

## 绿桐增殖、生根培养及炼苗移栽研究\*

张红岩<sup>1,2</sup>, 莫勇生<sup>1</sup>, 欧娜<sup>1</sup>, 谢唯<sup>1</sup>, 申乃坤<sup>2\*\*</sup>

(1. 广西科学院生物研究所, 广西南宁 530007; 2. 广西民族大学海洋与生物技术学院, 广西南宁 530006)

**摘要:**本研究旨在建立适于绿桐(*Paulownia fortunei* × *Paulownia tomentosa*)的快速无性繁殖技术,为试管苗工厂化生产提供技术参考。实验以绿桐当年生枝条为外植体,对消毒方式、取材部位、植物生长调节剂及其浓度配比条件进行优化,筛选合适的诱导、增殖和生根培养基。实验结果表明,最佳消毒方式为依次采用75%乙醇、等体积的10%次氯酸钠与0.1%升汞混合液、0.1%升汞消毒;当年生嫩条顶端10 cm长度的茎段为最佳外植体;外植体在MS+1.0 mg/L 6-苄氨基嘌呤(6-BA)+1.0 mg/L 2,4-对氯苯氧乙酸(2,4-D)+0.8 mg/L 赤霉素(GA<sub>3</sub>)的培养基中,能诱导出长势健壮的不定芽;在MS+0.8 mg/L 6-BA+0.4 mg/L 萘乙酸(NAA)的增殖培养基中,增殖系数达2.02;而生根以1/2 MS+0.6 mg/L 吲哚-3-丁酸(IBA)+0.4 mg/L NAA培养基为最佳,生根率达100%;对组培苗进行炼苗后覆膜保湿,移栽存活率可达92%。本研究获得了适合绿桐快速繁殖的培养基,建立了一套绿桐快速繁殖体系。

**关键词:**绿桐 无性繁殖 组织培养 外植体 不定芽

中图分类号: X123 文献标识码: A 文章编号: 1002-7378(2020)04-0411-08

DOI: 10.13657/j.cnki.gxkxyxb.20210121.001

### 0 引言

绿桐(*Paulownia fortunei* × *Paulownia tomentosa*)也叫青桐,是玄参科泡桐属(*Paulownia*)植物,因树皮呈绿色而得名,是由白花泡桐 *Paulownia fortunei* 与毛泡桐 *Paulownia tomentosa* 通过杂交培育出来的泡桐新品种。绿桐具有适应性强、生长迅速、成材量大、木材物理性能好、可高密度种植等优点<sup>[1-4]</sup>,故其幼苗的市场需求量极大。由于绿桐种子

较小且发芽率低,因此目前主要采用埋根或埋条等无性繁殖方式来获得绿桐幼苗。但是,绿桐无性繁殖速度慢且需要较大的人力及占地面积,导致在短期内难以获得大量优质苗木。另外,在无性繁殖过程中易造成苗木体内病毒的“累积”效应,致使丛枝病(通过种根和种苗传播)逐代加重,严重影响绿桐的生长速度和成材率。通过组织培养技术快速获得大量的绿桐组培苗,可以解决当前在种植区苗木带菌率高、病害随繁殖材料传播蔓延等问题,满足当前市场需求。有

\* 广西科学院基本业务费项目(2017YJJ23016)资助。

#### 【作者简介】

张红岩(1980—),女,高级工程师,主要从事植物组织培养及转基因方面的研究。

#### 【\*\*通信作者】

申乃坤(1980—),男,教授,硕士生导师,主要从事微生物资源开发及亚热带经济植物组织培养等研究, E-mail: shennaik05@126.com。

#### 【引用本文】

张红岩,莫勇生,欧娜,等. 绿桐增殖、生根培养及炼苗移栽研究[J]. 广西科学院学报, 2020, 36(4): 411-418.

ZHANG H Y, MO Y S, OU N, et al. Study on Multiplication, Rooting and Transplanting of Tissue Culture Plantlets of *Paulownia fortunei* × *Paulownia tomentosa* [J]. Journal of Guangxi Academy of Sciences, 2020, 36(4): 411-418.

关泡桐属其他树种的组织培养研究较多,如范国强等对白花泡桐的愈伤诱导<sup>[5]</sup>及体细胞胚诱导<sup>[6-8]</sup>等组织培养技术进行研究,认为泡桐最适诱导愈伤组织培养基为 MS+0.1 mg/L 萘乙酸(NAA)+14 mg/L 6-苄氨基嘌呤(6-BA);幼芽生根最优培养基为 1/2 MS+0.1 mg/L NAA。刘飞等<sup>[9]</sup>对组培苗离体开花体系进行了研究。孔德广等<sup>[10]</sup>采取温度处理组培苗后结合茎尖培养脱去植物菌原体的脱毒方法,既能保证种苗无病,又能保持泡桐原来的优良特性。田国忠等以泡桐成年树上茎段为外植体,获取再生植株,并结合茎尖培养方法进行脱毒试验<sup>[11]</sup>,同时还对泡桐组培脱毒苗和规模化生产关键技术进行优化和完善<sup>[12,13]</sup>,结果表明使用 0.1% 升汞(HgCl<sub>2</sub>)对外植体进行消毒(茎尖消毒 7-8 min,茎段消毒 10-12 min),消毒效果较好,且对外植体伤害较小,萌发较快,易获得无菌苗;春季营养杯苗移栽适宜时间为 3 月中旬至 5 月初,秋季移栽时间为 8 月下旬至 10 月上旬。杨晨星等<sup>[14]</sup>对大岩桐外植体消毒进行研究,结果显示 10% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 消毒处理,外植体污染和褐化率较高;消毒效果较好的 2 个组合为 75% 乙醇 30 s+0.1% HgCl<sub>2</sub> 消毒 10 min 和 75% 乙醇 30 s+5% NaClO 消毒 10 min,该研究为其他类似植物外植体消毒提供参考。江香梅等<sup>[15]</sup>以“桐优 1”等 3 个泡桐品种的叶片、茎段、根萌条为外植体材料进行诱导试验,结果发现根萌条是建立泡桐无菌体系的理想材料。苏江等<sup>[16]</sup>建立白花泡桐的组织培养技术,认为最佳培养基如下:初代诱导培养基为 MS+2.0 mg/L 6-BA+0.2 mg/L IBA,芽诱导率超 70%;继代增殖培养基为 MS+4.0 mg/L 6-BA+0.4 mg/L IBA 和 MS+0.4 mg/L 6-BA+0.04 mg/L IBA 中交替培养,增殖系数可达 6.0 以上,且芽长势健壮,外植体发生玻璃化的概率小于 5%;生根培养基为 1/2 MS+0.2 mg/L NAA,生根率达 98% 以上。这些研究为泡桐的快速扩大繁殖奠定了良好技术基础,为绿桐的组织培养提供了丰富的理论参考。但由于植物组织培养存在种属特异性,不同种属之间差别很大<sup>[17]</sup>,因此不同泡桐优良单株的最优组培脱毒技术和方法也不尽相同<sup>[18]</sup>。另外,幼苗从生根到室外移栽成活率极低,因此需要对绿桐组织培养技术进一步研究。目前有关绿桐组织培养的研究还鲜有报道,加之市场上绿桐组培苗供应量小,价格奇高(每株高达几十元),完全满足不了市场需求。因此,本研究拟建立绿桐快繁技术体系,通过对外植体消毒方式、不定

芽诱导及增殖继代、组培苗生根及室外移栽等因素进行系统性研究,为工厂化生产绿桐组培苗提供技术参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

供试材料绿桐 1 号由广西瑞谱生物科技有限公司提供,选取当年生嫩枝或从大树旁长出的嫩枝作为外植体,取材期为 2018 年 4 月。所用琼脂,蔗糖,MS 培养基所需的微量元素、大量元素,有机物试剂,以及植物生长调节剂如 6-苄氨基嘌呤(6-BA)、赤霉素(GA<sub>3</sub>)、2,4-对氯苯氧乙酸(2,4-D)、萘乙酸(NAA)、吲哚-3-丁酸(IBA)均为国产分析纯。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 外植体消毒

选取健壮的速生绿桐当年生枝条。截取前端 30 cm 左右,剪去叶片,保留叶柄 2-3 cm,修整后的枝条置于加有 2 滴洗洁精的水中浸泡 5 min;流水冲洗 20 min,转入超净台,剪成长 4-5 cm 且带有一个或者 2 个叶柄的小段,用 75% 酒精浸泡 30 s。然后分成 3 等份分别进行以下处理:(1)0.1% 升汞浸泡 8 min;(2)10% 次氯酸钠和 0.1% 升汞等体积混合,浸泡 8 min;(3)10% 次氯酸钠和 0.1% 升汞等体积混合消毒处理 5 min,无菌水冲洗 1 次,然后用 0.1% 升汞消毒 3 min。最后分别用无菌水冲洗 3 次后待用。每个处理 10 瓶,每瓶接种 10 个外植体,外植体得率(%)=无污染外植体数/外植体总数×100%。

#### 1.2.2 植物生长调节剂及其用量对腋芽萌发的影响

将消毒外植体(茎段)两端各斜切小部分并除去叶柄,然后接种于含有不同浓度 6-BA (0.8, 1.0, 1.2 mg/L)、GA<sub>3</sub> (0, 0.8 mg/L) 和 2,4-D (0.5, 1.0 mg/L) 的 MS 培养基中诱导腋芽,每个处理 3 个重复,每个重复接种外植体 50 个。培养过程中统计污染率,培养 30 d 后统计腋芽诱导率。诱导率(%)=萌发腋芽数/接种茎段数×100%。

#### 1.2.3 植物生长调节剂及其用量对不定芽增殖的影响

初代培养诱导出的不定芽离体后,分别接种于含有不同浓度的 6-BA (0.6, 0.8, 1.0, 1.2 mg/L) 和 NAA (0, 0.2, 0.4 mg/L) 的 MS 增殖培养基上,每个处理 3 个重复,每个重复接种不定芽 60 个。培养 30 d 后统计不定芽的增殖系数,期间定期观察不定芽的长势。

#### 1.2.4 植物生长调节剂及其用量对不定芽生根的影响

剪取继代增殖培养中长势较好、株高 3 cm 以上的不定芽, 分别接种于含不同浓度的 IBA (0.4, 0.6, 0.8, 1.0 mg · L<sup>-1</sup>) 和 NAA (0.2, 0.4, 0.6 mg/L) 的 1/2 MS 生根培养基中, 每个处理 3 个重复, 每个重复接种不定芽 50 个, 每个组培瓶接种不定芽 5 个。培养 15 d 后, 统计平均根长、根数、生根率及芽生长情况。生根率(%) = 生根的不定芽数/接种的总芽数 × 100%。

上述培养基均添加 30 g/L 蔗糖, 4.5 g/L 琼脂粉, 调整 pH 值为 5.8。培养室温度为 26—28℃, 光强为 2 200 lx, 光照周期为 12 h/d。

#### 1.2.5 组培苗室外移栽

组培苗生根培养约 30 d 后, 选择株高 8—10 cm, 根长约 3 cm 且根系发育良好的绿桐无菌苗, 将根部培养基清洗干净, 清洗时应避免根部断裂或受伤, 然后移栽至无菌营养土中。采取以下移栽方式移栽: ①直接移栽——将组培移栽至无直射光照室内培养 7 d, 然后室外正常自然光照; ②先炼苗后再移栽——将组培苗在自然通风及光照条件下的实验室炼苗 7

d, 然后移栽并进行覆膜保湿 7 d, 转入室外正常自然光照; ③不炼苗, 移苗后覆膜——组培苗移苗后覆膜保湿 7 d, 室外正常自然光照。35 d 后统计各个处理的移栽成活率。

## 2 结果与分析

### 2.1 消毒方法对绿桐外植体污染及腋芽萌发的影响

消毒处理方式及消毒时间对外植体污染及腋芽萌发有显著影响: 消毒剂毒性过大或消毒时间过长, 腋芽萌发慢甚至不萌发; 消毒剂毒性过小或时间过短, 外植体灭菌不彻底, 污染率过高。

从表 1 可以看出, 不同消毒方式处理的茎段, 其萌发时间不同且茎段的颜色也会受到影响, 方法(1)和(2)的萌发时间较长, 外植体污染率均超过 50%, 且外植体颜色由最初的深绿色变为浅绿色, 有的甚至变为棕色, 说明消毒对外植体伤害较大; 方法(3)处理过的茎段得率最高为 62%, 且腋芽萌发时间也最短(12 d), 说明此消毒方法最有效, 且对外植体毒害较小, 保证了外植体的成活和诱导效果。因此, 消毒方法(3)适用于绿桐茎段的消毒。

表 1 消毒处理方法对绿桐腋芽萌发的影响

Table 1 Effect of disinfection treatments on germination of bulbs from *P. fortunei* × *P. tomentosa*

消毒方式 Disinfection treatments	接种数 Number of explants (ind.)	污染数 Number of pollutions (ind.)	得率 Yield (%)	萌发时间 Germination time (d)
(1) 0.1% 升汞处理 8 min 8 min treatment with 0.1% HgCl <sub>2</sub>	100	65.0 ± 3.0	35.0 ± 0.3a	22
(2) 10% 次氯酸钠与 0.1% 升汞混合液(1:1)处理 8 min 8 min treatment with mixed liquor of 10% NaClO and 0.1% HgCl <sub>2</sub> (1:1)	100	54.0 ± 4.0	46.0 ± 0.4b	18
(3) 先用 10% 次氯酸钠与 0.1% 升汞混合液(1:1)处理 5 min, 再用 0.1% 升汞处理 3 min First, 5 min treatment with the mixed liquor of 10% NaClO and 0.1% HgCl <sub>2</sub> (1:1), then, 3 min treatment with 0.1% HgCl <sub>2</sub>	100	38.0 ± 3.0	62.0 ± 0.3c	12

注: 表中同列小写字母表示 *P* 在 0.05 水平上的差异显著性

Note: Lowercase letters in the same column in the table indicate the significant differences of *P* at the 0.05 level

### 2.2 植物生长调节剂对不定芽诱导的影响

在含不同植物生长调节剂的 MS 培养基上, 茎段腋芽萌动及长势差异明显(表 2)。MS 培养基中的生长调节剂为 1.0 mg/L 6-BA + 1.0 mg/L 2,4-D + 0.8 mg/L GA<sub>3</sub> 时, 茎段腋芽诱导效果最好, 诱导率可达 78%; 诱导时间约 12 d 时, 叶柄基部的芽点开始萌动, 约 20 d 逐渐生长成不定芽, 且长势最好, 诱导出的不定芽比较健壮。而其他配方诱导率较低, 腋芽长势弱, 萌发较慢。

### 2.3 植物生长调节剂对绿桐不定芽增殖的影响

将诱导产生的不定芽切段转接到含不同浓度 6-BA 和 NAA 的 MS 增殖培养基上, 不定芽出现时间及增殖系数随着培养基中 6-BA、NAA 组成及含量的变化而不同(表 3)。当培养基中无植物生长调节剂时, 无法实现不定芽增殖。培养基中只添加 6-BA 时, 茎段均能诱导产生不定芽, 当 6-BA 浓度为 1.0 mg/L, 不定芽增殖系数最高(1.08); 而其浓度高于 1.0 mg/L 时, 增殖系数开始下降。培养基中只添加

NAA 时,无法实现不定芽增殖,但接种的不定芽茎段长势良好,有明显的伸长现象,并产生较多的根。当培养基中 6-BA 和 NAA 浓度分别为 0.8, 0.4 mg/L 时,不定芽增殖效果最好,增殖系数可达 2.02,继代培养周期约为 21 d,不定芽生长粗壮(图 1a);

6-BA 和 NAA 浓度分别为 0.8, 0.6 mg/L 时,新的不定芽叶片出现玻璃化现象,增殖系数降低。以上结果表明:绿桐不定芽增殖的最适植物生长调节剂为 0.8 mg/L 6-BA+0.4 mg/L NAA。

表 2 植物生长调节剂对不定芽诱导的影响

Table 2 Effect of plant growth regulators on adventitious bud induction

激素 Hormone (mg/L)			诱导率 Induction rate (%)	生长特征 Growth status
6-BA	2,4-D	GA <sub>3</sub>		
0.8	0.5	0.0	9.0±2.6a	芽生长较慢,长势较弱 Buds grow slowly and weak
0.8	0.5	0.8	27.0±3.8b	芽生长慢,茎段瘦弱,长势较差 Buds grow slowly, the stem thin and weak
1.0	1.0	0.0	72.0±3.2c	芽生长、伸长快,但茎段细 Buds grow fast, elongation, stem thin
1.0	1.0	0.8	78.0±4.1d	芽生长快,茎段较粗,叶片伸展、浓绿 Buds grow fast, stem thick, leaf blade and extension
1.2	1.0	0.8	75.0±3.6cd	芽生长较快,但基部愈伤组织较大,茎段玻璃化严重 Buds grow fast, stem stout, base callus bigger, stem vitrification badly

注:表中同列小写字母表示 *P* 在 0.05 水平上的差异显著性

Note: Lowercase letters in the same column in the table indicate the significant differences of *P* at the 0.05 level

表 3 激素(NAA,6-BA)组合对绿桐不定芽增殖的影响

Table 3 Effects of hormone (NAA,6-BA) combination on proliferation of bulbs from *P. fortunei* × *P. tomentosa*

激素 Hormone (mg/L)		接种数 Number of explants (ind.)	新不定芽数 Number of induced bulb (ind.)	增殖系数 Proliferation multiple
6-BA	NAA			
0	0	60	0	0
0.6	0	60	28.0±4.0	0.47±0.07a
0.8	0	60	63.0±6.0	1.05±0.10b
1.0	0	60	65.0±3.0	1.08±0.05b
1.2	0	60	49.0±4.0	0.82±0.06b
0	0.2	60	0	0
0	0.4	60	0	0
0	0.6	60	0	0
0.8	0.2	60	93.0±6.0	1.55±0.10c
0.8	0.4	60	121.0±7.0	2.02±0.12d
0.8	0.6	60	106.0±5.0	1.77±0.83cd

注:表中同列小写字母表示 *P* 在 0.05 水平上的差异显著性

Note: Lowercase letters in the same column in the table indicate the significant differences of *P* at the 0.05 level

## 2.4 植物生长调节剂对绿桐不定芽生根的影响

剪取株高 3 cm 以上且带有 4 片左右叶片的绿桐小芽转入生根培养基上诱导生根,7 d 左右有的小芽基部开始出现白色凸起,然后逐渐成长为根系,15 d 后统计生根实验结果。由表 4 可以看出,不添加任何激素时,绿桐小芽根点出现时间晚,根数量少且长势弱;而在添加植物生长调节剂的培养基上,小苗的生根率都较高。当植物生长调节剂组合为 0.6 mg/L NAA+0.2 mg/L IBA,以及 0.4 mg/L NAA+0.4 mg/L IBA 时,小芽在 8-10 d 出现根点,但根生长

较慢,粗短、丛生,植株生长也较慢;当组合为 0.8 mg/L NAA + 0.2 mg/L IBA,以及 0.8 mg/L NAA+0.4 mg/L IBA 时,小芽出现根点需要 8-10 d,根生长较快,但基部会有愈伤组织出现,有的根呈海绵状,植株长势旺盛,但不利于后期移栽;当植物生长调节剂组合为 0.6 mg/L NAA + 0.4 mg/L IBA 时,7 d 即可观察到大量根长出,培养 30 d 时生根率可达 100%,且根长势均匀、数量多且健壮,根系长满培养基;叶片肥厚,呈深绿色,株高可达 10 cm 以上(图 1b)。以上结果表明,绿桐不定芽生根最适植物



生长调节剂为 0.6 mg/L NAA+0.4 mg/L IBA。

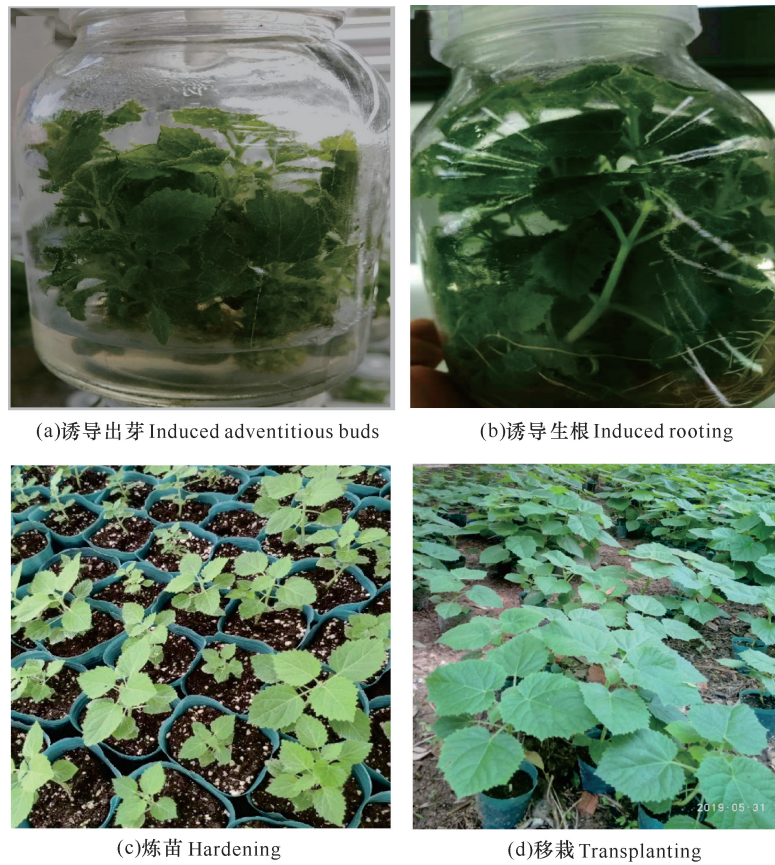


图1 绿桐组织培养再生及炼苗

Fig. 1 Tissue culture regeneration and hardening of *P. fortunei* × *P. tomentosa*

表4 IAA 或 IBA 激素浓度对不定芽生根的影响

Table 4 Effects of hormone concentrations of NAA or IBA on rooting of adventitious buds

激素 Hormone (mg/L)		接种数 Number of explants (ind.)	生根时间 Rooting time (d)	生根率 Rooting rate (%)
NAA	IBA			
0	0	50	25	9.6 ± 0.16a
1.0	0	50	8-10	31.0 ± 0.24b
0.8	0	50	8-10	51.8 ± 0.39c
0.6	0	50	9-11	89.3 ± 0.87d
0.4	0	50	11-16	74.2 ± 0.94d
0.8	0.2	50	8-10	76.8 ± 0.85d
0.6	0.2	50	8-10	72.3 ± 0.67d
0.4	0.2	50	12-14	67.6 ± 0.92d
0.8	0.4	50	8-10	81.4 ± 1.03d
0.6	0.4	50	7-9	100.0 ± 0.0e
0.4	0.4	50	8-9	92.3 ± 1.05e

注:表中同列小写字母表示 *P* 在 0.05 水平上的差异显著性

Note: Lowercase letters in the same column in the table indicate the significant differences of *P* at the 0.05 level

## 2.5 炼苗及移栽方式对绿桐无菌苗成活的影响

炼苗及不同的移栽方式对绿桐幼苗成活率有显著影响(表5)。移栽方式①中,绿桐幼苗未经炼苗,且未进行任何保湿措施,绿桐无菌苗成活率较低,只有 35%;方式③虽然进行了膜覆盖保湿保温处理,但

表5 不同移栽方法对绿桐幼苗存活率的影响  
Table 5 Effects of different planting methods on survival rate of *P. fortunei* × *P. tomentosa*

移栽方式 Transplanting mode	移栽总株数 Total number of transplanted plants (ind.)	存活株数 Number of surviving plants (ind.)	存活率 Survival rate (%)
①直接移苗 Direct transplantation	100	35.0 ± 2.0	35.0 ± 0.2a
②炼苗后覆膜保湿 Covered with plastic film to protect moisture after hardening	100	92.0 ± 4.0	92.0 ± 0.4b
③直接移苗覆膜保湿 Direct transplantation covered with film to protect moisture	100	52.0 ± 3.0	52.0 ± 0.3c

未进行炼苗,绿桐无菌苗成活率为 52%;而移栽方式②先对绿桐幼苗进行自然光炼苗处理后再移苗,并用保湿膜覆盖,以保持幼苗湿度和温度,其存活率可达 92%(图 1c)。绿桐幼苗生长 2 个月可高达 30 cm,可进行移栽(图 1d)。

### 3 讨论

#### 3.1 消毒方式对绿桐外植体消毒效果影响

获得无菌外植体是植物组织培养成功的必要前提,常通过化学药剂如酒精、升汞、次氯酸钠等对植物材料表面进行消毒,不同消毒方式对植物的消毒机理和伤害不同,消毒剂及消毒时间对植物外植体的消毒效果、存活率及出芽率有显著影响<sup>[5]</sup>。为降低对外植体的伤害且达到消毒目的,通常将消毒剂组合使用。另外,消毒时间过长对外植体的毒害作用较大,会褐化外植体或者直接将其杀死,进而使腋芽无法萌发,无法建立组培体系;若消毒时间过短,则无法获得无菌外植体<sup>[19]</sup>。田国忠等<sup>[12]</sup>研究发现,酒精对泡桐外植体伤害较大,消毒剂可以只用 0.1% 升汞,但污染率偏高。本研究在借鉴前人经验的基础上,对绿桐消毒方式进行研究,结果发现:只是用酒精,消毒效果较差且容易褐化,这与前人研究结果一致<sup>[11,18]</sup>;当使用 3 种消毒剂组合(先用 75% 酒精消毒后,再用 10% 的次氯酸钠与 0.1% 升汞等体积混合液消毒,最后用 0.1% 升汞消毒)时,外植体污染率低于 40%,且受到的伤害最小,易于腋芽萌发,这与一些文献报道结果类似<sup>[14]</sup>。

#### 3.2 植物生长调节剂在绿桐组织培养中的作用

植物生长调节剂的组成及浓度对离体组织的诱导、增殖及生根等生长发育起关键作用<sup>[20]</sup>。其中细胞分裂素可引起细胞分裂并诱导芽的萌发和生长,生长素则促进植物细胞伸长和根系分化。在特定范围内,外植体芽的诱导、增殖及根的分化由细胞分裂素与生长素的种类和浓度决定<sup>[21]</sup>。本研究发现 6-BA 对绿桐不定芽产生起到关键作用,不添加 6-BA 时无法诱导出不定芽,这与一些研究结果类似<sup>[5,14]</sup>。但单纯的 6-BA 不利于绿桐芽的诱导分化,诱导率较低,芽生长比较缓慢;而 6-BA 过高时,虽可诱导产生大量不定芽,但玻璃化严重;本实验在借鉴前人研究<sup>[10,13]</sup>的基础上,通过额外添加激素  $GA_3$ ,获得最优诱导培养基为  $MS+1.0\text{ mg/L }6\text{-BA}+1.0\text{ mg/L }2,4\text{-D}+0.8\text{ mg/L }GA_3$ ,该培养基配方提高了绿桐出芽诱导率,且芽生长健壮。另外,在生根诱导实验时

发现:NAA 浓度偏高会导致绿桐组培苗产生大量愈伤组织和畸形根,而过低又会导致生根率偏低、生根慢,且根比较细弱,这与许多报道类似<sup>[5,21,22]</sup>。在添加 NAA 的基础上,再添加 0.4 mg/L IBA,可使绿桐生根率达 100%,且植株更加健壮和整齐,所以绿桐生根诱导培养基为  $1/2\text{ MS}+0.6\text{ mg/L NAA}+0.4\text{ mg/L IBA}$ ,这与前人报道<sup>[5,9]</sup>稍有出入,可能是不同基因型和外植体差异造成。

#### 3.3 绿桐组培苗移栽

植物组培苗的炼苗和移栽是快繁体系最后一个核心环节。移栽成活率的高低直接影响组培快繁的生产成本<sup>[23]</sup>。组培苗不经过炼苗直接进行移栽,由于植株过于幼嫩,移栽后易引起烂根死亡,影响幼苗的成活率<sup>[24]</sup>。基质的选择、灭菌及移栽后的保温、保湿等措施对苗的成活也起到重要作用。试管苗比较幼嫩,从无菌转入有菌环境生长,如果没有灭菌、保湿等保护性措施就很难抵御外界杂菌的侵染及干燥等复杂环境,容易染菌或干枯死掉,所以移栽前必须做好基质的消毒及移栽后的覆膜保温、保湿等工作<sup>[25]</sup>。本实验中,先对绿桐组培苗炼苗 7 d 后再进行移栽,移栽后用地膜覆盖保湿,组培苗成活率可达 92%。

### 4 结论

本研究对绿桐外植体消毒方式、诱导分化及炼苗条件进行实验,结果表明:最佳消毒方式为依次采用 75% 乙醇、等体积 10% 次氯酸钠与 0.1% 升汞混合液、0.1% 升汞消毒;选择当年生嫩条顶端 10 cm 长度的茎段为最佳外植体;外植体在  $MS+1.0\text{ mg/L }6\text{-BA}+1.0\text{ mg/L }2,4\text{-D}+0.8\text{ mg/L }GA_3$  的培养基中,能诱导出长势健壮的不定芽;在  $MS+0.8\text{ mg/L }6\text{-BA}+0.4\text{ mg/L NAA}$  的增殖培养基中,增殖系数达 2.02;而生根以  $1/2\text{ MS}+0.6\text{ mg/L IBA}+0.4\text{ mg/L NAA}$  培养基为最佳,生根率可达 100%;组培苗炼苗后移栽,再进行覆膜保湿,移栽存活率可达 92%。本研究建立了一整套绿桐快速繁殖体系,为后期绿桐组培苗大规模生产打下良好基础。

#### 参考文献

- [1] 温远光. 桉树生态、社会问题与科学发展[M]. 北京: 中国林业出版社, 2008.
- [2] 李国雷, 刘勇, 于海群, 等. 油松(*Pinus tabulaeformis*)人工林下植被发育对油松生长节律的响应[J]. 生态学报, 2009, 29(3): 1264-1275.
- [3] WEN Y G, YE D, CHEN F, et al. The changes of under-

- story plant diversity in continuous cropping system of *Eucalyptus* plantations, South China [J]. Journal of Forest Research, 2010, 15(4): 252-258.
- [4] 罗江华, 李科, 恩特马克·布拉提白. 白花泡桐的研究进展[J]. 贵州农业科学, 2010, 38(4): 200-203.
- [5] 范国强, 翟晓巧, 李松林. 泡桐愈伤组织再生植株的诱导与培养[J]. 植物学通报, 2002, 19(1): 92-97.
- [6] 范国强, 翟晓巧, 马新业, 等. 两种基因型泡桐体细胞胚胎发生及植株再生[J]. 核农学报, 2005, 19(4): 274-278, 254.
- [7] 范国强, 董占强, 李峰稳, 等. 光周期对泡桐叶片体外植株再生影响研究[J]. 西北植物学报, 2007, 27(1): 104-109.
- [8] 杨志清, 范国强, 曹艳春, 等. 同源四倍体泡桐体外植株再生系统建立[J]. 河南农业大学学报, 2007, 41(2): 149-153.
- [9] 刘飞, 范国强, 董占强. 泡桐离体开花培养系统的建立[J]. 林业科学, 2007, 43(12): 56-63.
- [10] 孔德广, 陈桂华, 袁新华. 泡桐组培脱毒苗田间育苗、造林及防治丛枝病效果的研究[J]. 林业科技通讯, 1998(6): 22-23.
- [11] 田国忠, 李志清, 张存义, 等. 泡桐脱毒组培苗的生产和育苗技术[J]. 林业科技开发, 2006, 20(1): 52-55.
- [12] 田国忠, 张锡津, 罗飞, 等. 抗病和感病泡桐无性系组培苗对嫁接传染植原体的不同反应[J]. 林业科学, 1999, 35(4): 31-39.
- [13] 田国忠, 邓宝红, 张兆欣, 等. 泡桐脱毒组培和规模化生产关键技术改进[J]. 林业科技开发, 2009, 23(6): 73-78.
- [14] 杨晨星, 李晶, 穆立蕾. 不同消毒方法对组织培养中大岩桐叶片生长状况的影响[J]. 西北林学院学报, 2020, 35(4): 89-94.
- [15] 江香梅, 戴小英, 温强, 等. “桐优1”等泡桐优良无性系组培高效繁育体系的建立[J]. 江西林业科技, 2009(2): 11-14.
- [16] 苏江, 洗康华, 付传明, 等. 白花泡桐优树组织培养及产业化快繁技术[J]. 广西植物, 2017, 37(11): 1386-1394.
- [17] 王杰. 不同种源泡桐苗木生长差异[J]. 中国园艺文摘, 2008(9): 31-32.
- [18] 李芳东, 邓建军, 张悦, 等. 白花泡桐优树组织培养幼化技术研究[J]. 中南林业科技大学学报, 2010, 30(8): 22-28.
- [19] 王鸿, 黄烈健, 胡峰. 3种相思16年生优树外植体芽诱导研究[J]. 植物研究, 2016, 36(5): 730-738.
- [20] 唐丽雪, 杜进辉, 史春余, 等. 不同浓度NAA/6BA配比对不同品种甘薯茎尖培养特性的影响[J]. 中国农学通报, 2020, 36(21): 113-117.
- [21] 罗芄睿, 张帆, 崔杰, 等. 迷你岩桐组织培养及植株再生体系建立[J]. 草业科学, 2020, 37(3): 469-476.
- [22] 王红玲, 孙倩, 黄瑞芳. 楸叶泡桐杂种无性系9503的组织培养技术研究[J]. 江苏林业科技, 2019, 46(2): 43-45, 52.
- [23] 赵展平, 何芳, 唐军荣, 等. 樟叶越桔组培苗生根和移栽技术研究[J]. 广西植物, 2019, 39(7): 967-975.
- [24] 薛杰, 马书燕, 李玉鹏, 等. 脱毒泡桐组培苗大田移栽试验[J]. 绿色科技, 2011(5): 148-149.
- [25] 马玲, 仇文婷, 王彦军, 等. 珍稀中药材白芨组培快繁体系的建立[J]. 中国农学通报, 2020, 36(19): 80-84.

## Study on Multiplication, Rooting and Transplanting of Tissue Culture Plantlets of *Paulownia fortunei* × *Paulownia tomentosa*

ZHANG Hongyan<sup>1,2</sup>, MO Yongsheng<sup>1</sup>, OU Na<sup>1</sup>, XIE Wei<sup>1</sup>, SHEN Naikun<sup>2</sup>

(1. Institute of Biology Research, Guangxi Academy of Sciences, Nanning, Guangxi, 530007, China; 2. College of Marine and Biotechnology, Guangxi University for Nationalities, Nanning, Guangxi, 530006, China)

**Abstract:** The purpose of this research is to establish a rapid asexual reproduction technology suitable for *Paulownia fortunei* × *Paulownia tomentosa*, and provide a technical reference for the industrial production of test-tube seedlings. In the experiment, the original branches of *P. fortunei* × *P. tomentosa* were used as ex-plants, and the disinfection method, the material location, the plant growth regulator and its concentration ra-

tio were optimized, and the appropriate induction, proliferation and rooting medium were screened. The results showed that the best disinfection method was to use 75% ethanol, an equal volume of 10% sodium hypochlorite and 0.1% mercury mixture, and 0.1% mercury liters in sequence. The best explant was the 10 cm long stem at the top of the tender strip. The explants were put in MS+1.0 mg/L 6-benzylaminopurine (6-BA)+1.0 mg/L 2,4-p-chlorobenzene oxyacetic acid (2,4-D) + 0.8 mg/L gibberellin (GA<sub>3</sub>) medium, which could induce vigorous adventitious buds. In the proliferation medium of MS+0.8 mg/L 6-BA+0.4 mg/L naphthalene acetic acid (NAA), the proliferation coefficient reached 2.02. For rooting, 1/2 MS+0.6 mg/L indole-3-butyric acid (IBA) + 0.4 mg/L NAA was the best medium, and the rooting rate reached 100%. After the tissue cultured seedlings were hardened and covered with a plastic film to protect moisture, the survival rate could reach 92%. In this study, a medium suitable for the rapid propagation of *P. fortunei* × *P. tomentosa* was obtained, and a set of fast-growing propagation system of *P. fortunei* × *P. tomentosa* was established.

**Key words:** *Paulownia fortunei* × *Paulownia tomentosa*, asexual propagation, tissue culture, explants, adventitious bud

责任编辑:米慧芝



微信公众号投稿更便捷

联系电话:0771-2503923

邮箱:gxkxyxb@gxas.cn

投稿系统网址: <http://gxkx.ijournal.cn/gxkxyxb/ch>