

IBA、ABT1 和发根农杆菌对大叶金叶槭嫩枝扦插生根的影响

张晓曼¹, 孙晓光², 刘云强¹, 张 芹¹

(1. 河北农业大学 园林与旅游学院, 河北 保定 071000; 2. 保定市交通运输局, 河北 保定 071000)

摘 要:以大叶金叶槭为试材,研究了 IBA、ABT1 和发根农杆菌对其嫩枝扦插生根的影响。结果表明:IBA、ABT1 和发根农杆菌处理后,插条生根率、平均生根数、平均根长显著提高($P<0.01$),生根时间缩短。IBA、ABT1 和发根农杆菌处理后,插条生根 GA_3 和 IAA 含量,IAA/ABA 均比对照增加,且差异极显著($P<0.01$);可溶性糖和全氮含量变化一致,先上升后下降与对照无显著差异,提高了 IAA/ABA 比值,降低了 ABA 和酚的含量。其中以 $500\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ABT1 浸泡 1 min,再用发根农杆菌浸泡基部 30 min 处理的嫩枝扦插生根效果最好,生根率、平均生根数、平均根长分别比对照增加了 112.36%、112.61%和 64.95%,生根时间比对照缩短了 8 d。

关键词:大叶金叶槭;嫩枝扦插;发根农杆菌;内源激素;营养物质;酚含量

中图分类号:S 687 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)22-0097-04

槭树科(Tiliaceae)槭树属(*Tilia* L.)植物分布范围广泛,全球约 80 种,分布于北半球温带及亚热带地区。大叶金叶槭(*Tilia platyphyllos* Aurea)原产欧洲,生长健壮,适应性强。是广泛应用于欧美国家的彩色园林景观树种,该种叶色金黄,树冠半球形,树姿优美,高可逾 30 m。观赏价值高,适宜于城市行道树,园林绿地栽植^[1]。自 2011 年河北农业大学从美国引种大叶金叶槭,尝试用种子播种繁殖,但是,大叶金叶槭种子表现成熟度不高,种胚发育不好,导致播种育苗出苗率低。另外用于大叶金叶槭嫁接的砧木,只能靠从自然分布较多的北部山区寻找,这些苗木均存在须根数量少、栽植成活率低、缓苗期长的缺陷,因此影响了大叶金叶槭的嫁接繁殖。大叶金叶槭以扦插繁殖为主,但是引种后在自然条件下,大叶金叶槭扦插成活率很低。如果想提高插条的成活率,需要在化学条件或外界物理作用刺激下诱导其产生根源基。促进扦插生根的外源激素种类很多,如吲哚丁酸(IBA)、奈乙酸(NAA)等,付喜玲等^[2]、刘峻蓉等^[3]在诱导大叶黄杨、芍药等扦插生根时效果显著。曹兴等^[4]、陈兆凤^[5]用 ABT1 号生根粉处理聊红槐、穗花杉硬枝扦插生根获得了成功。发根农杆菌(*Agrobacterium*

rhizogenes)是一种侵染性广泛的土壤细菌,它携带的 Ri 质粒能诱发植物细胞大量繁殖,产生大量毛状根;张芹等^[1]、曾端香等^[6]已在枣树、黄芩、牡丹、短叶红豆杉等植物扦插中应用,取得了较高的生根率。但是,关于生根调节剂和发根农杆菌处理对大叶金叶槭扦插生根的影响尚鲜见报道。据此,该研究将利用 IBA、ABT1 和发根农杆菌处理大叶金叶槭嫩枝插条。统计 IBA、ABT1 和发根农杆菌对大叶金叶槭扦插生根的影响,并分析内源激素、营养物质含量等对大叶金叶槭扦插生根的影响,以期今后槭树属植物引种繁殖提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试插条采自 2~3 年生健壮的大叶金叶槭当年生半木质化的新梢。插条长 10~15 cm。切口平削,留 2~3 片全叶,采集的嫩枝为混合样。供试基质为河沙,扦插深度 4~6 cm,株行距为 8 cm×10 cm,扦插时间为 2014 年 7 月中旬。

1.2 试验方法

试验于 2014 年 7 月在河北农业大学试验基地易县西陵林场金叶槭资源圃进行。设①IBA $500\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ (插条基部用 $500\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ IBA 浸泡 1 min)、②ABT1 $500\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ (插条基部用 $500\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ABT1 浸泡 1 min)、③IBA $500\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ +Ag. (插条基部用 $500\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ IBA 浸泡 1 min,再用发根农杆菌浸泡基部 30 min)、④ABT1 $500\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ +Ag. (插条基部用 $500\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ABT1 浸泡 1 min,再用发根农杆菌浸泡基部 30 min)、

第一作者简介:张晓曼(1977-),女,博士,副教授,研究方向为园林植物新品种选育。E-mail:173610925@qq.com.

基金项目:河北省林业厅科学技术研究资助项目(1402450);河北省教育厅重点资助项目(ZD2016132)。

收稿日期:2016-07-25

⑤Ag. (发根农杆菌浸泡基部 30 min)共 5 个处理。以清水处理作为对照(CK)。

1.3 项目测定

采用完全随机区组设计,每个处理 50 根插条,3 次重复。各处理环境条件一致。嫩枝扦插 5 d 后,每隔 1 d 观察 1 次,分别记录愈伤组织出现期、切口愈合期、不定根出现期、生根率、成活苗生根数、成活苗根长。

插条生根期,随机取 10~15 根,取其切口韧皮部,采用高效液相色谱法(HPLC),测定内源激素的含量^[7-8];采用蒽酮比色法测定可溶性总糖含量^[9];采用凯氏定氮法测定全氮含量^[8-9];酚含量测定采用 Folin 试剂法^[10]。

1.4 数据分析

试验数据采用 SPSS 软件进行方差分析,并进行多重比较及相关性分析。

表 1

不同处理对大叶金叶檉嫩枝插条生根影响

Table 1

Rooting condition of green stem of *Tilla mongolica* Maxim after different treatments

处理 Treatment	愈伤组织出现期 Callus appearance/d	切口愈合期 Cut cicatrization/d	生根期 Rooting date/d	生根率 Rooting rate/%	平均生根数 Average root number/条	平均根长 Root length/cm
①IBA 500 mg · kg ⁻¹	9bB	12ab	23b	60.07dC	4.75dC	5.38bB
②ABT1 500 mg · kg ⁻¹	8bB	13b	22b	66.75cB	4.33dC	5.49bB
③IBA 500 mg · kg ⁻¹ + Ag.	9bB	15ab	22b	73.33bA	6.29cB	5.12bB
④ABT1 500 mg · kg ⁻¹ + Ag.	8bB	14ab	22b	75.62aA	7.08bB	5.13bB
⑤Ag.	8bB	17b	25b	63.34cB	6.38cB	5.07bB
CK	12aA	23a	30a	35.61eD	3.33aA	3.11aA

2.2 不同处理对大叶金叶檉插条生根内源激素含量的影响

经过 IBA、ABT1 和发根农杆菌处理的大叶金叶檉嫩枝插条,生根期内插条基部除了 ABA 含量比对照降低外,GA₃ 和 IAA 含量,IAA/ABA 均比对照增加,且差异极显著($P < 0.01$)。以 500 mg · kg⁻¹ ABT1 浸泡 1 min,再用发根农杆菌浸泡基部 30 min 处理生根期 GA₃、IAA 含量和 IAA/ABA 比值最高,分别为 2 165.48、692.88 μg · kg⁻¹ 和 25.09。而 ABA 含量最低为 27.62 μg · kg⁻¹。GA₃ 和 IAA 含量变化趋势与生根率相同。ABA 含量以 500 mg · kg⁻¹ ABT1 浸泡 1 min,再用发根农杆菌浸泡基部 30 min 处理最低,IBA 处理最高。ABA 含量与生根率变化趋势相反。

表 2 不同处理对大叶金叶檉插条生根内源激素含量的影响

Table 2 Effect of different treatments on the contents of endogenous hormones of soft wood cutting during rooting

处理 Treatment	赤霉素 GA ₃ /(μg · kg ⁻¹)	吲哚乙酸 IAA /(μg · kg ⁻¹)	脱落酸 ABA /(μg · kg ⁻¹)	IAA/ABA
①IBA 500 mg · kg ⁻¹	994.59cC	393.88cC	39.65bB	9.93cC
②ABT1 500 mg · kg ⁻¹	1 003.41cC	417.65cC	38.44bB	10.86cC
③IBA 500 mg · kg ⁻¹ + Ag.	2 092.34aA	664.12bB	37.62cC	17.55bB
④ABT1 500 mg · kg ⁻¹ + Ag.	2 165.48aA	692.88aA	27.62cC	25.09aA
⑤Ag.	1 441.75bB	657.84bB	28.14cC	23.38aA
CK	536.91dD	167.15dD	151.28aA	1.10dD

2 结果与分析

2.1 不同处理大叶金叶檉嫩枝插条生根情况比较

由表 1 可知,经 IBA、ABT1 和发根农杆菌处理后,愈伤组织出现期、切口愈合期、生根期分别比对照提前 3~4、6~11、5~8 d,经方差分析和多重比较,5 个处理的插条生根率、平均生根数、平均根长与对照差异极显著($P < 0.01$)。其中,以 500 mg · kg⁻¹ ABT1 浸泡 1 min,再用发根农杆菌浸泡基部 30 min 处理效果显著,生根率为 75.62%,比对照增加了 112.36%,平均生根条数为 7.08 条,比对照增加了 112.61%,平均根长为 5.13 cm,比对照增加了 64.95%。处理之间大叶金叶檉嫩枝扦插成活苗平均根长没有显著差异,综上所述,500 mg · kg⁻¹ ABT1 浸泡 1 min,再用发根农杆菌浸泡基部 30 min 处理大叶金叶檉嫩枝插条的生根效果最好。

2.3 不同处理的插条生根过程中营养物质变化

大叶金叶檉嫩枝经过②、④、⑤处理后,生根过程中可溶性总糖含量的变化如图 1,7 月 20 日至 8 月 3 日可溶性糖总含量呈先上升趋势,8 月 3—31 日呈下降趋势。发根农杆菌浸泡基部 30 min 处理可溶性糖含量与对照各阶段无显著差异。以 500 mg · kg⁻¹ ABT1 浸泡 1 min,再用发根农杆菌浸泡基部 30 min 处理可溶性糖含量最高,这与其生根率最高一致。说明可溶性糖含量与插条生根关系密切。

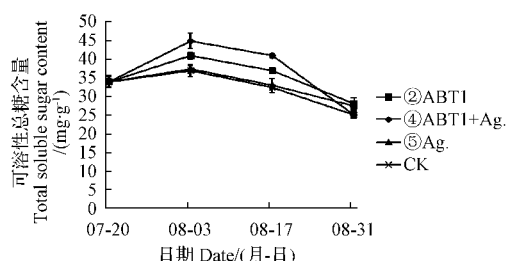


图 1 不同处理大叶金叶檉插条生根过程中可溶性总糖含量的变化

Fig. 1 Variation of total soluble sugar contents during rooting under different treatments

从图 2 可以看出,各处理的全氮含量在不同阶段均高于对照。结合生根情况分析,7 月 20 日至 8 月 3 日在

愈伤组织形成前,全氮含量上升。8月3—17日随着愈伤组织和根的形成,全氮含量下降,变化趋势与总糖含量变化同步。说明插条在生根过程中消耗了一定量的糖和氮类物质。

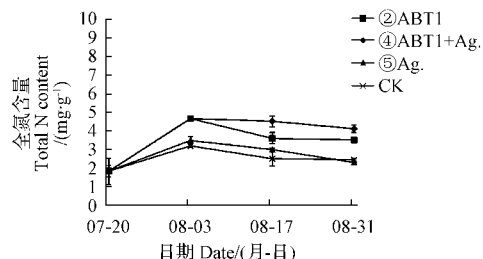


图2 不同处理大叶金叶槭插条生根过程中全氮含量的变化

Fig. 2 Variation of total N content during rooting under different treatments

2.4 不同处理的插条生根过程中酚含量动态变化

由图3可知,大叶金叶槭插条生根过程中,发根农杆菌浸泡基部30 min处理的酚含量在各时期都高于对照。用500 mg·kg⁻¹ ABT1浸泡1 min处理的酚含量与对照相差不大,用500 mg·kg⁻¹ ABT1浸泡1 min,再用发根农杆菌浸泡基部30 min处理的各个时期酚含量最低。结合生根率,大叶金叶槭插条基部用500 mg·kg⁻¹ ABT1浸泡1 min,再用发根农杆菌浸泡基部30 min处理生根率最高,而其酚含量生根过程最低。对照处理的生根率最低,但是其酚含量在生根过程中高于用500 mg·kg⁻¹ ABT1浸泡1 min处理和用500 mg·kg⁻¹ ABT1浸泡1 min,再用发根农杆菌浸泡基部30 min处理。由此得出,大叶金叶槭插条的酚含量与生根率呈负相关。酚是大叶金叶槭插条生根的抑制物。

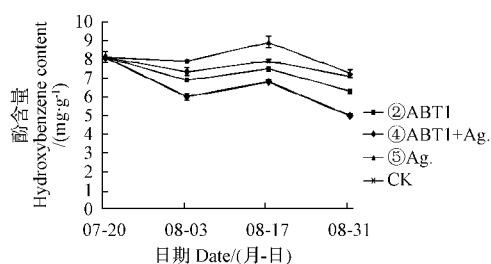


图3 不同处理大叶金叶槭插条生根过程中酚含量的变化

Fig. 3 Variation of hydroxybenzene content during rooting treated of *Tilia mongolica* Maxim

3 结论与讨论

大叶金叶槭为扦插较难生根树种,经过 IBA、ABT1 和发根农杆菌处理后,有效提高了其嫩枝插条生根率。经过处理的大叶金叶槭插条生根过程中,其内源激素、营养物质含量比对照处理发生了显著变化。IAA/ABA 比值与生根率呈正相关。可溶性总糖、氮类物质是槭树扦插生根必需的营养物质,与生根率密切相关,在生根阶段,营养物质含量高则生根率高^[11]。

大叶金叶槭在生根过程中酚含量降低,说明大叶金叶槭在生根过程中消耗了一定量的酚类物质。该研究认为酚类物质含量高会抑制大叶金叶槭生根。但是关于酚类物质在插条生根中的作用,有些学者认为酚是生根辅助因子,另一些学者认为酚是生根抑制剂^[10]。从扦插易生根树种插条中分离出一种物质,被认为是生根辅助因子,经过鉴定,此化合物一半是酚,一半是吲哚^[12]。酚类化合物种类很多,不同种类的酚类物质对大叶金叶槭生根有何影响,还有待深入研究。

参考文献

- [1] 张芹,李保会,荣建国,等. IBA 和发根农杆菌对糠椴嫩枝扦插的影响[J]. 园艺学报,2007,34(1):201-204.
- [2] 付喜玲,郭先锋,康晓飞,等. IBA 对芍药扦插生根的影响及生根过程中相关酶活性的变化[J]. 园艺学报,2009,36(6):849-854.
- [3] 刘峻蓉,罗瑞芳. 不同植物生长调节剂对大叶黄杨扦插生根的影响[J]. 中国农学通报,2008,24(7):340-345.
- [4] 曹兴,张秀省,高祥斌. ABT1 号生根粉对聊红槐硬枝扦插生根的影响[J]. 福建林业科技,2009,36(6):278-281.
- [5] 陈兆凤. ABT1 号生根粉在穗花杉扦插生根试验中的应用[J]. 福建林业科技,2006,1(7):109-202.
- [6] 曾端香,尹伟伦,王玉华,等. 5 个矮生牡丹品种黄化嫩枝扦插技术研究[J]. 园艺学报,2005,32(4):725-728.
- [7] 程水源,王燕. 银杏插穗生根与酶及内源激素的关系[J]. 园艺学报,1996,23(4):407-408.
- [8] 赵云龙,陈训,李朝婵. 糙叶杜鹃扦插生根过程中生理生化分析[J]. 林业科学,2013,15(6):77-79.
- [9] 张志良,瞿伟菁. 植物生理学实验指导[M]. 北京:高等教育出版社,2003.
- [10] 向进乐,李志西,郭香凤,等. Folin-Ciocalteu 比色法测定枳椇果梗多酚含量[J]. 食品科学,2011,14(2):88-92.
- [11] 宋鹏飞,姜燕琴,贺善安,等. 高质量浓度 IBA 和插条木质化程度对兔眼蓝浆果扦插生根的影响[J]. 植物资源与环境学报,2011,20(2):63-66.
- [12] GYANA R R. Effect of auxins on adventitious root development from single nod cuttings of *Camellia sinensis* (L.) Kuntze and associated bio-chemical changes[J]. Plant Biotechnology Division,2006,48:111-117.

Effect of IBA, ABT1 and *Agrobacterium rhizogenes* on Softwood Cutting of *Tilia platyphyllos* Aurea

ZHANG Xiaoman¹, SUN Xiaoguang², LIU Yunqiang¹, ZHANG Qin¹

(1. College of Landscape Architecture and Tourism, Agricultural University of Hebei, Baoding, Hebei 071000; 2. Highway Transportation Bureau of Baoding, Baoding, Hebei 071000)

DOI:10.11937/bfyy.201622025

带叶兜兰非共生萌发试验

陈 尔, 陈宝玲, 杨舒婷, 王华新, 龚建英, 苏莉花

(广西壮族自治区林业科学研究院, 广西 南宁 530002)

摘 要:以带叶兜兰同种异株授粉的果实为试验材料,采用正交实验设计,研究了非共生条件对带叶兜兰种子萌发的影响,以期对带叶兜兰的快速繁殖并最终实现产业化生产提供技术参考。结果表明:基本培养基的种类是带叶兜兰非共生萌发的主要影响因素,初步筛选出种子非共生萌发较适宜培养基为 $1/2MS+1.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} 6\text{-BA}+0.6\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{NAA}+0.75\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1} \text{AC}+2.5\%$ 蔗糖+ 0.46% 琼脂+ $100\text{ mL}\cdot\text{L}^{-1}$ 椰汁;果实的成熟度影响种子萌发所历经的胚龄、原球茎的颜色及其后续发育,果龄过短或过长都不利于种子发育,带叶兜兰离体培养的最佳时间为果龄 180 d。

关键词:带叶兜兰;非共生萌发;果龄;果实成熟度

中图分类号:S 682.31 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)22-0100-04

带叶兜兰(*Paphiopedilum hirsutissimum*)属兰科(Orchid)兜兰属(*Paphiopedilum*)植物,属地生或半附生兰,分布于云南东南部、贵州西南部、广西西北部;印度东北部、老挝、缅甸、泰国北部和越南北部等地^[1],多生于林缘石缝或湿润土壤中^[2]。其花型奇特,叶片带状、飘逸,可花叶共赏。然而,由于人为过度采挖,其野生资源正在逐渐减少,开展人工无菌播种繁殖是保护和开发其资源的一个有效途径。

第一作者简介:陈尔(1978-),女,广西陆川人,硕士,高级工程师,现主要从事园林花卉等研究工作。E-mail:chenr@sina.cn.

责任作者:王华新(1969-),男,陕西周至人,博士,高级工程师,现主要从事园林花卉等研究工作。E-mail:wanghuaxin@163.com.

基金项目:广西自然科学基金资助项目(2015GXNSFB139053);广西林业科技资助项目(桂林科研[2015]第39号)。

收稿日期:2016-08-04

与其它的兰科植物一样,带叶兜兰种子的胚发育不全,缺少胚乳,在自然界中难以自主萌发,需要与特定的真菌形成共生关系才能成功萌发。关于带叶兜兰非共生萌发试验的研究并不多,曾宋君等^[3]、尤佳妍^[4]对带叶兜兰种子无菌萌发进行了培养基筛选试验。该研究采用正交实验探讨带叶兜兰种子萌发的影响因素,并对不同龄期蒴果的种子萌发进行比较,旨在为带叶兜兰的快速繁殖并最终实现产业化生产提供技术参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试果实来自广西林科院园林花卉研究所温室大棚内引种驯化的野生带叶兜兰植株。于2013、2014年3月底4月初在植株开花期进行同种异株人工授粉,根据试验设计方案分别采收果龄120、150、180、210、240 d

Abstract: The influence of IBA, ABT1 and *Agrobacterium rhizogenes* on the softwood cutting of *Tilia platyphyllos* Aurea was studied during rooting while the mechanism of their effects on the rooting was discussed. The results showed that the rooting rate, average root number, root length were significantly increased ($P < 0.01$) and the rooting time decreased after treatment with IBA, ABT1 and *Agrobacterium rhizogenes*. IBA, ABT1 and *Agrobacterium rhizogenes* also increased significantly the contents of GA_3 , IAA and the ration of IAA/ABA ($P < 0.01$), the variation of soluble sugars and total N contents were the same, the contents of soluble sugars and total N rised firstly and fell lastly, no significant difference. The contents of ABA and hydroxybenzene reduced during the rooting period, and promoted remarkably rooting of softwood cutting. It showed that the treatment with $500\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ABT1 and *Agrobacterium rhizogenes* was the best. The rooting percentage, quantity of root and root length of the cutting after treatment with ABT1+*Agrobacterium rhizogenes* increased by 112.36%, 112.61% and 64.95%, while the rooting period was shortened by eight days compared with control.

Keywords: *Tilia platyphyllos* Aurea; softwood cutting; *Agrobacterium rhizogenes*; endogenous hormone; nutritive material; hydroxybenzene content