

文章编号:1001-7380(2015)04-0014-03

木荷耐寒速生优良单株离体培养与植株再生

蒋泽平¹, 潘林², 姜维华², 蒋政阳²

(1. 江苏省林业科学研究院, 江苏 南京 211153; 2. 武进区林业工作站, 江苏 常州 213161)

摘要:以筛选的20年生木荷耐寒速生优良单株具腋芽茎段为外植体,进行腋芽诱导、芽苗增殖及植株再生研究,结果表明:木荷腋芽在诱导培养基 $2/3\text{ MS} + 1.0\text{ mg/L } 6\text{-BA} + 0.02\text{ mg/L IBA}$ 中,萌动启动速度快且正常伸长展叶,萌芽率达100%;在 $2/3\text{ MS} + 2.0\text{ mg/L } 6\text{-BA} + 0.04\text{ mg/L IAA}$ 培养基中,腋芽能正常生长并增殖,平均有效芽数达6.2个;在 $1/2\text{ MS} + 0.5\text{ mg/L IBA} + 0.3\text{ mg/L NAA}$ 生根培养基中培养30 d后,有89.9%的丛生芽生根,移栽成活率可达93.4%。

关键词:木荷;具腋芽茎段;组织培养;植株再生;耐寒;速生

中图分类号:S792.189;Q813.1⁺2 **文献标志码:**A **doi:**10.3969/j.issn.1001-7380.2015.04.004

木荷(*Schima superba*)是山茶科木荷属常绿大乔木,为我国亚热带常绿阔叶林的重要建群种,是我国南方生物防火林带建设的主栽树种和高效的生态树种,也是造林成效好、速生优质的阔叶用材树种^[1]。同时,木荷树形优美,目前已成为园林绿化中极具开发利用前景的优良常绿景观树种。近年来,国内许多学者在木荷的繁殖、防火特性、生理生态和遗传分析等^[2-10]方面进行了研究。本文对筛选的木荷耐寒速生优良单株进行组织培养快繁技术研究,为加快良种推广提供技术支撑。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试木荷带芽茎段于2012年5月在江苏省林业科学研究院本部实验林场筛选耐寒速生20年生优良单株上采集,剪取腋芽尚未萌发的新梢带回实验室备用。

1.2 试验方法

1.2.1 外植体处理 选取木荷发育充实、半木质化的嫩梢部分,去除叶片,剪成带腋芽的1~2个茎段,用洗洁精清洗4~5 min,流水冲洗30 min以上。在超净工作台上用75%的酒精浸泡30 s,无菌水冲洗3次,再用0.1% HgCl_2 溶液消毒8~12 min,无菌水冲洗4~5次。滤纸吸干水分后,切去茎段伤口接触消毒液部分,接种至不含植物生长调节剂的MS培

养基中,10~15 d后选择其中无菌材料进行腋芽诱导试验。

1.2.2 茎段腋芽诱导培养基筛选 以 $2/3\text{ MS}$ (大量元素为 $2/3$,其余全量,下同)为基本培养基添加细胞分裂素0.5,1.0,2.0 mg/L 6-BA及生长素0,0.02,0.04,0.08 mg/L IBA进行腋芽诱导。使用的细胞分裂素和生长素采用不同质量浓度的正交组合形式,40 d后观察腋芽生长情况,以筛选适宜的腋芽诱导培养基。

1.2.3 试管芽苗增殖与继代培养基筛选 以 $2/3\text{ MS}$ 为基本培养基,添加1.0,2.0,3.0 mg/L 6-BA,生长素0.02,0.04,0.08 mg/L IBA,以及0.02,0.04,0.08 mg/L IAA。细胞分裂素和生长素采用不同质量浓度正交组合形式,30 d后统计芽苗增殖与生长情况,以筛选出适宜的增殖与继代培养基。

1.2.4 试管芽苗生根培养基筛选 选择培养瓶中生长一致、株高2.5 cm以上的增殖芽苗生根培养。以 $1/2\text{ MS}$ 为基本培养基添加0.1,0.5,0.8 mg/L IBA及0.1,0.3,0.5 mg/L NAA,30 d后统计丛生芽生根与生长情况,筛选适宜的芽苗生根培养基。

1.3 培养条件

经过灭菌处理后的外植体培养于10 mL的试管中,待无菌化后接种至诱导培养基中进行培养。诱导培养基、芽苗增殖培养基的基本培养基为 $2/3\text{ MS}$,添加蔗糖30.0 g/L;在生根阶段,基本培养基为

收稿日期:2015-04-12;修回日期:2015-06-20

基金项目:江苏省林业三新工程项目“防火景观树种木荷优良种质引进、培育与利用”(LYSX[2014]31)及“武进区森林生物防火林带树种配置与营造技术示范”(LYSX[2013]34)

作者简介:蒋泽平(1963-),男,江苏丹阳人,研究员,大学本科毕业,从事林木花卉良种选育和植物组织培养技术研究。

1/2 MS,添加蔗糖 20.0 g/L。培养过程中,pH 为 5.8,温度(25±1)℃,光照度为2 000 lx,光照时间 14 h/d。

1.4 统计分析

试验数据采用 SPSS 17 软件进行方差分析,Duncan’s 法进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 不同植物生长调节剂对木荷茎段腋芽萌发的影响

由表 1 可知,在单独添加 6-BA 的诱导培养基中,木荷茎段腋芽的萌发率随 6-BA 质量浓度的增加而提高,当 6-BA 质量浓度为 1.0 和 2.0 mg/L 时,木荷茎段全部萌发,但伸长困难且不展叶,说明单独添加 6-BA 不利于茎段萌发;当 6-BA 质量浓度为 0.5 mg/L,IBA 质量浓度为 0.02~0.08 mg/L 时,腋芽生长缓慢,难以展叶;6-BA 为 2.0 mg/L,IBA 质量浓度为 0.02~0.08 mg/L 时,腋芽虽可伸长,但是腋芽新叶尖端出现坏死,基部愈伤组织增多伴随褐化的发生;而 6-BA 为 1.0 mg/L,IBA 质量浓度为 0.02 mg/L 时,腋芽萌动率高,平均叶长、平均芽长明显高于其他处理,展叶正常。这说明在添加 IBA 的诱导培养基中,6-BA 质量浓度过低或过高均不利于木荷茎段腋芽生长。方差分析结果表明,在 MS+1.0 mg/L 6-BA+0.02 mg/L IBA 培养基中诱导芽的平均叶长、平均芽长与其他培养基的差异显著($P<0.05$,下同)。因此,MS+1.0 mg/L 6-BA+0.02 mg/L IBA 木荷茎段腋芽诱导的最佳培养基。

表 1 植物生长调节剂对茎段腋芽萌发的影响

处理/(mg/L)		样本个数	出芽率/%	平均叶长/cm	平均芽长/cm
6-BA	IBA				
0.5	0	50	48.0 c	0.01 d	0.08 d
1.0	0	50	100.0 a	0.8 c	1.30 c
2.0	0	50	100.0 a	1.0 b	1.80 b
0.5	0.02	50	58.0 c	0.9 c	1.10 c
0.5	0.04	50	68.0 b	1.2 b	1.20 c
0.5	0.08	50	79.0 b	1.7 b	1.20 c
1.0	0.02	50	100.0 a	3.5 a	2.80 a
1.0	0.04	50	100.0 a	1.5 b	2.20 a
1.0	0.08	50	100.0 a	1.0 b	2.20 a
2.0	0.02	50	100.0 a	1.6 b	1.80 b
2.0	0.04	50	100.0 a	1.6 b	1.80 b
2.0	0.08	50	100.0 a	1.6 b	1.80 b

同列数据后不同小写字母表示在 0.05 水平下差异显著。

2.2 不同植物生长调节剂组合对木荷芽苗增殖与继代的影响

以 2/3 MS 为基本培养基添加不同质量浓度 6-BA 和 IBA 的培养基中,虽然有部分组合的腋芽可以增殖,但形成的腋芽及其丛生芽在继代过程中逐渐落叶、生长势衰弱进而死亡,而在添加不同质量浓度 6-BA 和 IAA 的培养基中,腋芽或增殖形成的丛生芽可正常生长。当 IAA 质量浓度为 0.02~0.08 mg/L,6-BA 为 1.0 mg/L 时腋芽无增殖,同时腋芽逐渐木质化,再生难度增加;随着 6-BA 由 2.0 mg/L 增加到 3.0 mg/L,丛生芽从腋芽的基部、叶腋部增殖出来,且长势旺盛,叶色嫩绿。当 6-BA 质量浓度为 2.0,3.0 mg/L 时,随着 IAA 质量浓度增加,切口基部愈伤组织增加,不利于丛生芽的增殖。在培养基 2/3 MS+3.0 mg/L 6-BA+0.04 mg/L IAA 中芽苗增殖平均有效芽数最多,与其他增殖培养基中的增殖平均有效芽数差异显著,且形成的丛生芽生长表现好,该培养基为木荷芽苗最佳继代与增殖培养基(见表 2)。

表 2 植物生长调节剂组合对木荷芽苗增殖与继代的影响

处理/(mg/L)			样本个数	平均有效芽数	生长势
6-BA	IBA	IAA			
1.0	0.02	-	50	1.0 d	落叶,渐衰弱、死亡
1.0	0.04	-	50	1.0 d	落叶,渐衰弱、死亡
1.0	0.08	-	50	1.0 d	落叶,渐衰弱、死亡
2.0	0.02	-	50	1.1 d	腋芽伸长,渐木质化
2.0	0.04	-	50	1.4 d	落叶,渐衰弱、死亡
2.0	0.08	-	50	1.5 d	落叶,渐衰弱、死亡
3.0	0.02	-	50	1.6 d	落叶,渐衰弱、死亡
3.0	0.04	-	50	2.1 c	落叶,渐衰弱、死亡
3.0	0.08	-	50	2.4 c	落叶,渐衰弱、死亡
1.0	-	0.02	50	3.0 c	丛生芽正常,渐木质化
1.0	-	0.04	50	3.3 c	丛生芽正常,渐木质化
1.0	-	0.08	50	4.1 b	丛生芽正常,渐木质化
2.0	-	0.02	50	4.2 b	丛生芽正常,渐木质化
2.0	-	0.04	50	5.0 a	丛生芽正常,渐木质化
2.0	-	0.08	50	5.1 a	丛生芽正常,渐木质化
3.0	-	0.02	50	5.2 a	丛生芽正常,新芽从腋芽基部和叶腋部萌出
3.0	-	0.04	50	6.2 a	丛生芽正常,新芽从腋芽基部和叶腋萌出
3.0	-	0.08	50	3.9 c	丛生芽正常,新芽从腋芽基部和叶腋萌出,愈伤化严重

同列数据后不同小写字母表示在 0.05 水平下差异显著。

2.3 木荷再生植株的形成

在生根培养基中观察发现,单独添加 IBA 的培养基在接种后 15 d 即开始生根;同时添加 IBA 和 NAA 的培养基在接种 19 d 后开始生根。由表 3 可知,随着 IBA 质量浓度的增加丛生芽的生根率逐渐增加,然而当 IBA 质量浓度为 0.8 mg/L 及以上时,丛生芽的切口愈伤组织增多,根从愈伤组织长出,根的维管束组织与茎的维管束组织不相连,形成的不定根大多数为单根,较少有侧根形成,不利于生根苗成活,因此应控制生长素的浓度。当 IBA 和 NAA 2 种生长素同时用于组织培养时,生根率和平均生根

数显著上升,最高的接近 90.0%。丛生芽在 1/2 MS +0.5 mg/L IBA +0.3 mg/L NAA 中的生根率最高、平均根数最多,均与其他生根培养基的差异显著,因此筛选出该培养基为本研究的相对适合木荷丛生芽的生根培养。

生根培养 1 个月后选择健壮的再生植株移栽。移栽前 5 ~ 7 d 逐渐打开瓶盖炼苗,然后将小苗取出,用水洗去根部残留的琼脂培养基,移栽于装有蛭石与珍珠岩(容积比为 2:1)混合基质的容器内,移栽后保持组织培养苗叶面湿润,并逐渐降低湿度,50 d 后移栽成活率为 93.4% 左右。

表 3 IBA 和 NAA 对木荷丛生芽生根的影响

处理/(mg/L)		样本数	生根率 /%	平均 根数	苗高 /cm	苗生长状态
NAA	IBA					
0	0.1	50	34.5 c	1.38 b	3.85	极少数叶脱落,苗正常,根直接从切口边缘处长出
0	0.5	50	45.1 c	1.72 b	3.72	极少数叶脱落,苗正常,出现少量愈伤,根直接从切口边缘处长出
0	0.80	50	52.3 b	1.47 b	3.56	多数叶脱落,苗生长势弱,愈伤组织严重,根从愈伤组织长出
0.1	0.5	50	61.2 b	2.35 a	3.42	苗生长旺盛,根直接从切口边缘处长出
0.3	0.5	50	89.9 a	2.74 a	3.51	苗生长旺盛,根直接从切口边缘处长出
0.5	0.5	50	84.5 a	2.48 a	3.63	苗生长旺盛,但根茎连接处有少量白色愈伤组织

同列数据后不同小写字母表示在 0.05 水平下差异显著。

3 结 论

本试验条件下,筛选出的 2/3 MS + 1.0 mg/L 6-BA + 0.02 mg/L IBA 培养基、2/3MS + 3.0 mg/L 6-BA + 0.04 mg/L IAA 培养基、1/2MS + 0.5 mg/L IBA + 0.3 mg/L NAA 培养基可分别用作木荷茎段芽苗最佳诱导培养、继代与增殖培养、生根培养基。

参考文献:

[1] 江苏省植物研究所. 江苏植物志:下册[M]. 南京:江苏科学技术出版社,1982.

[2] 王瑞辉,谢禄山,罗丹杰. 木荷播种育苗的关键技术[J]. 中南林学院学报,2004,24(2):59-63.

[3] 傅国勇,杨堂亮,周刚辉,等. 木荷优质苗的培育[J]. 林业科技

通讯,2004(9):24.

[4] 蒋宗好,郭存银. 木荷扦插试验[J]. 福建林业科技,1996,23(3):72-74.

[5] 徐位力,苏开君,王伟平. 防火树种木荷和红木荷的组织培养及植株再生[J]. 植物生理学通讯,2006,42(2):255.

[6] 阮传成,林如兰. 木荷防火林带防火效能的试验研究[J]. 福建林学院学报,1989,9(4):51-57.

[7] 林中大,付海真,练 丽. 木荷防火林带效益初探[J]. 中南林业调查规划,2006,25(2):53-55.

[8] 李振问. 木荷生物防火工程的应用效果研究[J]. 林业科学,1997,33(4):338-348.

[9] 周志春,范辉华,金国庆. 木荷地理遗传变异和优良种源初选[J]. 林业科学研究,2006,19(6):718-724.

[10] 张 萍,金国庆,周志春. 木荷苗木性状的种源变异和地理模式[J]. 林业科学研究,2004,17(2):192-198.