

红叶石楠组培苗瓶外生根技术研究

吴丽君¹, 江淑萍², 卓年福³, 郑丽萍⁴, 黄建华¹, 李朝晖¹, 沈继南¹

(1. 福建省林业科学研究院, 福建 福州 350012; 2. 浦城林业科技推广中心, 福建 浦城 353400;
3. 连城县曲溪林业管理站, 福建 连城 366207; 4. 莆田市林业科技试验中心, 福建 莆田 351100)

摘要:以苗龄为40 d的红叶石楠组培继代芽苗为瓶外生根试验材料,采用多因素正交试验设计研究不同栽培基质、不同激素、不同激素浓度处理及处理时间对红叶石楠继代芽苗瓶外生根诱导的影响,继代芽苗扦插前的不同炼苗方式及扦插后施肥方式对芽苗瓶外生根率的影响。结果表明: $A_3B_1C_3D_2$ 组合(珍珠岩、生根粉ABT 200 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 浸泡处理30 min)获得59%瓶外生根率,而 $A_3B_1C_1D_2$ (珍珠岩、ABT 50 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 浸泡处理30 min)为最理想的组合;芽苗在自然散射光下炼苗15~20 d,生根率可提高到81%;栽后适时追施营养液有利于芽苗的高生长。继代芽苗瓶外生根技术的应用减少组培苗培养工序,促进红叶石楠的组培快繁效率,降低组培苗的生产成本。

关键词: 红叶石楠;组培;继代芽苗;瓶外生根;生根率

中图分类号: S723.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1002-7351(2007)04-0004-04

Study on rooting techniques of tissue culture buds of *Photinia fraseri* outside test tubes

WU Li-jun¹, JIANG Shu-ping², ZHUO Nian-fu³, ZHENG Li-ping⁴, HUANG Jian-hua¹, LI Chao-hui¹, SHEN Ji-nan¹

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

2. Pucheng Extension Center of Forestry Science and Technology, Pucheng, Fujian 353400, China;

3. Quxi Forestry Management Station of Liancheng, Liangcheng, Fujian 366207, China;

4. Putian Forestry Extension Center of Forestry Science and Technology, Putian, Fujian 351100, China)

Abstract: Using the proliferation buds aged for 40 days of *Photinia fraseri* as test materials in multi-factor orthogonal experiment design, the effect of different base soils, different hormones, different concentration treatments of hormones and different treatment time, different acclimating ways and fertilization ways on rooting rate of proliferate buds of *Photinia fraseri* has been studied. The results showed that 59% rooting rate outside test tube was obtained in the combination of $A_3B_1C_3D_2$ (base soil with perlite, being soaked with 200 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ABT rooting powder for 30 minutes); and the combination of $A_3B_1C_1D_2$ (base soil with perlite, being soaked with 50 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ABT rooting powder for 30 minutes) is the best for rooting outside test tubes. The rooting rate was increased to 81% when the proliferation buds were cultured for 15~20 days under natural dispersive light; Adding the nutritious liquid benefited high growth of seedlings. Application of rooting techniques of proliferate buds outside test tubes reduces the working procedure of tissue culture seedlings, improving micropropagation efficient of *Photinia fraseri* and reduced the cost of tissue culture seedlings.

Key words: *Photinia fraseri*; tissue culture; proliferation bud; rooting outside test tube; rooting rate

红叶石楠(*Photinia fraseri*)属蔷薇科石楠属^[1],是国产石楠(*Ph. serrulata*)与光叶石楠(*Ph. glabra*)的杂交种。具有生长迅速,耐修剪,株形紧凑,萌芽力强,适生范围广等特点。因其新叶四季鲜红亮丽,配合修剪可常年保持极其醒目的鲜红色,是园林绿化中珍贵的常绿彩叶树种。红叶石楠栽培品种、变种或杂种很多^[1],我国常见的红叶石楠有“红罗宾”(Red Robin)和“鲁宾斯”(Rubens)2个品种,目前这2个优良品种的繁殖方式主要有播种、扦插、水培等常规技术^[2,3]。由于扦插、水培等常规无性繁殖方式存在插条生根时间长、生根率低、繁殖速度慢、季节限制、占地面积大等因素,红叶石楠组培技术的开发研究掀起了热潮,江西林业科学研究院邓小梅、江西农业大学园林与艺术学院黄美娟等先后开展了红叶石楠“红罗宾”组培快繁技术研究^[4,5],河南省鄢陵县花卉办靳志敏、浙江国美园艺李玉祥、浙江森禾种业股份有限公司

收稿日期: 2007-03-20; 修回日期: 2007-06-27

基金项目: 福建省林业厅科研项目“红叶石楠组培及工厂化育苗技术体系的营建技术”(2005)资助

作者简介: 吴丽君(1968-),女,福建浦城人,福建省林业科学研究院高级工程师,从事林木、花卉生物技术研究。

俞继英等也相继开展红叶石楠组培繁殖技术研究^[6-9],浙江省桐乡市农业经济局于永根等对红叶石楠组培苗移栽管理技术进行探索^[10],这些研究为红叶石楠的组培技术的推广应用提供技术支撑。然而相对于扦插苗,红叶石楠组培苗存在培养程序多、苗木成本高等问题。为此,在红叶石楠组培快繁技术成熟的基础上,开展组培苗瓶外生根技术研究,以减少组培苗培养环节,缩短育苗周期,降低苗木成本,进一步完善红叶石楠组培快繁及工厂化育苗技术体系,促进组培苗的推广应用具有重要的现实意义。

1 材料与方法

1.1 材料

选用红叶石楠“鲁宾斯”品种,在 $B_5 + BA\ 2.0\ mg \cdot L^{-1} + NAA\ 0.5\ mg \cdot L^{-1} + GA_3\ 0.1\ mg \cdot L^{-1}$ 培养基上经多次继代增殖培养的继代丛生芽苗,在继代培养室(继代培养室以日光灯为光源,光强约为 $1\ 500 \sim 2\ 000\ lx$)培养 40 d 或在炼苗室培养 15~20 d,高 3.0 cm 芽苗作为瓶外生根试验的“微型扦插”,芽条基部扦插入基质深度约为 0.8~1.0 cm 为宜。

1.2 栽培基质与激素的筛选

试验选用蛭石、黄心土+珍珠岩(黄心土经 0.8 cm 孔径的土筛筛后按 10:1 的比例与珍珠岩混合)、珍珠岩等 3 种类型的土壤基质,3 种基质均装入塑料穴盘(每个穴盘 49 个穴),用 0.15%~0.2% 的高锰酸钾消毒基质,覆盖薄膜 24 h 后即可使用。继代芽苗基部切口浸泡处理选用 ABT、NAA、IBA 3 种激素,各配制 3 种激素浓度分别为 $50\ mg \cdot L^{-1}$ 、 $100\ mg \cdot L^{-1}$ 、 $200\ mg \cdot L^{-1}$,激素浸泡处理时间设为 3 min、30 min、120 min。选用 4 因素 3 水平正交表 $L_9(3^4)$ 设计试验方案如表 1,芽苗扦插 35 d 后统计各试验号芽苗生根率。

1.3 炼苗方式的筛选

瓶外生根前,采用 2 种炼苗方式与不经过炼苗阶段的芽苗直接扦插进行生根对比试验。炼苗方式一:将在继代培养室培养 20 d 左右的继代芽苗(此时丛生芽分化基本完成)移到光照强度为 $2\ 500 \sim 3\ 500\ lx$,以自然散射光为光源的炼苗室(顶部覆盖 50% 遮阳网的半自动化玻璃温室)培养 15 d;炼苗方式二:按照炼苗方式一完成炼苗的丛生继代芽苗,打开瓶盖后,在原炼苗室继续炼苗 2~5 d(依季节不同而调整,以培养基不滋生菌为准)。试验选用珍珠岩,浓度为 $50\ mg \cdot L^{-1}$ 生根粉 ABT1[#] 浸泡处理芽苗切口 2 h 组合,芽苗扦插 35 d 后统计分析丛生芽苗木质化与瓶外生根率的关系。

1.4 营养液与激素组合的筛选

以珍珠岩为基质,以浓度为 $50\ mg \cdot L^{-1}$ ABT1[#] 生根粉浸泡处理芽苗切口 30 min,经炼苗 15~20 d 的芽苗扦插后,按 B_5 培养基^[11,12]中大量元素的配比配制成 B_5 和 $1/2B_5$ (大量元素为 B_5 培养基的 1/2)2 种大量元素营养液以喷清水为对照分别与浓度为 $0\ mg \cdot L^{-1}$ 、 $10\ mg \cdot L^{-1}$ 生根粉 ABT1[#] 形成 6 种营养液与激素组合的混合液,每个组合扦插芽苗 50 株,自栽后第 5 d 开始,每周喷施混合液 1 次,60 d 后统计芽苗根诱导及苗高生长情况。

1.5 瓶外生根培养条件控制

芽苗移栽后,加强大棚(瓶外生根环境)内水分、光照、温度、湿度、通风透气等培养条件的控制,营造适宜于芽苗生根诱导的培养条件是提高瓶外生根率的基本保障。大棚内最高温度控制在 $32^\circ C$ 以下,最低温不低于 $15^\circ C$,适当的温差有利于根的诱导。红叶石楠为喜光树种,且待栽的丛生继代芽苗已经过自然散射光下炼苗培养,可接受一定强度直射光的照射,选用透光率 50% 的遮阳网以覆盖薄膜上部,如遇阴雨天及时揭去遮阳网,以保持棚内的光照。大棚内可通过喷雾保持 80% 以上的空气湿度。直至芽苗根萌发后,可逐渐揭去遮阳网,加强通风,降低棚内空气湿度。

2 结果与分析

2.1 基质、激素等因素对芽苗瓶外生根的影响

选用培养 40 d 以上的继代丛生芽苗,从培养瓶中取出丛生芽苗,用手术剪剪取高 3.0 cm 以上的单株芽苗,按表 1 中 9 个试验号的激素种类、浓度及时间组合处理芽苗基部切口,扦插于消毒好的对应组合的

栽培基质中,每个试验号 100 株芽苗,栽后严格控制好瓶外生根的光、温、湿、气等环境条件,培植 30 d 后,统计各试验号的生根率、各因素各水平总的生根率、各因素各水平平均生根率及各因素水平间的极差值,并列于表 1。从表 1 可见,试验号 7(A₃B₁C₃D₂ 组合)取得较高的芽苗生根率(59%);极差分析可见,因素 A 以 A₃ 水平(珍珠岩)为最佳,因素 B 以 B₁ 水平(生根粉 ABT1[#])为最佳,因素 C 以 C₁ 水平(50 mg·L⁻¹)为佳,因素 D 以 D₂ 水平(30 min)为佳,因此,极差分析表明 4 因素的最佳水平组合为 A₃B₁C₁D₂。从各因素极差值 R 可判断,影响芽苗瓶外生根率的主要因素依次为土壤基质(A 因素),激素种类(B 因素),激素浓度(C 因素),激素处理时间(D 因素)。可见土壤基质和生根促进剂的选择是组培继代芽苗瓶外生根的关键,珍珠岩的保水透气性更适合红叶石楠组培苗瓶外生根,生根粉 ABT1[#] 不仅生根率高,芽苗切口愈伤组织不明显,且根系较为发达,平均单株主根达 3~4 条;而生长素 NAA 处理芽苗切口后形成的红色愈伤组织块较大,在一定程度上延迟芽苗发根时间,根较粗短。

表 1 9 种组合(基质与激素种类、浓度、时间等 4 因素 3 水平)的芽苗生根率与极差分析

试验号	A 因素(土壤基质)	B 因素(激素种类)	C 因素(激素浓度)	D 因素(浸泡时间)	芽苗生根率/%
1	A ₁	B ₁	C ₁	D ₁	48
2	A ₁	B ₂	C ₂	D ₂	45
3	A ₁	B ₃	C ₃	D ₃	37
4	A ₂	B ₁	C ₂	D ₃	39
5	A ₂	B ₂	C ₃	D ₁	29
6	A ₂	B ₃	C ₁	D ₂	38
7	A ₃	B ₁	C ₃	D ₂	59
8	A ₃	B ₂	C ₁	D ₃	56
9	A ₃	B ₃	C ₂	D ₁	49
K ₁	130	146	142	126	
K ₂	106	130	133	142	
K ₃	164	124	125	132	
T ₁	43.33	48.67	47.33	42	
T ₂	35.33	43.33	44.33	47.33	
T ₃	54.67	41.33	41.67	44	
R ₃	19.34	7.34	5.66	5.33	

*:表 1 中,A₁ 为蛭石,A₂ 为黄心土+珍珠岩(10:1),A₃ 为珍珠岩,B₁ 为 ABT;B₂ 为 NAA,B₃ 为 IBA,C₁ 为 50 mg·L⁻¹,C₂ 为 100 mg·L⁻¹,C₃ 为 200 mg·L⁻¹,D₁ 为 3 min,D₂ 为 30 min,D₃ 为 120 min;K₁、K₂、K₃ 分别表示对应各因素中 3 个水平的生根率的总和,T₁、T₂、T₃ 分别为相应的平均生根率,R 为各因素平均生根率的极差。

2.2 炼苗方式与瓶外生根率的关系

生长旺盛、粗壮、叶片肥厚、半木质化的继代芽苗是瓶外生根的前提条件^[13]。通过补充光照、延长光照时间等炼苗方式提高芽苗木质化程度,提高芽苗抗蒸腾作用和适应能力是提高芽苗瓶外生根率的有效途径。试验以珍珠岩为基质,以生根粉 ABT1[#] 溶液浸泡处理芽苗切口 30 min,2 种炼苗方式与不经过炼苗的芽苗直接扦插进行生根对比试验,每个处理扦插芽苗 100 株,30 d 统计生根率见图 1。从图中可见,未经过炼苗的芽苗瓶外生根率仅为 62%,约有 25% 未生根的芽苗在基部切口或与基质接触部分开始腐烂,10% 的芽苗顶部生长点变成褐色而死亡。经过炼苗方式一的芽苗获得 76% 的生根率,炼苗方式二的芽苗获得高达 81% 生根率。何云芳等^[14]采用松口(开盖)炼苗方式开展金线莲组培苗瓶外生根试验,比封口炼苗方式生根率提高 5.3%,可见芽苗的炼苗过程一方面是不断提高芽苗木质化程

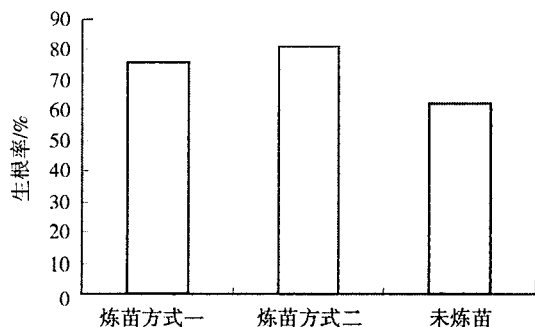


图 1 芽苗不同炼苗方式的瓶外生根率

度,提高适应瓶外环境能力;另一方面是通过逐步缩小芽苗生长环境的光、温、湿等差异,使“微型插穗”逐渐从瓶内的高温、高湿、无菌的生长环境过渡瓶外近自然的环境条件。

2.3 营养液与激素的施加对芽苗生根、生长的影响

大量试验证明,试管苗瓶外生根率普遍较瓶内生根率低^[13],原因之一是瓶外生根的光、温、湿等环境条件较瓶内的微环境不易调控,其二是芽苗瓶外生根诱导所需的外源生长素及芽苗生长所需的养分没能及时得以补充。试验以营养液、激素形成6种组合的混合液,栽后第5 d开始,每周喷施混合液1次,60 d后统计芽苗根诱导率及苗平均高生长量列表2。从表2和表3可见,不同营养液对芽苗生根率及苗高2个指标均达显著影响,其中喷施清水获得最高的生根率(78%和86%),而喷施B₅培养基配方大量元素营养液,苗高生长量最大。据此试验结果可推断,在红叶石楠芽苗瓶外扦插后生根前,以喷清水为佳;而瓶外诱导生根后,追施B₅培养基配方的大量元素有利于苗的高生长。

不定根发生和发育的整个阶段连续补充生长素有利于根原基的诱导^[13]。本试验在施用的营养液中添加10 mg·L⁻¹ ABT对芽苗生根率也有一定的促进作用,但没有达到显著影响;从成本核算分析,芽苗扦插后以不补充ABT生根剂为佳。

表2 不同混合液对芽苗生根率及苗高生长的影响

营养液	0 mg·L ⁻¹ ABT		10 mg·L ⁻¹ ABT	
	生根率 /%	平均苗高 /cm	生根率 /%	平均苗高 /cm
清水	78	3.6	86	3.6
B ₅	46	4.3	62	4.4
1/2B ₅	70	4.0	74	4.2

表3 不同营养液及ABT浓度对比对生根率及苗高的方差分析

离差源	自由度	芽苗生根率			芽苗高生长			F _a
		离差平方和	均方差	均方比(F)	离差平方和	均方差	均方比(F)	
营养液	2	805.3	402.7	21.6*	0.583	0.292	58.3*	F _{0.05} (2, 2) = 19.0
ABT	1	130.7	130.7	7	0.015	0.015	3	
误差	2	37.3	18.7		0.01	0.005		F _{0.05} (1, 2) = 18.5
总和	5	973.3						

3 结语

组培苗瓶外生根是最具发展潜力的组培工厂化育苗技术环节。瓶外生根技术将继代芽苗瓶内生根培养阶段与生根苗移栽驯化结合起来,减化了组培苗生根培养程序,大大降低生产成本。Debergh等^[15]认为诱导试管苗生根过程的费用占总费用的35%~75%。

试验证明土壤基质、生根剂种类、浓度及处理时间都直接影响着红叶石楠继代芽苗的瓶外生根率。其中土壤基质和生根剂是影响芽苗瓶外生根率的关键因素,以珍珠岩为基质、以浓度50 mg·L⁻¹生根粉ABT1[#]浸沾芽苗30 min是获得最高瓶外生根率的理想组合。

木质化或半木质化插穗是红叶石楠硬枝扦插技术的关键。同理,红叶石楠瓶外生根的“微型穗条”木质化程度也影响着瓶外生根率。经过自然散射光炼苗培养的继代芽苗可获得81%的瓶外生根率。

光、温、湿、气流等环境条件及水肥管理是红叶石楠瓶外生根成败的重要因素。红叶石楠芽苗瓶外扦插后生根前喷清水、诱导生根后追施B₅培养基配方的大量元素能显著提高了瓶外生根率及苗高。假设瓶外生根的光、温、湿等环境条件可调控,芽苗瓶外扦插也如同瓶内诱导生根培养不受时间、季节限制。

参考文献:

- [1]潘晓东. 红叶石楠栽培技术及其园林应用前景[J]. 绿色中国, 2003(3): 61.
- [2]朱玉球, 童再康, 黄华宏. 红叶石楠硬枝水培生根试验[J]. 浙江林学院学报, 2004, 21(1): 28-32.
- [3]江灶发. 桃叶石楠的育苗技术及苗木生长规律研究[J]. 江西林业科技, 2003(5): 4-5.
- [4]黄美娟, 邓小梅, 符树根. 红叶石楠“红罗宾”组培快繁技术研究[J]. 江西农业大学学报, 2003, 25(4): 604-607.
- [5]邓小梅, 黄敏仁, 王明麻. 红叶石楠“红罗宾”的组培高效再生系统的建立[J]. 江西林业科技, 2004(4): 19-21.

合单因子效应和双因子互作效应分析,使木质素熔融共混物达到平衡扭矩时间最短的因素 X_1 、 X_2 、 X_3 、 X_4 、 X_5 的水平组合为 -2、2、2、2、2,但在实际应用中,木质素含量太小,则失去了应用的价值,从达到最大扭矩时间的单因子效应图看,木质素对时间的影响虽然随含量的增大而时间延长,但整个范围内增大的趋势不大,因此木质素取较高水平是有实际意义并可行的。

3 结论

1)木质素、增塑剂含量以及温度等因素对共混物最大扭矩、平衡扭矩、达到平衡扭矩的平均时间都有影响。木质素在较低含量范围内降低了共混体系的扭矩,达到平衡扭矩的时间缩短,在木质素含量较高的情况下,共混体系的平衡扭矩增大,达到平衡扭矩的时间延长;增塑剂对木质素共混体系扭矩值降低,达到平衡扭矩的时间缩短;随着温度的升高,共混体系扭矩值降低,达到平衡扭矩的时间缩短;适当添加淀粉降解母料有利于降低最大扭矩和缩短达到平衡扭矩时间,有利于共混物的塑化。

2)综合各因素对扭矩(最大、平衡)、达到平衡扭矩时间的影响,在 LDPE 为 100 份时,使最大扭矩、平衡扭矩最小、塑化时间最短的组合为木质素 55 份,淀粉母料 25 份,增塑剂占木质素 7.5%,增容剂 10.5 份,温度为 180℃。

参考文献:

- [1]张美珍,柳百坚,谷晓昱.聚合物研究方法[M].北京:轻工业出版社,2002:173.
- [2]黄树新,鲁传敬.低密度聚乙烯熔体的非线性依时性流变特性及表征[J].高分子学报,2004(3):339-343.
- [3]李云涛,郭少云,陈光顺,等.超声辐照下聚乙烯熔体挤出流变特性的研究[J].化学通报,2001(1):40-42.
- [4]汪超,李斌,徐潇,等.魔芋葡甘聚糖的流变特性研究[J].农业工程学报,2005,21(8):157-160.
- [5]王洪武,马榴强,周建国,等.大豆蛋白质流变性能的研究[J].高分子材料科学与工程,2002,18(2):112-114,119.
- [6]宋杰,王福祥,侯永发,等.改性微晶纤维素凝胶流变性的研究[J].林产化学与工业,1998,18(1):30-34.
- [7]David Betancur - Ancona, Elodia García - Cervera, Eduardo Canizares - Hernández, et al. Chemical Modification of Jack Bean (Canavalia ensiformis) Starch by Succinylation[J].Starch - Starke,2002,54(11):540-546.
- [8]Jens - Peter Krause, et. Effect of extraction conditions on composition, surface activity and rheological properties of protein isolates from flaxseed (Linum usitatissimum L.) [J].Journal of the Science of Food and Agriculture, 2002,82(9):970-976.
- [9]黎先发.木质素-EVA 扭矩流变性能试验研究[J].塑料工业,2005(8):42.
- [10]林海燕,罗学刚.醇溶木质素溶胶流变特性的研究[J].林产化学与工业,2005(1):19-22.

(上接第 7 页)

- [6]张虎,王润贤,邱国金,等.紫叶石楠的组织培养与快速繁殖[J].植物生理学通讯,2003,39(1):34.
- [7]姜昱丞,张同庆,郑文德.石楠组织培养及植株再生[J].许昌师专学报,1999,18(5):80-83.
- [8]段祖安,齐建国,张承庆.石楠的组培快繁研究[J].山东林业科技,2000(4):19-21.
- [9]轩志敏.红叶石楠组培繁殖技术研究[J].科技园地,2004(4):8-9.
- [10]于永根,李玉祥,秦昕棋.红叶石楠组培苗移栽管理技术[J].浙江林业科技,2002,22(5):43-45.
- [11]陈正华.木本植物组织培养及其应用[M].北京:高等教育出版社,1986.
- [12]谭文澄,戴策刚.观赏植物组织培养技术[M].北京:中国林业出版社,1999:7.
- [13]徐振华,王学勇,李敬川,等.试管苗瓶外生根的研究进展[J].中国农业通报,2002,18(4):64-86.
- [14]何云芳,余有祥,裴丽珍,等.金线莲组培苗的试管外生根和大田移栽技术[J].浙江林业科技,1998,18(2):22-24.