

doi: 10.13428/j.cnki.fjlk.2018.02.013

香椿组培增殖和生根培养基筛选

高鸚铭^{1,2}, 肖祥希¹, 王志洁¹, 张海燕³, 何文广¹, 高楠¹, 肖华山²

(1. 福建省林业科学研究院 福建 福州 350012; 2. 福建师范大学生命科学学院, 福建 福州 350117; 3. 福建省邵武市林业科技推广中心 福建 邵武 354000)

摘要: 为研究香椿组培快繁技术,对香椿组织培养的培养基配方进行筛选。在MS基本培养基中添加不同浓度的6-BA、NAA、GA₃的正交试验结果表明,影响香椿芽增殖的主要因素是6-BA,且对芽增殖的影响达显著水平($P < 0.05$),最佳质量浓度为 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$;对芽增殖影响次要因素是NAA,最佳质量浓度为 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$;GA₃对芽增殖的影响最小,但对幼茎节间伸长生长有促进作用;芽增殖最佳培养基为MS+6-BA $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + GA₃ $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,芽增殖倍数可达3.6倍。以MS、1/2 MS为基本培养基添加不同浓度的NAA、IBA进行的生根培养试验结果表明:MS + NAA $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + IBA $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 培养基生根效果最好,生根率可达25%。腐殖土作为香椿组培苗移栽基质,组培苗移栽成活率可达95%,苗木长势好。

关键词: 香椿; 组织培养; 芽增殖; 生根率; 培养基

中图分类号: S723.1+23.6

文献标识码: A

文章编号: 1002-7351(2018)02-0064-04

Screening of Proliferation and Rooting Medium for Tissue Culture of *Toona sinensis*

GAO Yanming^{1,2}, XIAO Xiangxi¹, WANG Zhijie¹, ZHANG Haiyan³, HE Wenguang¹, GAO Nan¹, XIAO Huashan²

(1. Fujian Academy of Forestry Fuzhou 350012 Fujian China;

2. College of Life Science Fujian Normal University Fuzhou 350117 Fujian China;

3. Forestry Science and Technology Extension Center of Shaowu City Shaowu 354000 Fujian China)

Abstract: In order to study the tissue culture and rapid propagation of *Toona sinensis*, the medium formula for tissue culture of *Toona sinensis* was studied and screened. By adding different concentrations of 6-BA, NAA and GA₃ in MS medium, the orthogonal experiment and variance analysis showed that the main factor affecting the proliferation of *Toona sinensis* was 6-BA, which had a significant effect on the bud proliferation ($P < 0.05$), and the best concentration was $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; the secondary factor affecting bud proliferation was NAA, and the optimal concentration was $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; GA₃ had the least effect on bud proliferation, but GA₃ had a promoting effect on the internode elongation growth of young stems. The optimal bud culture medium combination was MS + 6-BA $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + GA₃ $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, and the multiplication ratio of shoots reached 3.6 times. MS and 1/2 MS medium supplemented with different concentrations of NAA and IBA to carry out rooting culture test, the results showed that the MS + NAA $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + IBA $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ formula combination medium had the best rooting effect, and the rooting rate was 25%. Taking humus soil as tissue culture seedlings transplanting toothache, the survival rate of the tissue culture seedlings transplanted was high up to 95%, and the seedlings grew well.

Keywords: *Toona sinensis*; tissue culture; proliferation; rooting; medium

香椿(*Toona sinensis* Roem.)为楝科香椿属乔木,因其植株散发出浓郁的香味而得名。香椿用途广泛,首先是我国特有的珍贵速生用材树种^[1],木质优良,且耐腐蚀,在家具、模具、建筑、船舶等领域被大量应用^[2];其次,香椿的嫩叶还是一种传统的蔬菜^[3-4],具有丰富的营养且味道鲜美;另外,其叶、根、皮、果实等

收稿日期: 2017-11-06; 修回日期: 2017-12-25

基金项目: 福建省属公益类科研院所基本科研专项(2017R1011-1); 福建省第四期林木种苗科技攻关项目(闽林科[2013]1号); 福州市科技计划项目(榕科[2014]103号)

第一作者简介: 高鸚铭(1991—),女,河南项城人,福建师范大学2013级硕士研究生,从事植物生理与分子生物学研究。

E-mail: 1242774196@qq.com。

通信作者: 肖祥希(1968—),男,福建罗源人,福建省林业科学研究院教授级高级工程师,博士,从事森林培育研究。

E-mail: 1018777476@qq.com。

各个部位都可作为中药并具有独特的功效。香椿传统上多以种子繁殖、分株繁殖、插根及插条繁殖等繁殖方式为主,但这些繁殖方式往往存在繁殖系数低、速度慢、产量低及分离变异大等缺点,大大限制了香椿优良品种的选育和工厂化生产。利用组织培养快繁技术,不但可在短时间内迅速繁殖得到大量苗木,而且可保持母株的优良性状。香椿为福建省重要的乡土树种,全省分布广泛^[5-6]。本研究对香椿组织培养的培养基配方进行研究和筛选,以期取得适合香椿的组培快繁技术,为香椿优良材料快速繁殖提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料来源

试验材料来自福建省邵武市二都采育场2年生香椿种源试验林和家系测定林中选出的优良单株,取早春刚萌发、腋芽饱满的枝条作为组培外植体。

1.2 外植体消毒

将采集的外植体去叶,用清水洗净,切成10 cm左右的茎段置于三角瓶中,用75%酒精溶液处理30 s,0.1%升汞溶液处理8~10 min,再用无菌水洗4~5次;然后将处理过的茎段切成1 cm左右带有顶芽或者侧芽的小段,接种到诱导培养基中(150 mL的培养瓶装25 mL的培养基),每瓶接4段外植体。

1.3 培养方法

1.3.1 诱导培养 以B5为基本培养基,添加6-BA 0.3 mg·L⁻¹进行诱导培养。

1.3.2 芽增殖培养 在MS基本培养基中添加不同浓度的6-苄基腺嘌呤(6-BA)、萘乙酸(NAA)、赤霉素(GA₃)。采用3因素3水平L₉(3⁴)的正交试验设计进行芽增殖培养基配方试验(表1)。试验选用生长一致的无菌苗为材料,接种到培养基中,每个组合接种7瓶,每瓶5株,30 d后统计芽增殖倍数。

1.3.3 生根培养 以MS和1/2 MS为基本培养基,分别添加NAA(0.2、0.5 mg·L⁻¹)、IBA(0.2、0.5 mg·L⁻¹)或NAA+IBA组合,共12个生根培养基配方(表2)。将带有芽的茎段(长2 cm左右)接种于生根培养基中,统计记录生根情况。

1.4 培养条件

基本培养基加蔗糖3%、琼脂0.9%,pH 5.8,培养温度(25±2)℃,光照强度1200~2000 lx,光照时间12 h·d⁻¹。

2 结果与分析

2.1 诱导培养

将消毒好的带有侧芽(或顶芽)的外植体接种于诱导培养基上进行诱导培养,由于生长环境的改变,诱导培养需要一个逐渐适应人工培养条件的过程,因此香椿诱导培养生长缓慢,15~20 d左右侧芽才开始萌动,培养30 d后,萌动的侧芽形成1~2 cm长的淡绿色芽丛,茎纤细,羽状复叶的小叶展开或不展开,主茎伸长生长慢,此时可进行丛生芽继代培养。

2.2 植物生长调节剂对芽增殖的影响

正交试验结果(表1)表明,添加BA和NAA对芽增殖影响较大,高浓度的6-BA和低浓度的NAA配方组合,芽增殖率高,生长情况好;GA₃的浓度影响组培苗的茎节长度,但是对组培苗的生长影响不大,GA₃ 0.1 mg·L⁻¹

表1 香椿芽增殖培养的正交试验结果及极差分析

试验号	因素			增殖倍数
	6-BA/ (mg·L ⁻¹)	NAA/ (mg·L ⁻¹)	GA ₃ / (mg·L ⁻¹)	
1	0.20	0.10	0.05	1.74
2	0.20	0.20	0.20	2.00
3	0.20	0.50	0.10	1.74
4	0.50	0.10	0.20	2.26
5	0.50	0.20	0.10	2.11
6	0.50	0.50	0.05	1.40
7	1.00	0.10	0.10	3.63
8	1.00	0.20	0.05	3.00
9	1.00	0.50	0.20	2.37
K ₁	5.48	7.63	6.14	
K ₂	5.77	7.11	7.48	
K ₃	9.00	5.51	6.63	
k ₁	1.83	2.54	2.05	
k ₂	1.92	2.37	2.49	
k ₃	3.00	1.84	2.21	
R	3.52	2.12	1.34	

时效果最好。极差分析结果表明,影响香椿芽增殖的主要因素是6-BA,在试验浓度范围内芽增殖率随着6-BA浓度的升高而提高,其最佳质量浓度为 $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$;对香椿芽增殖影响的次要因素是NAA,在试验浓度范围内随着NAA浓度的升高增殖率递减,最佳质量浓度为 $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,说明香椿芽增殖培养过程NAA浓度宜低;GA₃对芽增殖的影响最小,但GA₃对幼茎紧缩的节间伸长生长有促进作用。方差分析结果表明6-BA对芽增殖的影响已达显著水平($P < 0.05$),而NAA、GA₃对芽增殖的影响均未达显著水平(P 值分别为0.15、0.31,均 > 0.05)。可见最佳芽增殖激素组合为MS+6-BA $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +NAA $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +GA₃ $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,增殖培养30 d后其增殖倍数达到3.6倍。不同植物生长调节剂浓度组合处理的香椿苗的生长情况见图1,1号、4号、7号处理的苗生长情况最好,8号、9号处理的苗生长情况最差,综合比较可知7号处理组的苗增殖率高,苗质量相对较好,从而印证了上述分析结果。

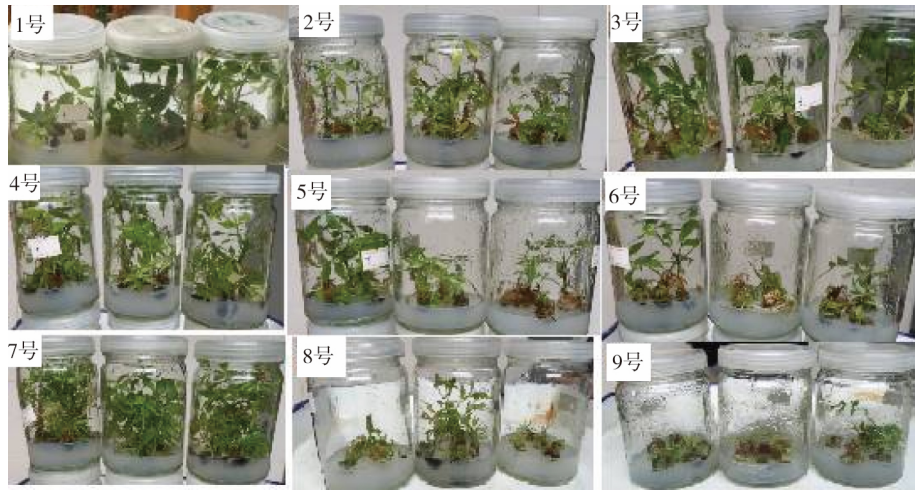


图1 香椿组培苗生长情况

2.3 植物生长调节剂对组培苗生根的影响

NAA和IBA植物生长调节剂对生根的影响见表2。对比分析可知,添加单一植物生长调节剂时,NAA $0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 与 $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 相比,高浓度的生根率更高,根更粗壮,生根时间更早;IBA低浓度比高浓度生根时间更早,生根率更高,但根生长状况不如高浓度处理。同时添加NAA与IBA的组合,低浓度组合比高浓度组合的生根率高,根生长状况更好,生根时间更短。相同条件下,MS基本培养基比1/2MS培养基生根率更高,生根也更早,7 d左右开始发根。相同的基本培养中,添加低浓度IBA的组合发根最早,添加高浓度NAA的组合根粗壮且主根明显,2种植物生长调节剂综合使用的发根率最高。综合比较,NAA与IBA共同组合的生根率高,根生长状况好,生根时间10 d左右。因此,最佳发根培养基是MS+NAA $0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +IBA $0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$,该组合茎段易形成愈伤组织,但浓度还需进一步调整。

表2 植物生长调节剂对香椿组培苗生根的影响

序号	处理	愈伤大小、颜色	生根率/%	平均生根数/条	根生长状况	生根时间/d
1	MS	<0.1 cm 绿	20	1.0	细弱,+	19
2	MS+NAA $0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$	0.5 cm 白	0	0.0	-	-
3	MS+NAA $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$	0.2 cm 白	20	3.0	细小,白色	8
4	MS+IBA $0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$	<0.1 cm 绿	24	3.5	一般,+++	6
5	MS+IBA $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$	0.5~1 cm 白	8	1.0	粗壮,+++	8
6	MS+NAA $0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +IBA $0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$	0.5~1 cm 白	25	4.2	粗壮,++	11
7	MS+NAA $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +IBA $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$	1 cm 白	8	1.0	粗,+	11
8	1/2MS	<0.1 cm 绿	16	1.0	细,++	14
9	1/2MS+NAA $0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$	0.5 cm 白	12	2.7	细弱,++	17

表2(续)

序号	处理	愈伤大小、颜色	生根率/%	平均生根数/条	根生长状况	生根时间/d
10	1/2MS + NAA 0.5 mg · L ⁻¹	0.2 cm, 白	12	1.0	粗壮, +	10
11	1/2MS + IBA 0.2 mg · L ⁻¹	<0.1 cm, 绿	8	3.0	一般, + + +	10
12	1/2MS + IBA 0.5 mg · L ⁻¹	1 cm, 白	4	8.0	粗壮, + +	13
13	1/2MS + NAA 0.2 mg · L ⁻¹ + IBA 0.2 mg · L ⁻¹	0.5 ~ 1 cm, 白	20	4.3	粗, +	11
14	1/2 MS + NAA 0.5 mg · L ⁻¹ + IBA 0.5 mg · L ⁻¹	1 cm, 白	10	10.0	粗, +	14

*: “+”为根长 < 3 cm; “++”为根长 3 ~ 6 cm; “+++”为根长 > 6 cm。

2.4 炼苗移栽

选取长势好, 高度 5 cm 以上的组培苗, 打开培养瓶盖炼苗 3 d, 然后小心取出组培苗, 用自来水冲洗干净根部培养基, 移栽到用多菌灵消毒的腐殖土基质中, 前期用薄膜进行覆盖, 保持湿度 90% 以上, 随后逐渐降低湿度, 15 d 后去掉覆盖薄膜, 定期浇水, 保持温度 20 °C 左右, 移栽苗成活率达 95% 以上, 移栽苗生长迅速, 长势好, 见图 2。



图2 香椿组培苗炼苗生长情况

3 小结与讨论

通过香椿芽增殖和生根试验, 初步选出了芽增殖和生根的最佳培养基配方, 分别为 MS + 6-BA 1.0 mg · L⁻¹ + NAA 0.1 mg · L⁻¹ + GA₃ 0.1 mg · L⁻¹ 和 MS + NAA 0.2 mg · L⁻¹ + IBA 0.2 mg · L⁻¹, 芽增殖倍数可达 3.6 倍, 生根率可达 25%。另外, 腐殖土作为香椿组培苗移栽的基质, 移栽成活率可达 95% 以上, 苗木长势好。

关于香椿组培的研究, 吴丽君^[7]认为适宜分化丛生芽的理想培养基为 4/5 MS + 6-BA 0.5 ~ 1.0 mg · L⁻¹ + NAA 0.1 mg · L⁻¹ + GA₃ 0.5 mg · L⁻¹, 适合生根培养基为 1/2 MS + NAA 0.5 mg · L⁻¹ + GA₃ 0.1 mg · L⁻¹ 或 1/2 MS + IBA 0.5 mg · L⁻¹ + GA₃ 0.1 mg · L⁻¹。而马勤^[8]研究认为在继代和增殖培养基中以 MS + 6-BA 0.2 mg · L⁻¹ + GA₃ 2.0 mg · L⁻¹ 对香椿腋芽的增殖效果最好, 生根诱导以单一 IBA 诱导生根效果最佳。可见对适宜培养基的筛选, 不同的研究还存在较大的差异, 这可能是由试验材料、试验条件等因素的差异造成的。本研究认为 6-BA 对香椿芽增殖有显著影响, 质量浓度 1.0 mg · L⁻¹ 时增殖系数达 3.6 倍以上, 这与梁明勤等^[9]的研究结果基本一致, 可见 6-BA 具有抑制植物顶端优势的作用^[10], 但其浓度不宜过高, 否则诱导出的芽会出现严重的玻璃化和轻微的白化现象。涂炳坤等^[11]认为 GA₃ 是影响香椿芽萌发的重要因子, 本研究认为 GA₃ 0.1 ~ 1.0 mg · L⁻¹ 对腋芽的伸长也有促进作用。另外, 生根诱导的研究还发现, 较低浓度的 IBA、NAA 有利于促进组培苗发根, 且 2 种混合使用效果最佳。本试验并没有获得理想的生根效果, 今后还将在此基础上进一步研究, 以期筛选出高效的生根培养基。

*: 本研究还得到了国家林业局南方山地用材林培育重点实验室和福建省森林培育与林产品加工利用重点实验室的资助, 在此一并致谢!

参考文献:

[1] 王倩. 香椿栽培技术 [M]. 北京: 中国农业出版社出版, 1999.

(下转第 90 页)

- [9] Forman R T T, Godorn M. Landscape Ecology [M]. New York: John Wiley and Sons, 1986: 21 - 35.
- [10] 肖笃宁. 景观生态学 [M]. 第 1 版. 北京: 科学出版社, 2003: 33 - 59.
- [11] 彭保发. 土地利用景观格局的稳定性研究 [J]. 地理科学, 2013, 33(12): 1484 - 1488.
- [12] 龚俊杰, 杨华, 邓华锋, 等. 北京明长城森林景观空间结构的分形特征及稳定性 [J]. 北京林业大学学报, 2014, 36(6): 54 - 59.
- [13] 陈冬洋. 基于 MCR 和稳定性模型的东方市景观格局空间优化研究 [D]. 长沙: 中南林业科技大学, 2016.
- [14] 王光军, 莫蕙榕, 张洪江, 等. 株洲云龙示范区绿地系统生态服务功能评价与优化 [J]. 中南林业科技大学学报, 2015, 35(2): 59 - 65.
- [15] 谢高地, 张彩霞, 张雷明, 等. 基于单位面积价值当量因子的生态系统服务价值化方法改进 [J]. 自然资源学报, 2014, 39(8): 1243 - 1254.
- [16] Costanza R, D'Arge R, Groot R D, et al. The value of the world's ecosystem services and natural capital [J]. World Environment, 1997, 387(1): 3 - 15.
- [17] 何海军, 温家声, 张锦炜, 等. 海南红树林湿地生态系统服务价值评估 [J]. 生态经济: 中文版, 2014, 31(4): 145 - 149.
- [18] 宋涛. 基于 GIS 的森林景观格局适宜粒度研究 [D]. 长沙: 中南林业科技大学, 2009.
- [19] 陈永林, 谢炳庚, 李晓青. 长沙市土地利用格局变化的空间粒度效应 [J]. 地理科学, 2016, 36(4): 564 - 570.

(上接第 67 页)

- [2] 李淑玲, 桑玉强, 王平, 等. 不同种源香椿性状遗传分析 [J]. 河南农业大学学报, 2000, 34(4): 363 - 366.
- [3] 王承南, 李平, 谷战英, 等. 香椿温室水培催芽技术 [J]. 经济林研究, 2012, 30(4): 159 - 161.
- [4] 周建梅, 王承南, 刘斌, 等. 香椿芽的速冻保鲜与脱水加工技术 [J]. 经济林研究, 2011, 29(2): 101 - 103.
- [5] 范振富. 香椿速生丰产用材林栽培试验 [J]. 林业科技开发, 2004, 18(5): 61 - 63.
- [6] 高瑞龙, 吴光华, 李大盆. 不同树龄香椿人工林木材材质的比较 [J]. 江西农业大学学报, 2003, 25(S1): 124 - 127.
- [7] 吴丽君. 香椿组培快繁效率的影响因子 [J]. 中南林学院学报, 2005, 25(2): 25 - 29.
- [8] 马勤. 香椿 T4 品系组培快繁技术研究 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2006.
- [9] 梁明勤, 郭群鹏, 陈世昌, 等. 菜用香椿组培快繁技术研究 [J]. 园艺与种苗, 2016(3): 58 - 61.
- [10] 陈世昌. 植物组织培养 [M]. 重庆: 重庆大学出版社, 2006: 19 - 47.
- [11] 涂炳坤, 丁小飞. 香椿芽休眠萌发期间内源激素和碳水化合物的变化 [J]. 林业科学, 2003, 30(4): 159 - 161.