

红豆杉无性繁殖关键技术研究*

付秀琴

(成都农业科技职业学院, 成都 611130)

摘要: 红豆杉(*Taxus wallichiana* var. *chinensis*)属于国家珍稀濒危保护植物,野生资源保护压力巨大,同时又具有园林绿化和药用价值,市场开发前景广阔,研究红豆杉扦插等快速繁育技术是当前该物种保护和利用的关键任务之一。本研究采用小区试验方法,从扦插季节选择、插穗长度、生根剂使用方法、扦插床基质等方面对红豆杉扦插技术进行了研究,筛选出了适宜的红豆杉扦插枝条顺利生根存活的关键环节:在3月份插枝条尚未萌动前,以珍珠岩为扦插基质、将中国红豆杉剪成长度为5~10 cm的扦插枝条,用3 000 mg·kg⁻¹的吲哚丁酸(IBA)浸泡插条处理。上述处理能够保障扦插枝条的愈伤组织形成率、须根数、根长度和根粗壮程度方面具有一定的优势,可以在生产实践上进行参考。

关键词: 红豆杉;扦插;生根;愈伤组织;保护生物学

中图分类号: Q949.95;Q945.51

文献标志码: A

文章编号: 1672-6693(2014)04-0150-05

红豆杉属(*Taxus*)植物为常绿乔木或灌木,是第四纪冰川遗留下来的古老树种,野生种群稀少,属于濒临灭绝的珍稀物种。红豆杉属树种不仅是园林庭院绿化的优良树种,而且可在植株中提取抗癌药物紫杉醇,因而野生红豆杉资源保护面临巨大的压力。因此,通过人工繁育手段扩大种群数量是该类群物种资源保护和可持续利用的关键^[1-2]。红豆杉属植物种子结实量少、发芽率低,依赖于种子进行人工规模化繁殖具有诸多困难,采用枝条扦插是扩大人工栽培种群的一条便捷途径^[3-4]。在中国分布的红豆杉属3个种2个变种当中^[5],南方红豆杉(*Taxus chinensis* var. *mairei*)、须弥红豆杉(*Taxus wallichiana* var. *wallichiana*)和东北红豆杉(*Taxus cuspidata*)都进行过人工扦插试验并获得了成功^[6-9]。但也普遍存在着扦插枝条发芽率相对较低,对野生枝条消耗过多、不利于资源保护等制约因素,在实践上大范围推广尚有一定难度^[10]。从已有的研究资料来看,插穗来源、扦插基质、激素种类与处理方法是影响红豆杉扦插成败的关键环节^[11-13],曼地亚红豆杉(*Taxus media*)嫩枝扦插的成活率比硬枝扦插的成活率高22.0%~58.7%^[14];张艳华等人^[15]采用不同植物生长素对东北红豆杉插穗生根试验结果显示,经2,4-D处理的插穗生根效果最佳,扦插后形成半透明瘤状突起物的插穗高达80%以上,但也发现植物激素对红豆杉扦插苗生根作用效果可能会受扦插基质、激素类型、插穗类型的影响。因此,红豆杉属种类的扦插技术仍需针对不同物种或变种进行不断探索和优化^[16]。红豆杉(*Taxus wallichiana* var. *chinensis*)分布较广,资源储量大、扦插枝条取材丰富,扦插苗适宜栽培的区域范围也广泛。但该树种枝条的再生能力相对较弱,扦插枝条愈伤组织形成比较困难、生根和存活率不高,针对该物种的人工繁育还存在一些技术问题需要突破。本研究从扦插时间选择、扦插枝条长度、生根剂使用方法、扦插床基质等方面针对红豆杉人工繁殖的关键技术进行了试验研究,以期为提高红豆杉枝条扦插存活率、优化人工繁育技术提供科学参考,为缓解野生红豆杉资源保护压力提供必要的解决途径。

1 试验地概况

研究地点位于四川茂县风仪镇,地理坐标为31°41'07"N、103°53'58"E,海拔高度1 800 m。该区域属温暖带大陆性干旱季风气候区,年降雨量945.3 mm,10℃以上积温2 636.1℃。土壤主要为棕壤和山地褐土,以次生植被为主,主要树种有油松(*Pinus tabulaeformis*)、华山松(*P. armandii*)等。

* 收稿日期:2013-05-05 修回日期:2013-08-19 网络出版时间:2014-7-3 23:03
资助项目:四川省科技厅项目(No. 2011HH0011)
作者简介:付秀琴,女,副教授,研究方向为植物栽培,E-mail: fuxiuqin2013@sohu.com
网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/50.1165.N.20140703.2303.030.html>

2 试验材料与方法

2.1 试验处理

本试验分不同时间、扦插苗长度、生根剂浓度、插床基质类型等4个方面进行小区试验,扦插在大棚内进行,扦插床面积为 10 m^2 ,密度为 $400\text{ 株}\cdot\text{m}^{-2}$ 。扦插后定期抽样测定扦插枝条愈伤组织形成率、发根率、根数和根系长度,每次观察扦插苗为50株。穗长处理试验的测定时间为扦插后100 d和165 d,其余为扦插后60 d测定。各处理的具体操作如下:

1)不同时间扦插对生根发芽的影响。分别在3月、8月进行扦插实验,以茂县永和乡海拔1900 m的同一株野生红豆杉为母株,剪取粗细基本一致、健壮且已木质化的一年生枝条作为扦插穗,插穗长度为10 cm。每个处理设置个2重复,扦插床的基质为珍珠岩。

2)不同插穗长度对生根发芽的影响。选取健康无病的天然植株作为采穗母树,分别设置长穗(15 cm)、中穗(10 cm)、短穗(5 cm)、超短穗(3 cm)等4个处理。

3)扦插生根剂剂量对生根发芽的影响。采用吲哚丁酸(IBA)作为插穗的生根剂,在扦插前浸泡红豆杉插穗(长度为10 cm),生根剂剂量梯度分别设定为1 000、2 000、3 000 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。

4)不同类型扦插床基质类型对生根发芽的影响。选择通风、透光、排水良好的地方修建扦插床,采用河沙、珍珠岩、油松林下腐殖质土等3种不同类型的材料作为扦插基质,基质的厚度为20 cm,每个处理重复2次,扦插床面积为 10 m^2 。

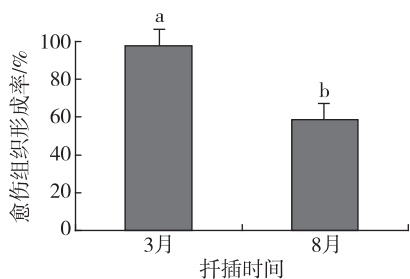
2.2 数据处理

所有数据均采用“平均值±标准差”形式表示,运用SPSS 16.0软件单因素方差分析(One-way ANOVA)和最小显著差异法(LSD)比较不同处理水平下扦插枝条的发芽率的差异,且界定 $p<0.05$ 为显著水平。

3 结果与分析

3.1 不同时间扦插对生根发芽的影响

图1~图4是分别于3月和8月份进行扦插的红豆杉根系的生长情况比较。可以看出3月份扦插的红豆杉枝条愈伤组织形成率、须根数、根长度、根的粗壮程度都显著优于8月份的扦插枝条($p<0.05$)。这可能与不同季节扦插枝条体内自身营养状况有关:3月份扦插枝条尚未萌动,正处于休眠状态,组织代谢活动比较微弱,此时扦插有利于愈伤组织的形成,进而促进根系的萌发和生长;此外3月份气温较低从而扦插枝条切口在形成愈伤组织时不容易感染有害细菌也可能是有利于根系形成的一个重要原因。



注:图中柱上方的字母表示不同处理组间的显著性检验结果,字母不同表示差异显著($p<0.05$),下同。

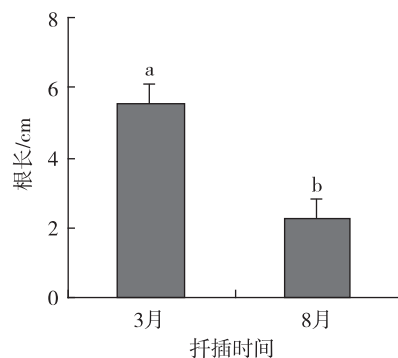
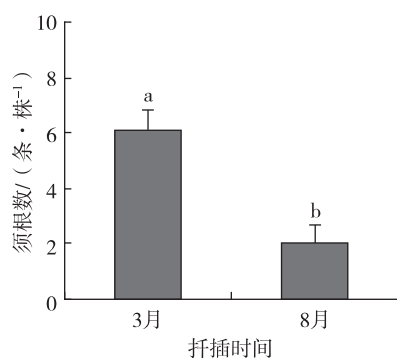


图1 扦插时间对红豆杉愈伤组织形成的影响 图2 扦插时间对单株须根数量的影响 图3 不同扦插时间红豆杉根长度的比较

3.2 不同扦插苗长度对生根发芽的影响

图5和图6是分别采用3、5、10、15 cm等4个不同的插穗长度处理在100 d和165 d后的生根情况。从生产的角度看,扦插枝条的长度是影响生产成本,提高无性繁殖效益的主要因素之一。一般要求在保证扦插存活率的前提下,尽量缩短扦插枝条的长度,这样可以使数量较少的优良采穗母树繁殖更大面积和数量的栽培苗木。本研究结果显示,当穗长为5 cm时,在100 d后生根率就已经达到85%,在4种扦插长度处理中是最高的(图5)。扦插处理第165 d后,所有插条几乎全部已经生根,5、10、15 cm等3种插穗长度处理的生根率都在95%以

上,差异不显著(图 6),但一方面由于生根的整齐性要差一些,同时由于穗长过长会成倍增加繁殖枝条的数量,所以原则上应该选择 5 cm 作为红豆杉扦插适宜的扦插穗长度。

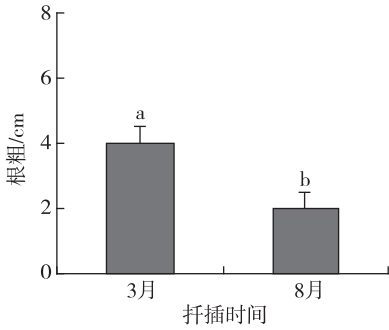


图 4 扦插时间红豆杉根粗的比较

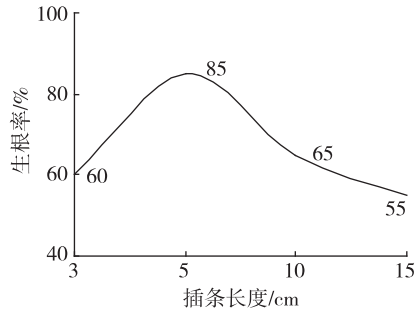


图 5 不同扦插苗长度 100 d 左右的生根情况

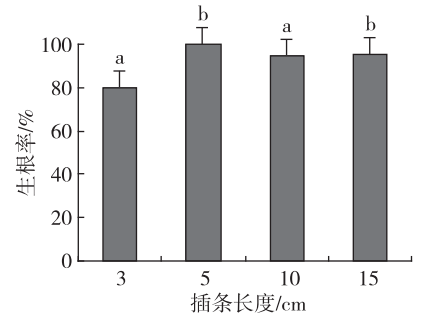


图 6 不同扦插苗长度 165 d 后生根率

从须根的数量和根系的长度来看,100 d 后,穗长 5 cm 的处理组须根数量最多,穗长 10 cm 处理组次之,穗长 3 cm 的处理组最差;穗长 5 cm 和穗长 10 cm 处理组明显优于穗长 3 cm 和穗长 15 cm 处理组($p < 0.05$, 表 1)。根系的生长长度也有类似的规律:穗长 5 cm 组 > 穗长 3 cm 组 > 穗长为 15 cm 组 > 穗长为 10 cm 组。在扦插后 165 d,除了穗长为 10 cm 组的须根数量和根系长度稍有优势外,其余各组相差不是十分明显(表 1)。综合比较红豆杉扦插枝条的生根率、根系长度、须根数量等指标,可以认为 5~10 cm 的插穗长度是比较适宜的插条长度。

3.3 扦插生根剂剂量对生根发芽的影响

不同剂量 IBA 处理红豆杉扦插枝条 125 d 后,统计结果显示,3 000 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量处理的枝条生根率最高,并显著高于另外两个浓度处理组($p < 0.05$);3 000 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量处理的根系长度分别是 2 000、1 000 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量处理的根系长度的 1.64、4.09 倍,平均每个枝条萌发的须根数分别是 2 000、1 000 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 剂量处理的须根数的 1.78 和 3.98 倍(表 2)。因此,该结果表明 IBA 处理剂量以 3 000 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 较为理想。

表 1 不同穗长对扦插生根影响的比较

处理时间/d	指标	插条长度/cm			
		3	5	10	15
100	须根数量/(根·株 ⁻¹)	2.39 ^b	4.88 ^a	4.51 ^a	2.91 ^b
	根系长度/cm	3.33 ^{a,b}	3.91 ^a	2.78 ^b	2.8 ^b
165	须根数量/(根·株 ⁻¹)	6.87 ^b	6.2 ^b	10.84 ^a	7.1 ^b
	根系长度/cm	5.48 ^{a,b}	4.77 ^b	6.53 ^a	4.96 ^b

表 2 不同剂量 IBA 处理度对扦插生根影响的比较

指标	剂量/($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)		
	1 000	2 000	3 000
生根率/%	60 ^a	60 ^a	95 ^b
须根数量/条	5.17 ^a	11.58 ^b	20.58 ^c
根系长度/cm	0.9 ^a	2.25 ^b	3.68 ^c

4.4 扦插床基质类型对生根发芽的影响

基质类型处理对红豆杉扦插穗生根影响明显。试验结果显示,在春季扦插 60 d 以后,采用珍珠岩作为基质的试验组,枝条的生根率在 47.64%~49.87% 之间;以河沙为基质的试验组,枝条的生根率在 15.11%~19.19% 之间;以林下腐殖质土为基质的试验组,枝条的生根率仅为 1.93%~2.37%。随着扦插时间的增加,生根率会逐渐增加;90 d 后河沙、林下腐殖质土、珍珠岩等 3 种基质类型处理组的红豆杉枝条愈伤组织形成率分别为 17.81%、47.85%、91.34%,其中珍珠岩对红豆杉扦插穗生根影响显著优于另外两种基质($p < 0.05$,图 7)。

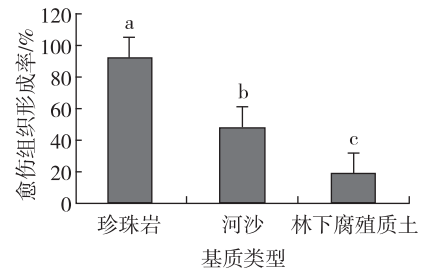


图 7 不同扦插基质类型对愈伤组织形成率的影响

4 讨论与结论

扦插穗的年龄、插穗长度、生根剂类型,以及扦插床基质是决定红豆杉插穗存活率的几个重要因素。一般来说红豆杉扦插穗的木质化程度对扦插存活率的影响比较大,一、二年生的枝条木质化程度比较适中,容易形成愈伤组织,有利于根系的萌发和生长^[12,14],本研究中 3 月份扦插的愈伤组织形成率和须根数量都比 8 月份扦插的高,这可能是因为插穗经过了一个冬季锻炼,组织处于休眠后刚开始萌发的时间段,而 8 月份枝条中用于形成愈

伤组织的可利用的营养物质含量不及早春充足,这方面的内在机理有待深入探究。插穗长度在早期(100 d前)中、短穗(5 cm和3 cm)生根率较高,这可能是因为扦插初期维持插穗蒸腾等水分需求的缘故,短穗消耗的可溶性糖等相对较少。插穗过长会导致顶端干枯坏死等现象,经过一段时间的适应以后,不同扦插长度的生根率趋于稳定,这与前人的研究有相似^[4,7,17]。基质是插穗生根的场地,必须保证发根所需温、湿度和通气性。前期的研究显示,红豆杉扦插发根对基质通透性和保水性要求较高^[18]。目前腐殖质土、河沙和珍珠岩都有应用^[6,8],主要是这几种材质都比较易于疏干水分,增加通透性。本研究结果显示,在3种基质中,珍珠岩是生根效果最好。这可能是因为珍珠岩是铝硅天然化合物,经过1 000 °C以上高温煅烧而成的膨化制品,具有封闭的多孔性封闭,化学结构稳定,具有良好的保温,隔热、通气、无菌、无毒、排水、保肥等性能^[6]。

通过本研究可得出以下结论:红豆杉可以通过野生成年红豆杉的一、二年生枝条进行扦插。根据对不同处理条件下扦插枝条的生根率、根系长度、须根数量等指标的综合比较,本研究认为适宜的扦插条件为:以珍珠岩为扦插基质,将红豆杉剪成长度为5~10 cm的插穗、用3 000 mg·kg⁻¹的IBA浸泡插条。上述条件是保障红豆杉扦插顺利生根存活的几个关键环节。在扦插时机的把握上,应选择春季红豆杉扦插枝条萌动前(南方地区在3月份左右)开始扦插,同时建议在扦插后加强扦插床温度、水分、光照等环境的调控与日常管护。

参考文献:

- [1] 包维楷,陈庆恒.中国的红豆杉资源及其开发研究现状与发展对策[J].自然资源学报,1998,13(4):375-379.
Bao W K, Chen Q H. Present status, problems, and further development strategies on natural *Taxus* resource and their exploitation in China[J]. Journal of Natural Resources, 1998, 13(4): 375-379.
- [2] 谢吉容.南方红豆杉(*Taxus chinensis* var. *mairei*)叶片膜保护系统与温度的关系[J].四川师范大学学报:自然科学版,2002,25(2):194-197.
Xie J R. The relation between the membrane protective system of (*Taxus chinensis* var. *mairei*) leaves and temperature[J]. Journal of Sichuan Normal University: Natural Science, 2002, 25(2): 194-197.
- [3] 杨惠芳,黎荔,刘忠杰.滇西北亚高山地区云南红豆杉扦插育苗技术[J].林业调查规划,2007,32(3):164-165.
Yang H F, Li L, Liu Z J. Cuttage seedling-raising skills of *Taxus yunnanensis* in sub-mountain area of Northwestern Yunnan[J]. Forest Inventory and Planning, 2007, 32(3): 164-165.
- [4] Wang S J, Yuan L N, Liu L L, et al. Study on rooting agents used in micro-cutting of *Taxus cuspidata* [C]//World automation congress (WAC), 2012. Puerto Vallarta, Mexico: [s. n.], 2012.
- [5] Fu L G, Li N, Mill R R. Taxaceae[M]//Wu Z Y, Raven P H. Flora of China. Vol. 4 (Cycadaceae through Fagaceae). Beijing: Science Press, 1999: 89-96.
- [6] 陈辉,刘玉宝,陈福甫.南方红豆杉扦插基质配方优化的研究[J].福建林学院学报,1999,19(4):292-295.
Chen H, Liu Y B, Chen F P. A study on optimized cutting medium ingredient for *Taxus chinensis* var. *mairei* [J]. Journal of Fujian College of Forestry, 1999, 19(4): 292-295.
- [7] 王建军,周丹,宋小英.影响曼地亚红豆杉扦插成活率的因素分析[J].浙江林学院学报,2004,21(3):357-360.
Wang J J, Zhou D, Song X Y. Analysis on factors influencing living-rate of *Taxus media* [J]. Journal of Zhejiang Forestry College, 2004, 21(3): 357-360.
- [8] 傅瑞树,黄琦,胡宗庆.南方红豆杉扦插繁殖技术研究-I. 基质、季节与生物措施对扦插繁殖的影响[J].中国生态农业学报,2005,13(2):37-38.
Fu R S, Huang Q, Hu Z Q. Studies on the cutting propagation of *Taxus chinensis* var. *mairei*-I. Effects of medium, season and biological measures on the cutting propagation[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2005, 13(2): 37-38.
- [9] 殷勇.曼地亚红豆杉扦插育苗成活率对比研究[J].安徽农业科学,2008,36(22):9487,9491.
Yin Y. Contrast study on the survival rate of the cuttings of *Taxus media* [J]. Journal of Anhui Agriculture Science, 2008, 36(22): 9487, 9491.
- [10] 毛庆家,费永俊.南方红豆杉扦插繁殖研究进展[J].长江大学学报:自然科学版,2008,5(1):27-30.
Mao J Q, Fei Y J. Research progress on cutting propagation of *Taxus chinensis* var. *mairei* [J]. Journal of Yangtze University: Natural Science Edition, 2008, 5(1): 27-30.
- [11] Holloway L, Krasowski M, Smith R F, et al. Enhancing the rooting of Canada yew stem cutting with IBA treatments[J]. Propagation of Ornamental Plants, 2008, 8(1): 23-27.
- [12] Munoz-Gutierrez L, Vargas-Hernandez J, Lopez-Upton J, et al. Effect of cutting age and substrate temperature on rooting of *Taxus globosa* [J]. New Forests, 2009, 38(2): 187-196.
- [13] 李燕.濒危植物南方红豆杉扦插繁殖技术研究综述[J].山西水土保持科技,2012(2):3-5.
Li Y. Review on research of cutting propagation of endan-

- gered plant *Taxus chinensis* var. *mairei*[J]. Soil and Water Conservation Science and Technology in Shanxi, 2012 (2):3-5.
- [14] 王初田,金久宏. 曼地亚红豆杉硬、嫩枝扦插效果初探[J]. 中国林副特产, 2013, 122(1):30-31.
Wang Y T, Jin J H. Effect of hard softwood cuttings of *Taxus media* [J]. Forest By-Product and Speciality in China, 2013, 122(1):30-31.
- [15] 张艳华,刘艳. 植物生长素对东北红豆杉嫩枝扦插生根的影响[J]. 吉林林业科技, 2010, 39(4):14-15.
Zhang Y H, Liu Y. Impact of plant growth hormone on rooting of softwood cuttings of *Taxus cuspidate* [J]. Journal of Jilin Forest Science and Technology, 2010, 39(4):14-15.
- [16] 袁瑞玲,杨文忠. 不同育苗基质对须弥红豆杉移栽后生长的影响[J]. 东北林业大学学报, 2012, 40(1):16-19.
Yuan R N, Yang W Z. Effects of different nursery substrates on the growth of transplanted *Taxus wallichiana* [J]. Journal of Northeast Forestry University, 2012, 40(1):16-19.
- [17] Kiran K. Variation in rooting behavior of stem cuttings in relation to their origin in *Taxus wallichiana* Zucc [J]. New Forests, 2008, 37(3):217-224.
- [18] Mitchell A K. Propagation and growth of Pacific yew (*Taxus brevifolia* Nutt) cuttings[J]. Northwest Science, 1997, 71(1):56-63.

Study on the Critical Techniques of Vegetative Propagation for Chinese Yew

FU Xiuqin

(Chengdu Vocational College of Agricultural Science and Technology, Chengdu 611130, China)

Abstract: The Chinese yew (*Taxus wallichiana* var. *chinensis*) is one of the trees that are listed as national rare and endangered plants. With limited wild resources and shrinking natural population size, it is a great challenge to implement conservation of these tree species without artificial facilitated propagation techniques. Being a garden plant with both medicinal and ornamental importance, to propagate the plants rapidly from vegetative organs, such as, cutting is a promising way to safeguard the sustainable protection and utilization of the *Taxus* resources and has broad marketing prospects as well. In order to find a combination of treatments that is suitable for the propagation of Chinese yew from cutting, we conducted a serial of field plot experiments, which included the selection of cutting applying seasons, lengths of cutting, agents of rooting promotion, and media of cutting beds. The results showed that higher rate of callus formation, maximum amount of roots, longer and vigorous roots could be obtained with the treatments of culturing the cutting in March before the sprouting of shoots, using the perlites as medium of cutting beds, 5~10 cm of the cutting length, and pre-treating the cuttings by soaking in IBA solution with concentration of 3 000 mg · kg⁻¹. Hence we conclude that by application of the combination of these treatments when making vegetative propagation of Chinese yew in mass production will result in more high quality seedlings.

Key words: *Taxus wallichiana* var. *chinensis*; cutting; rooting; callus; conservation biology

(责任编辑 方 兴)