

doi:10.16779/j.cnki.1003-5508.2016.05.001

杉木优良无性系组培繁育技术研究

刘海鹰^{1,2}, 万雪琴^{1,*}, 刘均利², 杨晓蓉²

(1. 四川农业大学林学院, 四川 雅安 625014; 2. 四川省林业科学研究院, 四川 成都 610081)

摘要:以杉木(*Cunninghamia lanceolata* Hook.)优良无性系3-3的基部萌条为外植体进行了组培快繁技术研究。试验结果表明:截干的最佳时间是在3月中旬,截干高度为30 cm,平均萌芽数达到47.2条;外植体最佳消毒方案是70%酒精浸泡15 s,后无菌水洗2次,再用0.1%升汞浸泡消毒6 min,无菌水洗6次;初代诱导最适基本培养基是MS培养基;增殖诱导最适培养基为MS + BA(0.5 mg · L⁻¹ ~ 0.7 mg · L⁻¹) + IBA(0 mg · L⁻¹ ~ 0.2 mg · L⁻¹);生根的最适培养基为1/2MS ~ 1/4MS + 0.5 mg · L⁻¹ ~ 1.0 mg · L⁻¹ IBA + 0.1 mg · L⁻¹ NAA;杉木组培苗移栽的最适基质是泥炭土:黄心土:蛭石 = 4:2:1的混合土。

关键词:杉木;优良单株;促萌;组织培养

中图分类号:S722 文献标识码:A 文章编号:1003-5508(2016)05-0001-06

A study of Culture in Vitro and Propagation of Superior Clones of *Cunninghamia lanceolata*

LIU Hai-ying^{1,2} WAN Xue-qin^{1,*} LIU Jun-li² YANG Xiao-rong²

(1. Department of Forestry, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, China;

2. Sichuan Academy of Forestry, Chengdu 610081, China)

Abstract: Culture in Vitro and propagation were carried out by using basal sprouts of superior clones 3-3 *Cunninghamia lanceolata* as explants. The result showed that the optimal cutting trunk height was 30 cm in March and the average number of bud was 47.2; Best explants disinfection solution was to immerse 15s in 70% alcohol and use sterile water to wash twice and then to soak 6 min in 0.1% mercuric chloride and wash 6 times with sterile water; MS culture medium was the optimal basic culture in primary culture; Subculture medium was MS + BA(0.5 mg · L⁻¹ ~ 0.7 mg · L⁻¹) + IBA(0 mg · L⁻¹ ~ 0.2 mg · L⁻¹); Inducing-root medium was 1/2MS ~ 1/4MS + 0.5 mg · L⁻¹ ~ 1.0 mg · L⁻¹ IBA + 0.1 mg · L⁻¹ NAA; The most suitable soil matrix proportion of transplanting was peat soil: yellow subsoil: vermiculite = 4:2:1.

Key words: *Cunninghamia lanceolata* Hook, Superior clones, Sprout promoting, Tissue culture

杉木是我国特有的用材树种,也是我国南方重要的商品材种,其生长快,树干通直,木材用途广泛,经济价值和生态效益高^[1-4]。四川省现有杉木种质资源保存林和保存圃规模为496.88 hm²,其中原地

收稿日期:2016-06-12

基金项目:四川省“十二五”育种攻关项目“突破性经济林(竹)新品种选育”(2011NZ0098-10);四川省公益性科研院所基本科研项目“杉木优良无性系规模化快繁技术研究”(JB2014-10);四川省公益性科研院所基本科研项目“杉木优良单株选择及组培快繁技术研究”(JB2015-10);四川省公益性科研院所基本科研项目“杉木组培快繁技术体系优化研究”(JB2016-12)。

作者简介:刘海鹰(1986-),女,硕士研究生,研究实习员,从事林木遗传育种与组织培养工作。E-mail:shain2006@qq.com。

* 通讯作者:万雪琴,男,博士,教授,Email:w-xue@qq.com;Tel:0835-2882335。

保存林有 399.68 hm², 异地保存圃有 97.2 hm², 保存杉木种质资源 909 份。作为杉木的自然分布区, 四川在大力发展杉木用材林的同时, 传统的实生苗造林因其自身的局限性, 始终制约着杉木产业的发展。而发展优良无性系造林, 优良无性系单株又不能满足扦插、嫁接繁殖的需要, 良种潜力得不到充分发挥。

生物工程技术的迅猛发展, 特别是组织培养技术和快繁育苗体系的建立, 为林木优良无性系选育和无性系造林提供了技术支撑。在四川本地优质杉木种源区筛选表型性状优良单株, 对其进行扩繁, 针对用材树种在良种培育、良种栽培推广等方面的研究利用现状, 重点开展杉木优良无性系引进和开发、规模化快繁及育苗技术研究, 进行一系列良种繁育试验研究, 为推动我省杉木良种化进程提供物质基础和技术支撑。

1 试验材料

在四川洪雅国家杉木良种基地和宜宾筠连县国家杉木良种基地筛选出本地杉木优株进行优树促萌; 采集编号为 3-3 无性系的萌条进行组培繁育技术研究。

2 试验方法

2.1 杉木优株的促萌技术研究

选择生长健壮, 无病虫害, 树势较为一致的 45 株杉木, 将其编号后随机分为 9 组, 均提前半个月做施肥处理, 以氮磷钾为主的复合肥, 每株 0.5 kg。在 2013 年 12 月 2 日、2014 年 3 月 15 日、2014 年 8 月 22 日, 分别对 45 株杉木进行 30 cm、50 cm、1 m 高度的截干处理。截干处理时, 主干截舌断面用薄膜包扎及时保护, 防止病菌侵染, 截干处理 20 d 左右, 主干下不定芽开始膨大抽发, 注意观察萌芽情况, 60 d 后, 统计萌芽率。

2.2 杉木组培快繁技术体系的建立

2.2.1 无菌外植体的获得

剪取无性系 3-3 基部萌条茎段, 剪掉 2/3 长叶片, 用 10 ml · L⁻¹ 洗洁精溶液浸泡洗涤 30 min, 用流水冲洗 2 h 后, 用 0.1% 多菌灵溶液浸泡 30 min, 后用无菌水洗涤 4 次, 用无菌剪刀剪成 1 cm ~ 2 cm 茎段, 放入超净工作台。用 70% 酒精 (V/V) 浸泡 (10 s、15 s、20 s), 无菌水洗涤 2 次, 0.1% HgCl₂ 浸泡 (4

min、6 min、8 min), 无菌水洗涤 6 次, 接种到附加 1.0 mg · L⁻¹ 6-BA 的 MS 培养基。试验处理共 9 组, 每个处理接种 50 个外植体, 培养 30 d 后统计污染率、成活率。

2.2.2 初代诱导的基本培养基筛选

得到无菌外植体后, 为了筛选出最适宜诱导的基本培养基, 进行单因素试验, 试验采用 5 种不同的基本培养基 (MS、1/2MS、WPM、DCR^[5]、Read) 统一附加 1.0 mg · L⁻¹ 6-BA。将消毒处理的外植体接种到 5 种不同基本培养基上, 每个处理接种 50 个外植体, 培养 30 d, 观察萌芽率和培养效果。

2.2.3 增殖诱导

将获得的 3-3 无菌苗接种到增殖培养基上考察增殖效果。增殖培养基含有基本培养基 MS、6-BA (0.5 mg · L⁻¹、0.7 mg · L⁻¹、1.0 mg · L⁻¹)、IBA (0 mg · L⁻¹、0.2 mg · L⁻¹、0.5 mg · L⁻¹), 添加 3% 蔗糖、0.7% 卡拉胶。试验采用 L₉ (3⁴) 正交试验设计, 共 9 个处理, 每组接种 50 瓶, 每瓶接种 5 株 3-3 无菌苗, 培养 30 d 后观察萌芽情况。

2.2.4 生根培养

待增殖苗长到 2 cm ~ 3 cm 时, 剪取生长健壮、叶色翠绿的单苗进行生根培养。生根培养基含有基本培养基 (MS、1/2MS、1/4MS)、IBA (0.5 mg · L⁻¹、1.0 mg · L⁻¹、1.5 mg · L⁻¹)、NAA (0 mg · L⁻¹、0.1 mg · L⁻¹、0.2 mg · L⁻¹), 添加 2.5% 蔗糖、0.7% 卡拉胶, 考察不同浓度激素对生根的影响。试验采用 L₉ (3⁴) 正交设计, 共 9 个处理, 每个处理接种 50 瓶, 每瓶接种单苗 10 株, 培养 30 d 统计生根率与植株长势。

2.2.5 炼苗移栽

当根长 2 cm 左右时, 将瓶苗置于室外散射光环境炼苗 7 d, 拧松瓶盖使组培苗逐渐与外界接触, 提高组培苗的环境适应能力, 期间要保持空气湿度。20 d 后取出单苗, 在清水中漂洗净根部所带的培养基, 用 0.1% 多菌灵浸泡 10 min, 准备移栽。

采用黄心土、菜园土、菌渣、泥炭土、混合基质 1 (菌渣: 黄心土: 蛭石 = 4: 2: 1)、混合基质 2 (泥炭土: 黄心土: 蛭石 = 4: 2: 1) 6 种基质进行移栽, 移栽时间为早春 3 月中旬, 移栽后浇 0.1% 多菌灵作为定根水, 15 d 内覆盖薄膜使其棚内湿度保持在 90% 左右, 温度保持在 22℃ ~ 25℃, 后逐渐通风, 撤去薄膜完全自然环境生长 90 d 后统计移栽成活及生长情况。

2.2.6 培养条件

如无特别说明,所有培养基均附加 0.7% 的琼脂;蔗糖 $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$;灭菌后 pH5.8;培养温度 25°C ;湿度 50% ~ 70%;光照时间 $12 \text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$ ~ $14 \text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$,光照强度 1500 lx ~ 2000 lx 。

2.3 数据统计

采用 Excel2010 和 DPS7.05 进行数据统计分析。采用 LSD 法进行多重比较。

3 结果分析

3.1 优树促萌

对试验结果进行方差分析和多重比较可知,截干季节和截干高度对杉木截干后的萌芽数均有较大影响。3 个截干季节,以 3 月效果最佳,随着季节变化,冬季截干后萌条的萌发数量降低,这是由于在春季树体活跃,生长速度加大,在这个时候进行截干促萌,有利于萌条的快速萌发。冬季树液流动缓慢,生长趋于停止状态,萌条萌发不旺盛。而 3 个截干高度的萌条生长情况来看,以 30 cm 截干高度萌条生长数量最多,且萌条多数为基部生长的萌条,茎粗壮直立,叶色翠绿,若利用此萌条进行扦插,生根率有明显提高。

总的看来,在 3 月中旬,进行截干促萌,截干高度为 30 cm,萌条产生数最,平均萌芽数达到 47.2 条,且萌条质量较好(表 1)。

表 1 杉木优树促萌试验结果

处理	截干季节	截干高度	平均萌芽数
1	1(春季:3月)	1(30cm)	47.2aA
2	1	2(50cm)	33.8bB
3	1	3(1m)	31.6bBC
4	2(夏季:8月)	1	19.2 cdD
5	2	2	16.4deDE
6	2	3	10.8eE
7	3(冬季:12月)	1	33 bB
8	3	2	24cCD
9	3	3	18.8cdD

注:表中标注字母为 LSD 多重比较结果,小写字母表示在 0.05 水平上显著,大写字母表示在 0.01 水平上显著,字母相同者表示水平间不显著(下同)。

3.2 组培快繁技术方案研究

3.2.1 外植体消毒试验结果分析

对试验结果进行分析可知,酒精浸泡时间和升汞浸泡时间对杉木外植体污染率有较大影响,对杉木外植体污染影响的次要因素依次为升汞、酒精;两者对杉木外植体成活影响的次要因素为酒精、升汞。

对杉木外植体消毒的多重比较结果表明,3 个酒精浸泡时间水平成活率达到极显著水平,浸泡 10 s 和 15 s 的成活率差异不显著,但都明显高于浸泡 20s,成活率达到了 95.11% 和 90.89%,比较两水平的污染率,发现 15 s 水平下,污染率控制在 73.78%。而对于升汞消毒的 3 个水平来说,浸泡时间为 6 min 和 8 min 水平间差异不显著,但都明显低于 4 min 水平,比较两水平下的成活率,发现 6 min 水平成活率高于 8 min。综合分析结果来看,杉木外植体消毒时,使用 70% 酒精浸泡 15 s,后无菌水洗涤两次,再用 0.1% 升汞浸泡消毒 6 min,无菌水洗涤 6 次,消毒效果最佳,此方式可避免酒精长时间对外植体的浸染伤害,也可避免升汞在外植体表面残留过多造成外植体后期死亡,保证控制污染率在 67%,且成活率为 89.33%(表 2)。

表 2 外植体消毒试验结果

处理号	70% 酒精 (s)	0.1% 升汞 (min)	污染率 (%)	成活率 (%)
1	10	4	0.92aA	0.9933 aA
2	10	6	0.83abAB	0.9533 abAB
3	10	8	0.77abcABC	0.9067abcAB
4	15	4	0.93aA	0.9467 abAB
5	15	6	0.67bcdBCD	0.8933 abAB
6	15	8	0.61cdBCD	0.8867bcAB
7	20	4	0.81abAB	0.8677 bcAB
8	20	6	0.56deCD	0.8333cBC
9	20	8	0.44eD	0.7267dC

3.2.2 增殖诱导试验结果分析

根据图 1 可知,对于基本培养基而言,杉木外植体在 MS 培养基和 DCR 培养基上均可获得较好的诱导效果,萌芽率均在 40% 左右。而对比两种基本培养基的培养效果,发现在 MS 培养基上,萌发的幼芽更为健壮,叶色翠绿,茎段韧性较好,而 DCR 培养基上的幼芽叶色偏黄,茎段较脆,因此选用 MS 作为基本培养基进行后期培养。

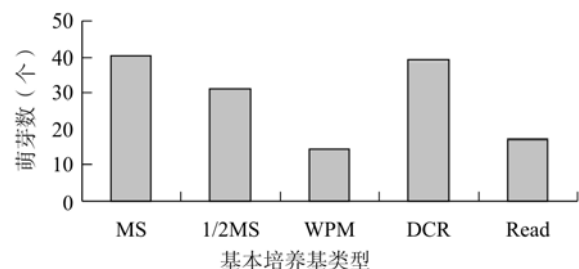


图 1 基本培养基筛选试验结果

3.2.3 植物生长调节剂对杉木增殖培养的影响结果分析

对增殖系数而言,4 号处理 $1/2\text{MS} + \text{BA}0.7 \text{ mg}$

·L⁻¹呈极显著差异,增殖系数达到4.60个,但该处理的植株高生长缓慢;平均株高以3号、6号处理呈

极显著差异,为2.53 cm和2.43 cm。9号出现玻璃化现象(表3)。

表3 增殖培养试验结果

处理号	BA (mg·L ⁻¹)	IBA (mg·L ⁻¹)	增殖系数	平均株高 (cm)	生长情况
1	1(0.5)	1(0)	3.70abcABCD	0.90cA	芽黄绿色,生长缓慢
2	1	2(0.2)	2.97bcdABCD	1.00bcA	芽生长缓慢,色泽正常
3	1	3(0.5)	4.00abABC	2.53aA	芽多,高生长较好
4	2(0.7)	1	4.60aA	1.23abcA	芽长势较好,叶色翠绿,茎纤细
5	2	2	4.33aAB	2.27abA	芽长势较快,节间明显,叶片绿色,叶背有灰质
6	2	3	2.3dCD	2.43aA	芽少,叶色正常,叶背有灰质
7	3(1.0)	1	2.43cdCD	1.30abcA	芽少,短且粗
8	3	2	2.53cdBCD	1.57abcA	芽少,叶卷曲,叶尖黄化枯死
9	3	3	1.87dD	1.40abcA	芽有玻璃化现象,脆弱易断

将试验结果进行方差分析(表4),BA各水平间呈极显著差异,说明BA对杉木茎段萌芽有较大影响,P=0.0008。BA和IBA间的互作水平达到了显著水平,P=0.0162,表明杉木增殖系数与BA和BA×IBA的互作均有关系。而IBA对增殖系数没有明显影响。

BA和IBA对杉木平均株高的影响中,IBA各水平间差异达到了显著水平,而BA和BA×IBA各水平间无明显差异,说明IBA对杉木增殖阶段株高有较大影响。

表4 不同因素对杉木增殖的影响方差分析

指标	变异来源	SS	df	MS	F	P
增殖系数	BA	11.4585	2	5.7293	10.84**	0.0008
	IBA	3.3919	2	1.6959	3.209	0.043
	BA×IBA	8.5748	3	2.1437	4.056	0.0162
	误差	9.5133	18	0.5285		
	总变异	32.9385	26			
平均株高	BA	1.6852	2	0.8426	1.694	0.2118
	IBA	4.3052	2	2.1526	4.328*	0.0292
	BA×IBA	3.3681	3	0.842	1.693	0.1954
	误差	8.9533	18	0.4974		
	总变异	18.3119	26			

对杉木茎段增殖诱导的多重比较结果(表5)表明,BA0.5 mg·L⁻¹和0.7 mg·L⁻¹两水平间差异不显著,但都明显高于1.0 mg·L⁻¹水平,增殖系数分别达到了3.56和3.74,比较两水平的生长情况,发

现BA在0.7 mg·L⁻¹水平时平均株高大于BA在0.5 mg·L⁻¹时的株高,为1.98 cm。而对IBA各水平来说,0 mg·L⁻¹和0.2 mg·L⁻¹水平下的增殖系数显著高于0.5 mg·L⁻¹水平下的,但0 mg·L⁻¹和0.20 mg·L⁻¹下的差异较小,分别为3.58和3.28。对平均株高来说,各水平差异并不显著。对于杉木增殖培养,IBA少量甚至缺乏时其增殖效果更佳,随着IBA浓度的进一步增加,诱导能力将会有所下降。在实际试验处理中,5号处理MS+BA 0.7 mg·L⁻¹+IBA0.2 mg·L⁻¹培养基上的植株生长快,节间明显,叶片绿色,叶背有灰质。总的来说,MS+BA(0.5 mg·L⁻¹~0.7 mg·L⁻¹)+IBA(0 mg·L⁻¹~0.2 mg·L⁻¹)是杉木增殖的最佳培养基配方。

表5 BA、IBA各水平间的多重比较

植物激素种类	激素浓度(mg·L ⁻¹)	增殖系数	平均株高
BA	0.5	3.56aA	1.48aA
	0.7	3.74aA	1.98aA
	1.0	2.28bB	1.42aA
IBA	0	3.58 aA	1.14bA
	0.2	3.28 abA	1.61abA
	0.5	2.72bA	2.12aA

3.2.4 生根培养结果分析

将株高2 cm~3 cm的健壮单苗转接到生根培养基,约20 d后观察单苗基部,可见1至多条小根。进一步观察可发现,不同培养基上的根的颜色和

表6 生根培养试验统计结果

处理号	基本培养基	IBA (mg·L ⁻¹)	NAA (mg·L ⁻¹)	生根率 (%)	平均根数 (条)	平均根长 (cm)
1	1(MS)	1(0.5)	1(0.0)	53.00cdABC	2.6dC	2.63bcBC
2	1	2(0.7)	2(0.1)	66.00abcABC	5.3bAB	2.5bcBC
3	1	3(1.5)	3(0.2)	38.33dC	4.67bcB	3.17bB
4	2(1/2MS)	1	3	80.67aA	3.8cdBC	2.1cBC
5	2	2	1	74.67abA	6.7aA	1.9cC
6	2	3	2	70.00abcAB	4.63bcB	3.07bB
7	3(1/4MS)	1	2	57.67bcdABC	3.47cdBC	4.87aA
8	3	2	3	43.00dBC	3.9bcdBC	4.40aA
9	3	3	1	55.00bcdABC	4.8bcB	3.2bB

外部形态不完全相同:有的处理形成的根呈白色,根较少且短;有的根为淡黄色,根少且长;有的根黄绿色,根长且细,并有少量侧根;有的根颜色黄红色肉质,根极多。

从表 6 可以看出,各因素水平组合间的生根情况有较大差异。4 号处理 $1/2MS + IBA 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + NAA 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 生根率达到了极显著水平,平均生根率为 80.67%;5 号处理平均生根数达到极显著水平,平均生根数为 6.7 条;7 号、8 号处理平均根长达到极显著水平,为 4.87 cm、4.4 cm。

根据生根试验结果,进行极差分析(表 7)。结果表明:

就杉木生根率而言,基本培养基的极差值最大,其次是 IBA, NAA 最小。根据极差值越大,相应指标的变动也就越大,即该因素对考察指标的影响越大,由此可知,三个因素对杉木试管苗生根率的影响的主次顺序应为:基本培养基 > IBA > NAA。其中基本培养基最佳水平为 $1/2MS$, IBA 最佳水平为 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, NAA 最佳水平为 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

影响杉木苗平均生根数的主导因素是 IBA, 其次为 NAA, 基本培养基的影响最小。其中基本培养基、IBA、NAA 最佳水平依次应为 $1/2MS$ 、 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。影响生根苗平均根长的主导因素顺序依次为基本培养基、NAA、IBA。其最佳水平分别为 $1/4MS$ 、 $0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

表 7 杉木生根试验结果极差分析

指标	K 值	基本培养基	IBA	NAA
生根率(%)	K1	52.44	56.78	56.00
	K2	75.11*	61.89*	59.78*
	K3	38.11	47.00	49.89
	R	37.00	14.89	9.89
平均根数(条)	K1	4.19	3.29	3.71
	K2	5.04*	5.30*	4.63
	K3	4.06	4.70	4.94*
	R	0.99	2.01	1.23
平均根长(cm)	K1	2.77	3.20*	3.37*
	K2	2.36	2.93	2.60
	K3	4.16*	3.14	3.31
	R	1.80	0.27	0.77

注:下划线表示极差最大值; * 表示各因素各 K 值得最大值。

对于生根率而言,基本培养基以 $1/2MS$ 最优。IBA 各水平间, $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 与 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 水平间差异不大。NAA 水平间, $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 与 $0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 差异不显著。因此从提高生根率和降低药品耗损的目的考虑, $1/2MS + 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} IBA + 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} NAA$ 应该为最优的生根理论配方。

对于平均生根数而言,基本培养基各水平间, $1/2MS$ 与 MS 、 $1/4MS$ 间达到了显著差异。IBA 各水平间, $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 与 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度间差异达到了极显著,而 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 与 $1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 差异不显著。NAA 各水平间, $0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 水平对平均根数的影响显著低于 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。 $1/2MS + 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 为最优理论配方。

对于平均根长来说,基本培养基各水平间,以 $1/4MS$ 最佳。IBA 各水平间无显著差异。NAA 各水平间, $0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 之间差异不显著。因此,以提高根长为目的,最佳理论配方应为 $1/4MS + 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} IBA$ 。

由上述结果可见,降低大量元素浓度,对生根率、生根数、根长都有一定促进作用;生长素在生根过程中起着重要的作用,是生根必不可少的一部分。

总的来说,杉木试管内生根的最佳理论培养基为: $1/2MS \sim 1/4MS + 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \sim 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} IBA + 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} NAA$ 。将这个理论配方进行再次的生根诱导,杉木试管苗的生根率、平均根数和平均根长分别达到了 82.4% ~ 88.0%、4.4 条 ~ 7.37 条、3.2 cm ~ 4 cm,生根质量较好,主根颜色偏绿,有根毛,有白色侧根。

3.2.5 炼苗试验

由表 8 可知,组培苗在菜园土上成活率最低,这可能与菜园土带菌较多有关;在黄心土上表现比泥炭土要好,更远胜过菌渣,这应该与菌渣偏碱性,杉木不适应有关;但因泥炭土轻巧便于运输,黄心土过于沉重,因此我们配合了泥炭土与黄心土再加部分蛭石一起使用,达到了 86% 的成活率。泥炭土:黄心土:蛭石 = 4:2:1 是试验最佳的杉木炼苗基质。

表 8 移栽基质试验结果

处理号	基质成分	成活率(%)	生长情况
1	黄心土	80	叶片长、深绿,苗健壮直立,生长较慢
2	菜园土	53	叶片长、深绿,苗木健壮
3	菌渣	62	叶片黄,苗茎尖弯曲植株矮小
4	泥炭土	74	叶片长、深绿,苗健壮
5	菌渣:黄心土:蛭石 = 4:2:1	71	叶片黄绿
6	泥炭土:黄心土:蛭石 = 4:2:1	86	叶片长、深绿,苗健壮

4 小结

1) 促萌技术对于后期开展组织培养具有重大意义。选择表型优良的杉木成年母树进行伐桩,剪取母树基部萌发的幼嫩萌条进行组织培养,其外植体幼嫩、健壮,组培褐化率低,无病虫害,带菌少,内生菌含量极低,生理年龄小易于幼化培养,可达到较高的成活率。这一技术可应用到其它木本植物的组织培养中,能取得很好的初代诱导效果。

2) 本试验茎段外植体是在优树伐后直接剪取基部萌发的萌条,幼化程度极高。对于茎段外植体的灭菌,前人采取不同的方法^[6]来达到有效灭菌的目的。杉木为针叶树种,茎段表面、腋芽处常含大量细菌、真菌和尘埃,因此在初始培养材料取自幼嫩萌条的情况下对材料进行洗衣粉的清洗、多菌灵的浸泡、酒精和升汞的综合灭菌可在一定程度上控制外植体的污染。

3) 一般来说,植物组织培养中矿质元素浓度高,利于植物的茎叶生长。在杉木的初代诱导研究中,MS培养基上诱导效果较好,萌芽率可达40%左右,且苗长势旺盛。在杉木的生根研究中,基本培养基是影响生根率及平均根长的主导因素,而对平均根数的影响不大,且1/2MS培养基上生根的杉木苗,根系发育较好,有侧根,植株整体健壮,茎还出现了木质化现象。

4) 在杉木茎段腋芽诱导实验中,MS + BA0.7 mg · L⁻¹ + IBA0 mg · L⁻¹ ~ 0.2 mg · L⁻¹是较为理想的腋芽诱导配方,这一实验结果与阙国宁等^[7]研究结论较为一致,但在腋芽的继代增殖阶段,高浓度的BA将抑制芽的伸长,这时适当降低BA的浓度,

提高IBA浓度,其增殖率显著提高。

5) 在杉木试管内生根实验中,发现NAA对生根影响不大,但是通过对比观察发现,随着NAA浓度的升高,根的形态发生了显著变化:由颜色淡黄偏绿、细长、有侧根逐渐向白色泛红、短粗肉质、无侧根转变,这种变化直接影响到后期幼苗移栽成活,这种白色泛红的肉质根容易腐烂导致幼苗移栽成活率低。因此较高浓度IBA与低浓度NAA配合诱导杉木生根,0.5 mg · L⁻¹ ~ 1.0 mg · L⁻¹ IBA + 0.1 mg · L⁻¹ NAA是杉木生根的最佳激素组合。

6) 试管苗移栽要求非常精细的管理,根据幼苗移栽后生长阶段的特性,进行相应的水、肥、气控制。试管苗移栽成活率较低,原因可能与幼苗本身的根系状况有关,实际操作发现,组培苗根太长(大于14 cm)、根粗肉质化(白胖、根尖端透明状)、侧根少或无侧根都不利于移栽成活。这就需要我们继续进行生根诱导实验,调整培养基配方,要以诱导生根率高、生根数多、根长度适中、有根毛、有侧根、根的韧度较大为目标。

参考文献:

- [1] 俞新妥. 杉木栽培学[M]. 福州:福建科学技术出版社,1997.
- [2] 谢瑞忠. 杉木心材精油化学成分研究[J]. 台湾林业科技, 1999, 14(2): 165 ~ 176.
- [3] 阮梓材. 杉木遗传改良[M]. 广州:广东科技出版社,2003.
- [4] 郑仁华. 杉木遗传育种研究进展与对策[J]. 世界林业科技, 2005, 18(3): 63 ~ 65.
- [5] 席梦利,施季森. 杉木合子胚愈伤组织的诱导及植株再生[J]. 南京林业大学学报, 2006, 30(2): 6 ~ 10.
- [6] 肖显华,王顺珍,臧林荣,等. 植物材料表面消毒方法的改进[J]. 生物技术, 1999, 9(1): 43 ~ 45.
- [7] 阙国宁. 杉木组培嫩梢增殖与复壮的分析[J]. 林业科学研究, 1989, 12(6): 546 ~ 551.