

杉木的组织培养*

崔杰 邓素娥 张华 莫志安 连人豪

(广州市石门国家森林公园, 广东广州 510520)

摘要 以杉木 (*Cunninghamia lanceolata*) 嫩茎为实验材料, 开展了组织培养研究。结果表明, 杉木嫩茎用 0.1% 的 HgCl_2 试剂消毒 9 min 效果最好, 污染率和死亡率低, 成活率达到 80%。最佳增殖培养基为 MS+6-BA1.5 mg/L+NAA0.3 mg/L+3% 蔗糖, 增殖系数达到 4.2。最适宜杉木组培苗生根的培养基为 1/2MS+NAA0.1 mg/L+IBA1.5 mg/L+2% 蔗糖, 生根率为 80%。移栽 30 d 后, 成活率高达 88%。

关键词 杉木; 外植体; 组织培养

中图分类号: S722.3+7 **文献标识码**: A **文章编号**: 2096-2053(2018)03-0119-04

Tissue Culture and Micropropagation of *Cunninghamia lanceolata*

CUI Jie DENG Su'e ZHANG Hua MO Zhi'an LIAN Renhao

(Guangzhou National Forest Park of Shimen, Guangzhou, Guangdong 510520, China)

Abstract The tender stem segments of *Cunninghamia lanceolata* was used for tissue culture and micropropagation. The results showed that 0.1% mercuric chloride solution (9 min) was appropriate, the pollution and mortality rate was very low, the survival rate was 80%. And the best medium for subculture was MS+6-BA1.5 mg/L+NAA0.3 mg/L+3% S, the value-added coefficient reaches 4.2. The most suitable medium for rooting was 1/2MS+NAA0.1 mg/L+IBA1.5 mg/L+2% S, the rooting rate was 80%. After 30 days, the survival rate was more than 88%.

Key words *Cunninghamia lanceolata*; explants; tissue culture

杉木 (*Cunninghamia lanceolata*) 又名沙木、沙树等, 为杉科 (Taxodiaceae) 杉木属乔木。主要分布在长江流域、秦岭以南地区^[1]。因其生长速度快、材质细致轻软、纹理直、易加工的特点被广泛栽培^[2]。目前杉木的育种方法主要有播种育苗、扦插嫁接育苗等, 但培育出的苗长势参差不齐。然而, 组培苗能够保持母本的优良性状, 因此, 国内学者利用组织培养技术开展了杉木的优良选育研究^[3-5]。据报道, 目前已成功利用杉木的花药、顶芽、嫩茎等外植体建立了组织培养体系^[6-8]。本研究利用华南植物园筛选的良种杉木 3 a 生实生苗为实验材料, 初步建立了杉木组织培养

体系, 为杉木良种无性繁育奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料为华南植物园筛选的良种杉木 3 a 生实生苗, 采集饱满嫩茎作为外植体。

1.2 试验方法

1.2.1 外植体的消毒 选取杉木生长旺盛的饱满嫩枝, 剪取长度 6~8 cm 的茎段, 用洗涤剂擦洗, 在自来水下冲洗 2 h。置于超净工作台上, 用 75% 的酒精浸泡 40 s 后, 分别用 0.1% 的 HgCl_2 溶液处理 5、7、9、11 min, 和 5% 的 NaClO_3 溶液处理

* 第一作者: 崔杰 (1982—), 男, 工程师, 主要从事森林培育及林业管理工作, E-mail: worldcujie@163.com。

5、10、15、20 min。再用无菌水冲洗 4~5 次，置于高压灭菌滤纸上以吸干水分，后将材料剪成长约 1.5 cm 接种于基础 MS 培养基上。每种处理 10 瓶，每瓶 1 株外植体，每处理 3 重复。培养温度为 $(25 \pm 2) ^\circ\text{C}$ ，光照强度为 1 500~1 700 lx，光周期为每天 12 h。统计污染率、死亡率和成活率。

污染率 (%) = 染菌外植体数 / 接种外植体数 $\times$ 100%

死亡率 (%) = (死亡数 + 未长出芽数) / 接种外植体数 $\times$ 100%

成活率 (%) = 未染菌并长出芽数 / 接种外植体数 $\times$ 100%

1.2.2 增殖培养基的筛选 剪取杉木无菌组培幼苗，接入增殖培养基中，在 MS 基础培养基中加入植物激素 6-BA (0.5、1.0、1.5 mg/L) 和 NAA (0.1、0.3、0.5 mg/L)，试验采用正交设计 (表 1)，每种处理 10 瓶，每瓶接种 3 茎段，每处理 3 重复。观察记录，30 d 后统计外植体的生长表现。

增殖系数 = 新增芽数 / 接种芽总数

表 1 杉木无菌组培幼苗增殖实验设计
Tab.1 Experimental design of proliferation

编号 NO.	BA/ (mg · L ⁻¹)	NAA/ (mg · L ⁻¹)
1	0.5	0.1
2	0.5	0.3
3	0.5	0.5
4	1.0	0.1
5	1.0	0.3
6	1.0	0.5
7	1.5	0.1
8	1.5	0.3
9	1.5	0.5

1.2.3 生根培养基的筛选 选取高 2 cm 以上生长健壮的组培幼苗，接种于生根培养基上。在 1/2MS 基础培养基中加入植物激素 NAA (0.1、0.3、0.5 mg/L) 和 IBA (0.5、1.0、1.5 mg/L)，试验采用正交设计 (表 2)，每种处理 10 瓶，每瓶接种 3 茎段，每处理 3 重复。观察记录生根生长表现，30 d 后统计生根率、生根条数、生根长度。生根率 (%) = 生根苗总数 / 接种芽苗总数 $\times$ 100%

表 2 杉木无菌组培幼苗生根实验设计
Tab.2 Experimental design of rooting

编号 NO.	NAA/ (mg · L ⁻¹)	IBA/ (mg · L ⁻¹)
1	0.1	0.5
2	0.1	1.0
3	0.1	1.5
4	0.3	0.5
5	0.3	1.0
6	0.3	1.5
7	0.5	0.5
8	0.5	1.0
9	0.5	1.5

1.2.4 炼苗移栽 选取生根的组培苗，将封口膜打开，放到温室中进行炼苗 2~3 d，为保持空气湿度，向叶片喷洒无菌水，2~3 d 后用清水洗去组培苗根部附着的培养基，用 0.05% 的 KMnO₄ 溶液浸泡 10 min，移栽入配比好的泥炭土 + 蛭石 + 椰壳粉 (1:1:1) 中，用遮阴网覆盖以保湿保温。30 d 后统计移栽成活率。

2 结果与分析

2.1 不同消毒剂 and 消毒时间对杉木消毒效果的影响

由图 1 可知，用 HgCl₂ 溶液消毒的杉木茎段，随着消毒时间的增加，污染率降低，但死亡率提高，消毒时间短不能很好的消除外植体的表面污染，消毒时间过长 HgCl₂ 溶液对外植体又有一定的毒害作用，其中消毒 9 min 成活率最高，达到 80%。而用 NaClO₃ 溶液消毒的杉木茎段，如图 2 所示，消毒 15 min 成活率最高，为 70%。但与 HgCl₂ 溶液相比，NaClO₃ 溶液消毒效果略不理想，外植体成活率相对较低。因此，用 HgCl₂ 溶液消毒 9 min 效果最好。

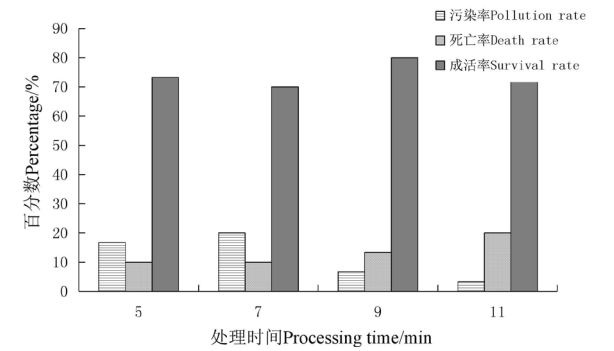


图 1 不同时间 HgCl₂ 溶液处理对杉木外植体的影响
Fig. 1 Effect of HgCl₂ solution at different time on the tender stems of *Cunninghamia lanceolata*

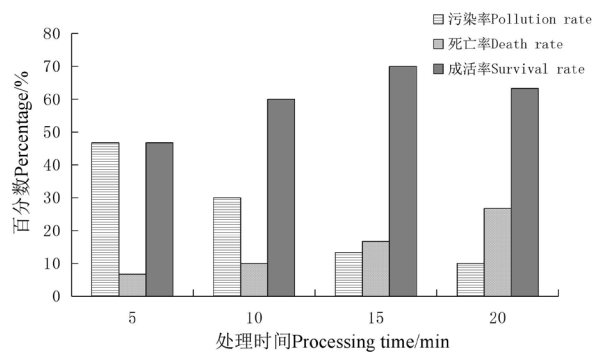


图 2 不同时间 NaClO₃ 溶液处理对杉木外植体的影响

Fig. 2 Effect of NaClO₃ solution at different time on the tender stems of *Cunninghamia lanceolata*

2.2 不同激素水平对杉木增殖的影响

从表 3 可知，不同生长激素的配比对杉木外植体的增殖有着显著的影响。在 6-BA 浓度为 0.5 mg/L 时，杉木苗生长缓慢，并且芽萌发较少，有的外植体还产生了愈伤组织。随着 6-BA 浓度的提高，芽分化变多，并且小苗萌动速度加快，在 8 号培养基中，杉木增殖系数最高，达到了 4.2，

表 3 不同激素水平对杉木增殖的影响

Tab.3 Effects of different media on subculture proliferation of *C. lanceolata*

编号 NO.	6-BA /(mg · L ⁻¹)	NAA /(mg · L ⁻¹)	增殖系数 Enhancement factor	生长表现 Growth state
1	0.5	0.1	1.6	芽较少，生长缓慢，苗弱
2	0.5	0.3	2.0	芽少，高生长较快
3	0.5	0.5	2.0	芽较少，生长缓慢，有愈伤产生
4	1.0	0.1	3.2	长势弱
5	1.0	0.3	4.0	侧芽多，植株矮壮
6	1.0	0.5	3.5	植株矮小，叶片黄
7	1.5	0.1	3.6	芽多，生长较快，苗弱
8	1.5	0.3	4.2	芽多，生长旺盛，苗壮
9	1.5	0.5	3.4	芽多，生长较快，苗玻璃化

表 4 不同激素水平对杉木的生根影响

Tab.4 Effects of different media on rooting of *C. lanceolata*

编号 NO.	NAA /(mg · L ⁻¹)	IBA /(mg · L ⁻¹)	生根率 Rooting rate/%	平均根数 Average number / 条	平均根长 Average length /cm	生长表现 Growth state
1	0.1	0.5	31.1	4.6	2.6	主根少而壮
2	0.1	1.0	73.3	6.4	2.1	主根多但纤细
3	0.1	1.5	80.0	3.5	2.4	主根多粗壮有根毛
4	0.3	0.5	33.3	3.2	2.5	主根长但细
5	0.3	1.0	68.9	4.0	2.1	有侧根，根白且细
6	0.3	1.5	51.1	3.4	3.1	主根短粗
7	0.5	0.5	46.7	5.3	2.5	有少量愈伤，根细
8	0.5	1.0	53.3	2.4	1.9	有少量愈伤，根少
9	0.5	1.5	64.4	4.2	3.0	主根长但纤细

小苗生长迅速苗壮，芽分化较多。综上所述，最适宜杉木增殖的培养基为 MS+6-BA1.5 mg/L+NAA0.3 mg/L+3% 蔗糖。

2.3 不同激素水平对杉木的生根影响

在生根培养实验中，15 d 左右，可见杉木小苗基部有小根长出，30 d 后统计根的生长表现，由表 4 可以看出，较高浓度的 IBA 有利于杉木的生根，在 IBA 为 1.5 mg/L、NAA 为 0.1 mg/L 时，杉木生根多，主根粗壮，且有侧根产生，生根率高达 80%。在 IBA 为 1.0mg/L、NAA 为 0.1 mg/L 时，杉木苗生根条数最多，平均 6.4 条，但是根较纤细。在 IBA 为 1.5 mg/L、NAA 为 0.5 mg/L 时，杉木苗平均根长最长，平均达到 3.0 cm，根虽长但纤细。综上，最适宜杉木组培苗生根的培养基为 1/2MS+NAA0.1 mg/L+IBA1.5 mg/L+2% 蔗糖。

2.4 炼苗移栽表现

将经过炼苗和消毒后的生根苗移栽到配比好的泥炭土 + 蛭石 + 椰壳粉（1：1：1）中，30 d 后

统计成活率达到 88%，成活率较高，植株生长茁壮，为室外移栽的成活打下了良好的基础。

3 结论与讨论

3.1 试验表明，杉木外植体用 HgCl_2 试剂消毒 9 min 的效果最好，污染率和死亡率低；外源激素的种类与浓度对苗木的分化和生长有着一定的影响，杉木最佳增殖培养基为 $\text{MS}+6\text{-BA}1.5\text{ mg/L}+\text{NAA}0.3\text{ mg/L}+3\%$ 蔗糖，增殖系数最高，达到了 4.2，低浓度的 6-BA 不利于杉木苗的增殖；最适宜杉木组培苗生根的培养基为 $1/2\text{MS}+\text{NAA}0.1\text{ mg/L}+\text{IBA}1.5\text{ mg/L}+2\%$ 蔗糖，生根率最高，并且主根生长粗壮；在配比好的泥炭土 + 蛭石 + 椰壳粉 (1:1:1) 中杉木生根苗移栽成活率高达 88%。

3.2 培养基的组分对植物组织的生长有着明显的影响，本文选用了 MS 为基础培养基，有报道称杉木不定根的发生阶段最适基本培养基为 White，其无机盐数值比较低^[9]，这有待我们进一步实验。此外，除了基础培养基，激素种类与浓度对杉木组培苗的生长与分化也有影响，培养的温度、湿度、光照等也会影响杉木苗的生长和生根^[10]。杉木的不同无性系之间也存在较大差异，曾雷等人^[11]研究发现适宜杉木组培苗生根的激素为 GGR6 和根太阳，这与本实验结果不同，需要我们针对不同的无性系开展进一步实验。另在杉木育苗方法中，组培育苗成本要比常规育苗高，为了降低苗木的生产成本，在不影响植株生长的基础上，适当的减少蔗糖浓度，能有效的降低成本^[12-14]，也有待进一步探究。

参考文献

- [1] 吴中伦.杉木[M].北京: 中国林业出版社, 1984: 1-40.
- [2] 俞新妥.杉木栽培学[M].福州: 福建科学技术出版社, 1997.
- [3] 黄安民, 费本华, 刘君良, 等.杉木木材性质研究进展[J].世界林业研究, 2006, 19(1): 47-52.
- [4] 彭万喜, 吴义强, 张仲凤, 等.中国的杉木研究现状与发展途径[J].世界林业研究, 2006, 19(5): 54-58.
- [5] 周天相.杉木无性系育种和良种繁育技术[M].北京: 中国林业出版社, 1990: 1-57.
- [6] 陈代喜, 吴有良, 莫尚伟, 等.广西杉木良种选育现状与对策[J].林业科技开发, 2010, 24(1): 1-5.
- [7] 肖复明, 曾志光, 沈彩周, 等.杉木速生优良无性系选育[J].林业科技开发, 2006, 20(2): 8-11.
- [8] 吴大忠.不同杉木无性系组织培养繁殖特性的比较研究[D].福州: 福建农林大学, 2007.
- [9] 吴攫溪.杉木组织培养繁殖体系建立的研究[J].福建林学院学报, 1991, 11(1): 67-74.
- [10] 韦如萍, 胡德活, 郑会全, 等.植物激素对杉木组培苗增殖和生根的影响[J].广东林业科技, 2013, 29(4): 11-17.
- [11] 曾雷, 胡德活, 王润辉, 等.杉木优良无性系组织培养技术研究初报[J].广东林业科技, 2009, 25(6): 64-69.
- [12] SUL I W, KORBAN S S. Effects of salt formulations, carbon sources, cytokinins, and auxin on shoot organogenesis from cotyledons of *Pinus pinea* L. [J]. Plant Growth Regulation, 2004, 43: 197-205.
- [13] 吴毅明.植物组织培养的环境调节研究进展[J].生态农业研究, 2000, 8(1): 73-75.
- [14] 马均, 马明东.曼地亚红豆杉组培快繁技术的简化[J].林业科技, 2007, 32(6): 1-2.