浓度系列对比试验。培养 30 d 后,分别记录每瓶的增殖芽数,并计算出每个外植体增殖不定芽的平均数(表 2)。数据经代换后进行方差分析,主要结果列在表 3 和表 4 中。方差分析的结果表明,培养基添加 3 种浓度的 BA,诱导樟树不定芽分化的效果均存在极显著的差异,BA 浓度 1.0 mg/L 的诱导率最低,浓度达到 2.0 mg/L 时诱导效应明显提高,浓度提高至 3.0 mg/L 时不定芽增殖率达到最高。试验结果表明培养基中添加高浓度的 BA 有利于不定芽增殖,在一定浓度范围内,樟树不定芽的增殖具有随培养基 BA 浓度提高而显著增加的趋势。

表2 培养基 BA 浓度系比试验结果

单位:个

BA 浓度(mg/L)	1	2	3	4	5	6	平均
1.0	2.58	2.29	1.72	2.29	2.58	2.86	2.4
2.0	4.43	5.58	5.29	4.29	4.29	6.15	5.0
3.0	10.43	8.86	8.43	10.00	10.58	9.29	9.6

注:表中数值为从每个外植体获得的增殖芽的平均数。

表3 BA 浓度系比试验的方差分析结果

变异来源	自由度	平方和	均方	F 值	$F_{0.05}$	$F_{0.01}$
横行间	2	0.0692	0.0346	1.538		
直行间	5	0.0879	0.0176	0.782		
处理	2	7.2854	3.6427	161.9**	4.46	8.65
误差	8	0.1796	0.0225			
总变异	17					

表4 不同 BA 浓度的增殖芽数均数比较结果

单位:个

BA 浓度(mg/L)	均数	均数差	均数差	
3.0	3.10	1.56**	0.87**	$D_{0.05} = 0.199$
2.0	2.23	0.69**		
1.0	1.54			$D_{0.01} = 0.291$

### 2.3 芽增殖试验

为了获得高质量的增殖芽,将分化的芽丛分切,转接在3种增殖培养基上培养。30 d后分别统计1.5 cm以上的侧生枝芽和1.5 cm以下的不定芽的数量,以考察芽增殖的效果。试验使用DCR培养基,BA浓度分别为1.5,3.0和4.0 mg/L,培养30 d后的统计结果列在表5中。

表5 在3种培养基上芽的增殖数

单位:个

培养基 编号	BA (mg/L)	>1.5 cm 芽数			<1.5 cm 芽数			平均
		1	2	3	1	2	3	
1	1.5	0.33	0.47	0.46	2.06	1.80	2.33	1.2
2	3.0	2.43	2.35	2.51	7.17	7.47	6.21	4.7
3	4.0	2.73	2.80	2.87	2.06	1.80	2.20	2.4

注:表中数值为从每个外植体获得的增殖芽的平均数。

在此基础上分别对两种芽的统计资料进行方差分析,结果表明不论是诱导枝芽或者不定芽形成,试验区组之间均无显著性差异,但不同处理之间均存在极显著差异。进一步的均数差异测验表明3号培养基诱导枝芽数量最多,效果极显著优于其他处理;而2号培养基诱导不定芽增殖的效果极显著优于其他2个处理。有关的方差分析结果分别列在表6~表9中。

表6 不同处理诱导枝芽(&gt;1.5 cm)的方差分析结果

变异来源	自由度	平方和	均方	F 值	$F_{0.05}$	$F_{0.01}$
处理	2	1.0205	0.5103	1275.75**		
区组	2	0.0022	0.0011	2.75	6.94	18.00
误差	4	0.0016	0.0004			
总变异	8	1.0243				

表7 不同处理诱导枝芽(&gt;1.5 cm)的均数比较结果

单位:个

培养基序号	均数	均数差	均数差	
3	1.9493	0.7580**	0.0974**	$D_{0.05} = 0.0465$
2	1.8519	0.6606**		
1	1.1913			$D_{0.01} = 0.0934$

表8 不同处理诱导不定芽(&lt;1.5 cm)的方差分析结果

单位:个

变异来源	自由度	平方和	均方	F 值	$F_{0.05}$	$F_{0.01}$
处理	2	2.3102	1.1551	103.13**		
区组	2	0.0014	0.0007	0.0625	6.94	18.00
误差	4	0.0448	0.0112			
总变异	8	2.3564				

表9 不同处理诱导不定芽(&lt;1.5 cm)的均数比较结果

单位:个

培养基序号	均数	均数差	均数差	
2	2.8179	1.0807**	1.0688**	$D_{0.05} = 0.2468$
1	1.7491	0.0119**		
3	1.7372			$D_{0.01} = 0.4961$

试验得到的结果与 BA 浓度系比试验的结果相当一致,即高浓度的 BA 有利于不定芽增殖。表5中2号培养基(含 BA 3.0 mg/L)用于增殖培养可获得大量的增殖芽,平均为4.7个芽/外植体,但大部分芽生长慢,以<1.5 cm的居多,其比例达到74.1%;适当提高 BA 浓度(3号培养基,含 BA 4.0 mg/L)时,每个外植体虽然平均只得到2.4个增殖芽,但枝芽(>1.5 cm)比例却可提高至58.1%,因此用2号培养基培养可有效提高增殖率,而用3号培养基培养可以获得更多的枝芽用于生根培养。

#### 2.4 不定根诱导试验

参照预备试验的结果,将枝芽接种在 DCR + IBA 1.5 mg/L 的培养基上诱导生根,培养 28 d 时大部分植株已经在茎基部分化出不定根,并形成根系。诱导无菌苗生根并不困难,试验接种 100 株,其中生根 98 株,诱导率 98%,平均每株发根 3.8 条,根平均长度为 1.44 cm。

#### 2.5 再生植株移栽试验

经短期炼苗后,将生根植株从培养瓶中移出,洗去根部粘附的培养基,栽入营养袋中,淋定根水并加覆盖保湿。10 d 后逐渐去掉覆盖物,3 周后移至苗圃管护。小植株在苗圃中的存活率达 95% 以上,长势正常,表现良好。生长 180 d 时对种植在营养袋上的一批无性系植株共 91 株进行测定,平均冠幅 33.1 cm,标准差 7.13 cm;植株平均高 54.4 cm,标准差 4.88 cm,株高变异系数为 8.98%。目前首批无性繁殖苗已在东江林

场林地定植,生长表现需要进一步观察。

### 3 结论与讨论

试验中低浓度的生长素足以诱导愈伤组织团块形成与增殖,这与前人报道结果一致<sup>[2]</sup>。早期的一些研究结果还认为 BA 对樟树不定芽诱导具有突出的促进作用,产生的不定芽数量随 BA 浓度的增加而增加<sup>[3,4]</sup>,这一点在本试验中得到证实。整个培养程序的试验过程表明,添加生长素并不利于不定芽分化,樟树组织培养物在器官发育和形态建成方面总体上明显受细胞分裂素调节,高浓度的细胞分裂素 BA 有利于不定芽增殖和枝芽生长,说明樟树内源生长素类物质的浓度可能比较高。由于不定芽增殖和快速生长是组织培养快繁育苗的关键环节,因此通过调节细胞分裂素 BA 的添加量可以达到扩大增殖数量和提高不定芽质量的目的。从樟树芽器官培养建立再生增殖体系并直接获得再生无性繁殖植株,避免了经去分化途径诱导产生变异细胞团的可能,因此本研究的方法可以发展成为繁殖樟树家系材料、建立无性系的工厂化快繁育苗技术。

### 参考文献

- [1] 广东省林业局,广东省林学会. 广东省商品林 100 种优良树种栽培技术[M]. 广州:广东科技出版社,2003:130-133.
- [2] 彭东辉. 樟树组织培养技术研究[J]. 福建林学院学报,2005,25(4):313-317.
- [3] 索长江,蔡斌华. 香樟丛生芽的诱导和快速繁殖研究[J]. 林业科技开发,1997(3):29-30.
- [4] 李乾振,吴丽君,陈碧华,等. 芳樟工厂化育苗技术研究[J]. 福建林业科技,2001,28(4):21-24.

## 欢迎订阅 2008 年《辽宁林业科技》

《辽宁林业科技》是由辽宁省林业科学研究所和辽宁省林学会联合主办的综合性林业科技期刊,双月刊,国内外公开发行,刊号:ISSN1001-1714/CN21-1107/S。本刊为中国学术期刊(光盘版)、CNKI 中国期刊全文数据库、万方数据全文数据库、中国学术期刊综合评价数据库统计源期刊,2004 年入选为中文核心期刊。

报道内容:林木引种育种、种苗造林、森林经营、森林生态、森林保护、林业产业、园林花卉、食用菌、林业机械、木材工业、林业经济等专业的新成果、新技术、新经验、新信息。

读者对象:林业及相关专业科技人员、院校师生,各级林业管理干部,从事林业生产的技术人员及广大的林农。

《辽宁林业科技》标准 16 开本,每期定价 6.00 元,全年 6 期 36.00 元,现已开始征订,欢迎踊跃订阅。欢迎向本刊投稿、刊登广告(价格优惠)。

预订者请填好订单,将二联寄回本刊编辑部,并将预订款通过邮局或银行直接汇至本刊编辑部,并注明:订 2008 年《辽宁林业科技》款。

单位全称:辽宁省林业科学研究所

开户行:盛京银行沈阳市泰山支行

帐号:0382010140940003537

邮政编码:110032

编辑部地址:沈阳市崇山东路鸭绿江街 12 号

电话:024-86896524;电子信箱:lnlykj@yeah.net