

◆植物科学◆

樟树赣柠1号茎段组织培养研究*

肖祖飞, 邢梦雪, 魏希, 张北红, 王颜波, 李凤, 金志农**

(南昌工程学院, 江西省樟树繁育与开发利用工程研究中心, 江西南昌 330099)

摘要:本研究拟建立樟树赣柠1号茎段组织培养技术,为其苗木繁殖提供理论依据。实验以樟树赣柠1号枝条为材料,通过植物组织培养技术,研究枝条木质化程度、外植体的采集月份、消毒时间和生长调节剂对樟树赣柠1号茎段组织培养的影响。结果表明:茎段的污染率和褐化率随枝条木质化程度的增加而升高,萌芽率随枝条木质化程度的增加而降低。5月采集樟树赣柠1号一年生半木质化带芽茎段,用质量浓度0.1%的HgCl₂消毒5 min,茎段的萌芽率高,污染率和褐化率低。樟树赣柠1号茎段萌芽最适培养基为Murashige和Skoog培养基(MS培养基)+1.2 mg/L 6-苄氨基嘌呤(6-BA)+0.1 mg/L 吲哚丁酸(IBA),萌芽率为66.67%;最适增殖培养基为MS+2.0 mg/L 6-BA+0.1 mg/L IBA,增殖系数为4.06;生根适宜培养基为1/2 MS+2.0 mg/L IBA,生根率达到100%。组培苗生根培养11-14 d,大棚炼苗7-10 d,移栽成活率可达90.06%。上述组织培养技术条件的建立,可有效提高樟树赣柠1号茎段腋芽的萌芽率、组培苗的增殖率和生根率,为樟树赣柠1号的工厂化育苗奠定基础。

关键词:樟树赣柠1号 组织培养 茎段 生长调节剂 萌芽率 生根率

中图分类号:S792.23 文献标识码:A 文章编号:1002-7378(2022)01-0061-09

DOI:10.13657/j.cnki.gxkxyxb.20220421.008

香樟(*Cinnamomum camphora*)隶属樟科樟属,树冠优美,枝叶茂密,深受人们喜爱,常被用于行道树、庭荫树、防护林和风景林^[1]。樟木防虫防腐,是制作家具、雕刻的良材^[2,3]。香樟根、茎、叶中含有精油,可用于医药、日用化工、香精香料等^[4-6]。柠檬醛是香料产业和医药工业迫切需要的原料。天然柠檬

醛主要从山苍子种子中提取得到,产量低、生产成本低,远满足不了市场需求。近年来,从香樟中发现富含柠檬醛的优良单株,为天然柠檬醛的生产找到新来源,因此,优良柠檬醛型香樟种苗的繁殖是当前亟需解决的问题。目前,香樟的无性繁殖方式主要是扦插^[7]和组织培养^[8]。茎段组织培养能够保持母本优

收稿日期:2021-08-03

* 江西省林业局林业科技创新专项(创新专项[2019]04号),江西省科学技术厅重点研发计划项目(20192BBFL60012),江西省林业局樟树研究专项(创新专项[2020]07)和江西省科学技术厅重大科技研发专项(20203ABC28W016)资助。

【作者简介】

肖祖飞(1983-),男,博士,副教授,主要从事香料用樟树栽培与繁育研究。

【**通信作者】

金志农(1963-),男,研究员,主要从事香料用樟树选育与开发利用研究,E-mail:camphor.tree@qq.com。

【引用本文】

肖祖飞,邢梦雪,魏希,等.樟树赣柠1号茎段组织培养研究[J].广西科学院学报,2022,38(1):61-68,75.

XIAO Z F, XING M X, WEI X, et al. Study on Tissue Culture Technology of Stem Segment of *Cinnamomum camphora* 'Ganning 1' [J]. Journal of Guangxi Academy of Sciences, 2022, 38(1): 61-68, 75.

良性状,是香樟无性繁殖的重要方式。影响香樟组织培养的因素主要有培养基、植物生长调节剂、樟树化学型等。叶润燕等^[9]研究表明,采用 Murashige 和 Skoog (MS) 基础培养基并添加不同植物生长调节剂,对香樟茎段腋芽诱导、丛生芽的增殖、生根效果较好;樟树腋芽诱导率达到 90%,樟树丛生芽增殖系数高达 13.1,组培苗生根率达到 90%。周丽华等^[10]研究表明,采用改良 DCR 培养基并添加合适浓度的 6-苄氨基嘌呤(6-BA)和萘乙酸(NAA),培养不同家系的香樟,有利于芽的萌发和增殖;生根培养基采用 1/2 MS 培养基加以合适浓度的吲哚丁酸(IBA)、吲哚乙酸(IAA)、6-BA 和 NAA,组培苗生根率达到 96.3%。生长调节剂种类及浓度在植物组织培养过程中发挥重要作用。与激动素(KT)相比,相同浓度下 6-BA 对香樟不定芽的诱导效果好于 KT,芽的长度和叶的数量显著高于 KT^[11]。香樟涌金茎段萌芽在 MS+1.0 mg/L 6-BA+0.02 mg/L IBA 诱导培养基中萌发率达 100.0%,在 MS+3.0 mg/L 6-BA+0.05 mg/L IAA 培养基中腋芽能正常生长并增殖^[12]。

根据枝叶精油主成分,樟树可划分为不同的化学型,樟树组织培养研究较多的是芳樟醇型、脑樟型和龙脑樟型香樟^[13-15]。柠檬醛型香樟采用矮林栽培,一年采伐 1 次或两年采伐 3 次枝叶,可极大地提高柠檬醛的产量,满足市场需求。目前,以生产精油为目的的香樟矮林在江西、广西、云南等地勃然兴起,优良柠檬醛型香樟苗木需求量大、供不应求,但关于柠檬醛型香樟组织培养研究未见报道。本研究以樟树赣柠 1 号四年生扦插苗枝条为材料,研究外植体的采集月份、消毒时间、枝条木质化程度、生长调节剂对樟树赣柠 1 号茎段组织培养的影响,并对樟树赣柠 1 号组培生根苗的炼苗和移栽技术进行探索,为樟树赣柠 1 号的无性繁殖提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 材料

供试材料为樟树赣柠 1 号(*C. camphora* ‘Ganning 1’,良种编号:赣 S-SC-CC-004-2020)四年生扦插苗枝条,叶片鲜重出油率 1.09%,柠檬醛含量 56.50%。将枝条剪切成带 1-2 个芽的茎段(1.5-3 cm),用自来水冲洗 2 h,置于超净工作台,用质量浓度为 75%的酒精(山东利尔康医疗科技股份有限公司)浸泡 30 s,无菌水清洗 3-5 次,待用。

1.2 方法

1.2.1 枝条木质化程度对樟树赣柠 1 号茎段组织培养的影响

采集樟树赣柠 1 号四年生扦插苗一年生、二年生和三年生枝条,采用 1.1 节方法处理外植体,用质量浓度为 0.1%的 HgCl₂(河北省邢台兴教化工厂)消毒 6 min,之后接种在添加 1.2 mg/L 6-BA 和 0.1 mg/L IBA 的 MS 培养基上。每种处理接种 30-35 瓶,每瓶 1 个茎段,视为 1 次试验,重复 3 次。接种 30 d 后统计污染率、褐化率和萌芽率。

1.2.2 消毒时间对樟树赣柠 1 号茎段组织培养的影响

采集 1.2.1 节筛选所得到的最适枝条,采用 1.1 节方法处理外植体,用质量浓度为 0.1%的 HgCl₂ 消毒,消毒时间分别为 3 min、5 min、7 min 和 9 min,之后接种在添加 1.2 mg/L 6-BA 和 0.1 mg/L IBA 的 MS 培养基上。每种处理接种 30-35 瓶,每瓶 1 个茎段,视为 1 次试验,重复 3 次。接种 30 d 后统计污染率、褐化率和萌芽率。

1.2.3 外植体的采集月份对樟树赣柠 1 号茎段组织培养的影响

分别在 2020 年 5 月、7 月和 9 月采集 1.2.1 节筛选所得到的最适枝条,采用 1.1 节方法处理外植体,用质量浓度为 0.1%的 HgCl₂ 消毒,消毒时间为 1.2.2 节筛选出的最适消毒时间,之后接种在添加 1.2 mg/L 6-BA 和 0.1 mg/L IBA 的 MS 培养基上。每种处理 30-35 瓶,每瓶 1 个茎段,视为 1 次试验,重复 3 次。接种 30 d 后统计污染率、褐化率和萌芽率。

1.2.4 生长调节剂对樟树赣柠 1 号茎段萌芽诱导培养的影响

于 1.2.3 节筛选出的最适外植体采集月份采集 1.2.1 节筛选所得到的最适枝条,采用 1.1 节方法处理外植体,用质量浓度为 0.1%的 HgCl₂ 消毒,消毒时间为 1.2.2 节筛选所得到的最适时间,之后接种在添加 6-BA (0.15 mg/L、0.3 mg/L、0.6 mg/L、1.2 mg/L)和 IBA (0.1 mg/L、0.2 mg/L、0.4 mg/L、0.8 mg/L)的 MS 培养基上。每种处理接种 30-35 瓶,每瓶 1 个茎段。接种 30 d 后统计萌芽率。

1.2.5 生长调节剂对樟树赣柠 1 号组培苗增殖培养的影响

挑选 1.2.4 节中株高 3-5 cm 的无菌苗,修剪成 1.5 cm 长茎段,茎段至少带有一叶一芽,接种到添加

6-BA (0.5 mg/L、1.0 mg/L、1.5 mg/L、2.0 mg/L) 和 IBA (0.05 mg/L、0.1 mg/L、0.2 mg/L、0.4 mg/L) 的 MS 培养基上。每个处理接种 20 瓶, 每瓶 6 个茎段, 视为 1 次试验, 重复 3 次。增殖培养 30 d, 统计增殖系数、株高和茎粗。

1.2.6 生长调节剂对樟树赣柠 1 号生根培养的影响

挑选 1.2.5 节中株高 3–5 cm 的增殖苗接种于 1/2 MS 培养基, 培养基分别添加 IBA (0.5 mg/L、1.0 mg/L、1.5 mg/L、2.0 mg/L)、NAA (0.5 mg/L、1.0 mg/L、1.5 mg/L、2.0 mg/L)。每种处理接种 20 瓶, 每瓶 7–10 株, 视为 1 次试验, 重复 3 次。生根培养 25 d, 统计生根率、根数、根长和根粗。

1.2.7 樟树赣柠 1 号生根苗炼苗和移栽技术研究

1.2.6 节中组培苗生根培养 15 d, 将瓶苗移至透光率 25%–30%、温度 25–30℃ 的大棚内炼苗 10 d, 将组培苗移出瓶外, 洗净根部培养基, 待移栽。以红壤土和草木灰 (V:V=5:1) 为基质, 移栽前将生根苗用质量浓度为 0.5% 的多菌灵消毒 10–15 min, 之后移入装满基质的无纺布袋中央, 移栽后 20 d 内保持空气湿度 90% 以上, 基质保持湿润, 见干即浇, 每次要浇透, 移栽两个月后统计移栽成活率。

1.2.8 培养条件

1.2.1 节至 1.2.7 节所用培养基均添加 30 g/L

表 1 茎段木质化程度对樟树赣柠 1 号茎段培养的影响

Table 1 Effects of degree of lignification of stem segment of tissue culture of *C. camphora* 'Ganning 1'

茎段 Stem segment	污染率 (%) Pollution rate (%)	褐化率 (%) Browning rate (%)	萌芽率 (%) Germination rate (%)
一年生半木质化茎段 One-year-old semi-lignified stem segment	15.82 ± 1.16c	10.33 ± 1.25c	63.06 ± 3.58a
二年生木质化茎段 Two-year-old lignified stem segment	57.65 ± 4.82b	23.36 ± 1.84a	10.57 ± 1.27b
三年生木质化茎段 Three-year-old lignified stem segment	69.47 ± 4.35a	23.92 ± 1.70a	5.62 ± 0.53b

注: 表中同一列数据后不同小写字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$)

Note: Different normal letters in the same column indicate significant differences among treatments at $P < 0.05$

2.2 消毒时间对樟树赣柠 1 号茎段组织培养的影响

由表 2 可知, 随消毒时间的增加, 茎段的污染率逐渐降低, 褐化率逐渐升高, 萌芽率先增后降。与消毒 3 min 比较, 消毒 5 min、7 min 和 9 min 的茎段污染率分别降低 73.42%、74.06%、85.62%, 褐化率分别提高 29.76%、118.67%、469.64%。消毒 5 min, 茎段的污染率和褐化率分别为 16.53%、10.77%, 萌芽率达到最高, 为 55.26%。因此, 樟树赣柠 1 号茎段用质量浓度为 0.1% 的 $HgCl_2$ 消毒 5 min, 诱导茎段的萌芽率最好。

蔗糖 (西陇科学股份有限公司)、7.0 g/L 琼脂粉 (北京索莱宝科技有限公司), 生根培养基另外再添加 2 g/L 活性炭 (东莞市光华活性炭有限公司), 培养基 pH 值为 5.8。培养条件为白质光、光强 3 000–5 000 lx、光照时间 12 h/d、温度 (25 ± 2)℃。

1.3 数据统计与方法

采用 Excel 2019 软件对数据进行录入、整理和方差分析。

2 结果与分析

2.1 枝条木质化程度对樟树赣柠 1 号茎段组织培养的影响

由表 1 可知, 茎段的污染率和褐化率随枝条木质化程度的增加而显著升高。一年生半木质化枝的茎段的污染率和褐化率最低, 分别为 15.82% 和 10.33%, 显著低于二年生木质化枝和三年生木质化枝茎段。茎段的萌芽率随枝条木质化程度的增加而显著降低: 一年生半木质化枝茎段的萌芽率最高, 为 63.06%, 显著高于二年生木质化枝茎段 (10.57%) 和三年生木质化枝茎段 (5.62%); 二年生和三年生木质化枝茎段的萌芽率差异不显著。因此, 樟树赣柠 1 号茎段组织培养应采集一年生半木质化枝, 茎段的萌芽率高, 污染率和褐化率低。

表 2 消毒时间对樟树赣柠 1 号组培苗茎段培养的影响

Table 2 Effect of disinfection time on stem segment culture of *C. camphora* 'Ganning 1'

消毒时间 (min) Disinfection time (min)	污染率 (%) Pollution rate (%)	褐化率 (%) Browning rate (%)	萌芽率 (%) Germination rate (%)
3	62.19 ± 4.17a	8.30 ± 0.62c	12.85 ± 1.22b
5	16.53 ± 0.92b	10.77 ± 1.06c	55.26 ± 3.17a
7	16.13 ± 1.25b	18.15 ± 1.21b	52.94 ± 4.03a
9	8.94 ± 0.62c	47.28 ± 2.67a	15.68 ± 1.32b

注: 表中同一列数据后不同小写字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$)

Note: Different normal letters in the same column indicate significant differences among treatments at $P < 0.05$

2.3 外植体采集月份对樟树赣柠1号茎段组织培养的影响

由表3可知,外植体的污染率和褐化率随采集月份的推后而显著升高,萌芽率则显著降低。与5月采集外植体比较,7月和9月采集外植体进行组织培养,外植体的污染率分别升高52.70%、173.14%,褐化率分别升高62.88%、135.33%,萌芽率则分别降低24.93%、66.80%。因此,5月份采集樟树赣柠1号一年生半木质化枝条进行茎段组织培养效果较好。

2.4 生长调节剂对樟树赣柠1号茎段萌芽诱导培养的影响

由表4可知,MS+1.2 mg/L 6-BA+0.1 mg/L IBA培养基有利于茎段的萌芽,萌芽率为66.67%;MS+1.2 mg/L 6-BA+0.2 mg/L IBA培养基所培养的茎段萌芽率次之;茎段的萌芽率最低的是MS+
表4 生长调节剂对樟树赣柠1号茎段萌芽诱导培养的影响

Table 4 Effects of growth regulator on stem segment germination induction culture of *C. camphora* 'Ganning 1'

处理组 Treatment group	接种茎段数 Number of stem segment culture	萌芽茎段数 Number of stem segment germination	萌芽率(%) Germination rate (%)
MS+0.15 mg/L 6-BA+0.1 mg/L IBA	30	5	16.67
MS+0.3 mg/L 6-BA+0.1 mg/L IBA	30	7	23.33
MS+0.6 mg/L 6-BA+0.1 mg/L IBA	30	16	53.33
MS+1.2 mg/L 6-BA+0.1 mg/L IBA	30	20	66.67
MS+1.2 mg/L 6-BA+0.2 mg/L IBA	30	17	56.67
MS+1.2 mg/L 6-BA+0.4 mg/L IBA	30	12	40.00
MS+1.2 mg/L 6-BA+0.8 mg/L IBA	30	9	30.00

2.5 生长调节剂对樟树赣柠1号组培苗增殖培养的影响

由表5可知,IBA浓度不变时,樟树赣柠1号组培苗增殖系数随6-BA浓度的增加而增大。MS+2.0 mg/L 6-BA+0.1 mg/L IBA处理组的增殖系数达到4.06,与MS+1.0 mg/L 6-BA+0.1 mg/L IBA、MS+1.5 mg/L 6-BA+0.1 mg/L IBA处理组差异不显著,但显著高于MS+0.5 mg/L 6-BA+0.1 mg/L IBA处理组。6-BA浓度不变时,樟树赣柠1

表5 生长调节剂对樟树赣柠1号组培苗增殖培养的影响

Table 5 Effects of growth regulator on proliferation culture of tissue culture seedlings of *C. camphora* 'Ganning 1'

处理组 Treatment group	增殖系数 Multiplication coefficient	株高(cm) Plant height (cm)	茎粗(mm) Stem diameter (mm)
MS+0.5 mg/L 6-BA+0.1 mg/L IBA	2.17±0.37c	3.12±0.22c	0.85±0.07a
MS+1.0 mg/L 6-BA+0.1 mg/L IBA	3.63±0.52a	3.30±0.61bc	0.93±0.04a
MS+1.5 mg/L 6-BA+0.1 mg/L IBA	3.75±0.49a	3.27±0.36bc	1.02±0.06a

0.15 mg/L 6-BA+0.1 mg/L IBA培养基,萌芽率仅为16.67%。因此,樟树赣柠1号茎段萌芽诱导最适培养基为MS+1.2 mg/L 6-BA+0.1 mg/L IBA。

表3 外植体采集月份对樟树赣柠1号茎段培养的影响

Table 3 Effects of explant collection month on stem segment culture of *C. camphora* 'Ganning 1'

采集月份 Collection month	污染率(%) Pollution rate (%)	褐化率(%) Browning rate (%)	萌芽率(%) Germination rate (%)
5月 May	21.33±1.55c	7.84±0.62b	61.50±3.75a
7月 July	32.57±2.04b	12.77±1.24b	46.17±1.81b
9月 September	58.26±2.63a	18.45±1.09a	20.42±1.33c

注:表中同一列数据后不同小写字母表示处理间差异显著($P<0.05$)

Note: Different normal letters in the same column indicate significant differences among treatments at $P<0.05$

号组培苗增殖系数随IBA浓度的增加而先增加后减少,IBA浓度为0.1 mg/L时,樟树赣柠1号组培苗增殖系数最大,为3.63。IBA浓度对组培苗的株高有显著促进作用,MS+1.0 mg/L 6-BA+0.4 mg/L IBA处理组的组培苗株高最高,为3.89 cm,高于其他处理组。各处理间组培苗的茎粗差异不显著。由此可知,樟树赣柠1号组培苗最适增殖培养基为MS+2.0 mg/L 6-BA+0.1 mg/L IBA(图1)。

续表

Continued table

处理组 Treatment group	增殖系数 Multiplication coefficient	株高(cm) Plant height (cm)	茎粗(mm) Stem diameter (mm)
MS+2.0 mg/L 6-BA+0.1 mg/L IBA	4.06±0.44a	3.23±0.25bc	0.97±0.11a
MS+1.0 mg/L 6-BA+0.05 mg/L IBA	3.11±0.26b	3.02±0.55c	1.05±0.05a
MS+1.0 mg/L 6-BA+0.2 mg/L IBA	3.06±0.18b	3.64±0.42ab	0.86±0.05a
MS+1.0 mg/L 6-BA+0.4 mg/L IBA	2.77±0.33b	3.89±0.27a	0.82±0.03a

注:表中同一列数据后不同小写字母表示处理间差异显著($P<0.05$)Note: Different normal letters in the same column indicate significant differences among treatments at $P<0.05$ 

图1 MS+2.0 mg/L 6-BA+0.1 mg/L IBA 诱导樟树赣柠1号组培苗增殖

Fig. 1 Induction of proliferation culture of tissue culture seedlings of *C. camphora* 'Ganning 1' by MS+2.0 mg/L 6-BA+0.1 mg/L IBA

表6 IBA对樟树赣柠1号组培苗生根的影响

Table 6 Effect of IBA on rooting of tissue culture seedlings of *C. camphora* 'Ganning 1'

处理组 Treatment group	生根率(%) Rooting rate (%)	根数 Number of root	根长(cm) Root length (cm)	根粗(mm) Root diameter (mm)
1/2 MS+0.5 mg/L IBA	93.33±13.69b	2.38±0.09b	7.75±0.90b	0.56±0.02a
1/2 MS+1.0 mg/L IBA	93.33±13.69b	2.65±0.06b	8.48±0.21b	0.55±0.02a
1/2 MS+1.5 mg/L IBA	95.24±0.46b	2.89±0.17b	9.91±0.42a	0.53±0.03a
1/2 MS+2.0 mg/L IBA	100.00±0.00a	3.60±0.43a	7.89±0.58b	0.39±0.05b

注:表中同一列数据后不同小写字母表示处理间差异显著($P<0.05$)Note: Different normal letters in the same column indicate significant differences among treatments at $P<0.05$

由表7可知,1/2 MS+2.0 mg/L NAA处理组的组培苗生根率也达到100.0%,1/2 MS+0.5 mg/L、1/2 MS+1.0 mg/L和1/2 MS+1.5 mg/L NAA处理组的生根率均高达93%以上。1/2 MS+0.5 mg/L NAA处理组的根数最多,为3.02;其次是1/2 MS+1.5 mg/L和1/2 MS+2.0 mg/L NAA处理组;1/2 MS+1.0 mg/L NAA处理组的根数较少。1/2 MS+1.0 mg/L和1/2 MS+2.0 mg/L NAA处

2.6 樟树赣柠1号组培苗生根情况

2.6.1 生长调节剂对樟树赣柠1号组培苗生根的影响

由表6可知,不同IBA浓度处理下的组培苗生根率均达到93%以上。其中1/2 MS+2.0 mg/L IBA处理组的组培苗生根率达到100%,根数也最多,为3.60,显著高于其余3组。根长最长的是1/2 MS+1.5 mg/L IBA处理组,为9.91 cm,显著高于其他处理组。根粗随IBA浓度的增加而逐渐变小,1/2 MS+0.5 mg/L、1/2 MS+1.0 mg/L和1/2 MS+1.5 mg/L IBA处理组的根粗较大,三者之间差异不显著,但显著大于1/2 MS+2.0 mg/L IBA处理组。

理组的根长较长,分别为7.76 cm和7.52 cm,二者差异不显著,但是显著大于1/2 MS+0.5 mg/L和1/2 MS+1.5 mg/L NAA处理组。根粗随NAA浓度的增加而逐渐增大,1/2 MS+1.0 mg/L、1/2 MS+1.5 mg/L和1/2 MS+2.0 mg/L NAA处理组的根粗较大,三者之间差异不显著,但是显著大于1/2 MS+0.5 mg/L NAA处理组。

表7 NAA对樟树赣柠1号组培苗生根的影响

Table 7 Effect of NAA on rooting of tissue culture seedlings of *C. camphora* 'Ganning 1'

处理组 Treatment group	生根率(%) Rooting rate (%)	根数 Number of root	根长(cm) Root length (cm)	根粗(mm) Root diameter (mm)
1/2 MS+0.5 mg/L NAA	93.33±6.90b	3.02±0.27a	5.75±0.14b	0.32±0.02b
1/2 MS+1.0 mg/L NAA	94.44±2.73b	1.93±0.10b	7.76±0.28a	0.42±0.02a
1/2 MS+1.5 mg/L NAA	94.44±2.73b	2.61±0.13ab	4.63±0.64b	0.43±0.03a
1/2 MS+2.0 mg/L NAA	100.00±0.00a	2.67±0.09ab	7.52±0.30a	0.46±0.05a

注:表中同一列数据后不同小写字母表示处理间差异显著($P<0.05$)

Note: Different normal letters in the same column indicate significant differences among treatments at $P<0.05$

综上所述,IBA和NAA浓度对樟树赣柠1号组培苗生根有显著影响。综合生根率、根数、根长和根粗指标,IBA对樟树赣柠1号组培苗的生根效果略优于NAA,樟树赣柠1号组培苗生根适宜培养基为1/2 MS+2.0 mg/L IBA。

2.6.2 樟树赣柠1号组培苗生根过程基部形态变化

樟树赣柠1号组培苗生根培养1-3 d,基部形态

变化不明显;生根培养5 d时,组培苗基部切口开始愈合、膨大;生根培养7 d时,大部分组培苗基部切口愈合、膨大,表皮有凸起点;生根培养9 d时,组培苗不定根出现;培养11-14 d时,组培苗不定根继续生长,不定根明显增长、增多(图2)。



图2 1/2 MS+2.0 mg/L IBA处理诱导樟树赣柠1号组培苗生根过程

Fig. 2 Induction of rooting process of tissue culture seedlings of *C. camphora* 'Ganning 1' by 1/2 MS+2.0 mg/L IBA

2.7 樟树赣柠1号组培生根苗的炼苗和移栽情况

生根瓶苗放入大棚炼苗10 d,之后将生根苗移栽到瓶外,在塑料薄膜小拱棚缓苗20 d,樟树赣柠1号组培生根苗移栽成活率可达90.06%(图3)。待苗木长到20-30 cm,茎木质化后可将其移入大田定植。

3 讨论

3.1 外植体的采集月份和消毒时间对樟树赣柠1号茎段组织培养的影响

外植体的采集月份不同,其生理状况和发育状态也不同,直接影响外植体的萌芽率和成活率。研究表明,5月采集南方红豆杉嫩枝进行组织培养,外植体

愈伤组织诱导率最高,其次是11月,8月最差^[16]。5月中旬采集毛叶木姜子当年生半木质化枝条剪取茎段,用0.2% HgCl₂消毒12 min,消毒效果最佳,是毛叶木姜子无菌体系建立的最佳消毒方式^[17]。本研究表明,5月是樟树赣柠1号茎段组织采集外植体的最适时间,这与前人研究结果基本一致,其原因可能是5月份枝条新陈代谢旺盛、生命力强,内源激素、营养物质等含量高,组织幼嫩、容易分化。消毒剂及消毒时间影响外植体的成活率,而HgCl₂是植物组织培养常用消毒剂,一般使用浓度0.1%-0.2%、消毒5-10 min,外植体的成活率高、污染率和褐化率低^[18,19]。本研究表明,5月采集一年生半木质化茎



图3 樟树赣柠1号组培移栽苗

Fig. 3 Planting of tissue culture seedlings of *C. camphora* 'Ganning 1'

段,用0.1% HgCl_2 消毒5 min,茎段的污染率和褐化率低、萌芽率高。新长出来的枝条与外界环境接触时间短,受灰尘、细菌、真菌等污染少,容易消毒。此外,5月枝条内所含的酚类物质可能较少,降低了茎段的褐化率。

3.2 枝条木质化程度对樟树赣柠1号茎段组织培养的影响

采用扦插、组织培养等无性繁殖时,很多植物会受到成熟效应的影响。本研究表明,茎段的萌芽率随枝条木质化程度的增加而显著降低,一年生半木质化枝茎段萌芽率最高,为63.06%,显著高于二年生木质化枝茎段(10.57%)和三年生木质化枝茎段(5.62%);污染率和褐化率随木质化程度的增加而升高。这一结果与刘均利等^[20]研究毛叶木姜子组织培养试验结果基本一致,采集半木质化枝条进行茎段初代组织培养,茎段的萌芽率达到57.9%,显著高于木质化枝条(40%)和嫩枝(38.5%)。究其原因可能是二年生木质化枝和三年生木质化枝茎段枝龄大、木质化程度高、组织老,分裂能力弱,较难诱导萌芽,容易污染和褐化;一年生木质化枝的腋芽比二年生木质化枝、三年生木质化枝的腋芽饱满,营养物质丰富,二年生木质化枝和三年生木质化枝的腋芽处于休眠状态,不易诱导萌芽。因此,樟树赣柠1号茎段组织培养应该采集一年生半木质化枝,茎段的萌芽率高,污染率和褐化率低。

3.3 生长调节剂对樟树赣柠1号茎段组织培养的影响

植物生长调节剂在组培苗的生长发育过程中发挥重要作用。樟树心形胚时期的合子胚接入添加4.0 mg/L 6-BA、0.5 mg/L NAA的改良MS培养基进行初培养,再接入添加1.0 mg/L 6-BA、0.2 mg/L 2,4-D的改良MS培养基培养,胚性愈伤组织诱导率达到77.78%^[21]。另外,有研究发现樟树幼胚的萌发率随6-BA浓度的增加而升高,6-BA是影响樟树幼胚早期萌发的主要影响因子^[22]。本研究表明,6-BA、IBA、6-BA/IBA在樟树赣柠1号茎段的萌芽、组培苗的增殖和生根过程中起重要作用。在IBA浓度不变的情况下,茎段的萌芽率随6-BA浓度的增加而升高;在6-BA浓度不变的情况下,茎段的萌芽率随IBA浓度的增加而降低。此外,茎段的萌芽率随6-BA/IBA比值的升高而升高。6-BA/IBA为1.5时,茎段的萌芽率最低;6-BA/IBA为12时,茎段的萌芽率达到最高,为66.67%。6-BA、IBA、6-BA/IBA对樟树赣柠1号组培苗的增殖也有显著影响。IBA浓度不变时,增殖系数随6-BA浓度、6-BA/IBA比值升高而增大,6-BA浓度为2.0 mg/L、6-BA/IBA为20时,增殖系数最大,为4.06。IBA和NAA对樟树赣柠1号组培苗的生根有显著促进作用,且IBA对组培苗的生根效果优于NAA,1/2 MS+2.0 mg/L IBA处理组生根率达到100%。辜夕容等^[23]研究表明,高浓度的6-BA有利于香樟茎段上隐芽的萌动与生长,而低浓度的6-BA有利于愈伤组织的生长;6-BA/NAA的比值对香樟茎段隐芽的萌动与生长、愈伤组织的生长有较大影响,6-BA/NAA为40时,茎段的萌芽生长最好,6-BA/NAA为5时有利于愈伤组织的形成。

3.4 樟树赣柠1号组培生根苗炼苗和移栽研究

组培苗移栽成活率的高低决定组培技术成功与否。瓶内组培苗比较脆弱,需在有条件设施的地方炼苗一段时间才能移栽、造林^[24]。有研究表明,黄樟组培苗在常规环境中炼苗3-5 d,可进行移栽。移栽前用百菌清可湿性粉剂800-1000倍液浸沾后沥干,以泥炭土和珍珠岩混合基质为栽培基质,移栽后适当遮光、覆膜,可使黄樟组培苗成活率和新叶率达85%以上^[25]。本研究表明,樟树赣柠1号组培生根苗在透光率25%-30%、温度25-30℃的大棚内炼苗7-10 d,可移出瓶外,适当遮光、用塑料薄膜拱棚保持空气湿度90%以上,移栽成活率可达90%以上。

4 结论

樟树赣柠1号适宜在5月份采集一年生半木质化枝条进行茎段组织培养,茎段用质量浓度0.1%的HgCl₂消毒,消毒最适时间为5 min。6-BA和IBA在茎段萌芽、增殖和生根培养过程中起重要作用。茎段萌芽最适培养基为MS+1.2 mg/L 6-BA+0.1 mg/L IBA,萌芽率达到66.67%;最适增殖培养基为MS+2.0 mg/L 6-BA+0.1 mg/L IBA,增殖系数为4.06;生根适宜培养基为1/2 MS+2.0 mg/L IBA,生根率达到100%。

参考文献

- [1] 张艳丽,费世民,李智勇,等.成都市沙河主要绿化树种固碳释氧和降温增湿效益[J].生态学报,2013,33(12):3878-3887.
- [2] 王军锋,黄腾华,安家成,等.材用和油材两用人工林樟树木材构造对比研究[J].西部林业科学,2019,48(6):15-20.
- [3] 胡玉安,何梅,王玉,等.樟树剩余物制备重组木工艺与性能研究[J].林业工程学报,2016,1(5):36-39.
- [4] 王娜,王凯旋,李静,等.樟树叶片水溶性粗多糖提取及抗氧化活性研究[J].北方园艺,2010(24):70-73.
- [5] 熊振宇,肖复明,徐旭,等.植物药用成分龙脑的药学活性研究[J].中国中药杂志,2013,38(6):786-790.
- [6] 赵晓霞,董振浩,刘光斌,等.香樟树籽油提取及其在化妆品中的应用[J].应用化工,2013,42(9):1620-1623.
- [7] 肖祖飞,吕雄伟,张北红,等.成年芳樟一叶一芽茎段扦插生根研究[J].浙江林业科技,2020,40(5):28-34.
- [8] 温军,黄庆,黄任泽.香樟组织培养及工厂化育苗技术研究[J].绿色科技,2016(15):98-101.
- [9] 叶润燕,童再康,张俊红,等.樟树茎段组培快繁[J].浙江农林大学学报,2016,33(1):177-182.
- [10] 周丽华,蔡燕灵,曾令海,等.樟树优良家系的组培育苗技术研究[J].热带作物学报,2013,34(1):67-73.
- [11] 李素华,韩浩章,张丽华. BA和KT对香樟茎段腋芽诱导的影响[J].安徽农学通报,2016,22(17):29-30.
- [12] 何月秋,王建军.香樟涌金的组织培养和植株再生[J].南方农业学报,2015,46(1):96-100.
- [13] 吴幼媚,王以红,陈晓明,等.芳樟醇型樟树组培快繁优化技术[J].林业科技开发,2010,24(6):78-81.
- [14] 蔡玲,吴幼媚,姚瑞玲,等.樟脑型樟树组培单芽生根及移栽技术[J].林业科技开发,2014,28(4):96-98.
- [15] 刘秀芳,林文革,苏明华.龙脑樟(*Cinnamomum camphora*)组培快繁与苗木工厂化生产技术研究[J].植物研究,2011,31(5):569-574.
- [16] 王锋,秦静远,何高社.秦岭太白山南方红豆杉组织培养条件研究[J].山西农业科学,2017,45(7):1072-1074.
- [17] 曹剑,黄志伟.毛叶木姜子组织培养中无菌苗建立的初探[J].种子,2020,39(1):146-151.
- [18] 李利娟,孙艳艳,张龙,等.‘云想容’海棠茎段组织培养技术[J].北方园艺,2021(7):66-72.
- [19] 刘国丽,龚娜,杨光.刺五加组织培养快繁技术研究[J].北方果树,2020(2):12-14.
- [20] 刘均利,吴斌,刘海鹰,等.毛叶木姜子的组织培养与快速繁殖[J].西部林业科学,2020,49(3):21-28.
- [21] 戴小英,刘新亮,章挺,等.樟树胚性愈伤组织诱导与体胚发生研究[J].江西农业大学学报,2019,41(6):1120-1129.
- [22] 杨柳,林立彬,李志辉.樟树胚萌发早期影响因素及植株再生[J].中南林业科技大学学报,2020,40(3):60-70.
- [23] 辜夕容,黄建国,杨庆.香樟离体培养体系的构建初探[J].中国农学通报,2005,21(2):97-100.
- [24] 戴小英,章挺,汪信东,等.樟树组织培养技术研究进展[J].江西农业大学学报,2017,39(5):900-906.
- [25] 戴小英,熊璐瑶,伍艳芳,等.不同因素对黄樟组培苗移栽成活的影响[J].南方林业科学,2021,49(1):28-31,43.

the LD₅₀ value of safflowers of *B. variegata* ethanol extract was 30.34 g/kg and the 95% average confidence limit was 27.97 – 32.91 g/kg. The LD₅₀ value of pink flowers of *B. variegata* ethanol extract was 33.79 g/kg and the 95% average confidence limit was 30.43 – 37.53 g/kg. The LD₅₀ value of white flowers of *B. variegata* ethanol extract was 30.24 g/kg and the 95% average confidence limit was 27.11 – 33.73 g/kg. According to the WHO oral acute toxicity grading standard of exogenous compounds, the LD₅₀ value of three kinds of *B. variegata* ethanol extracts in mice were all greater than 15 g/kg in one oral administration, and the toxicity was classified as non-toxic. The above results provide a scientific basis for the development and utilization of edible flower of *B. variegata*.

Key words: *Bauhinia variegata*; nutrient composition; amino acid; acute toxicity; edibility

责任编辑:唐淑芬

(上接第 68 页 Continued from page 68)

Study on Tissue Culture Technology of Stem Segment of *Cinnamomum camphora* ‘Ganning 1’

XIAO Zufei, XING Mengxue, WEI Xi, ZHANG Beihong, WANG Yanbo, LI Feng, JIN Zhinong
(Jiangxi Provincial Engineering Research Center of Seed-breeding and Utilization of Camphor Trees, Nanchang Institute of Technology, Nanchang, Jiangxi, 330099, China)

Abstract: The tissue culture technology of stem segment of *Cinnamomum camphora* ‘Ganning 1’ was established to provide a theoretical basis for its seedling propagation. In this experiment, the branches of *C. camphora* ‘Ganning 1’ were used as materials to study the effects of lignification degree of branches, collection month of explants, disinfection time and growth regulators on stem tissue culture of *C. camphora* ‘Ganning 1’ by plant tissue culture technology. The results showed that the pollution rate and browning rate of stems increased with the increase of lignification degree of branches, and the germination rate decreased with the increase of lignification degree of branches. In May, the 1-year-old semi-lignified bud stem segments of *C. camphora* ‘Ganning 1’ were collected and disinfected with mass concentration 0.1% HgCl₂ for 5 min. The germination rate, pollution rate and browning rate of stem segments were low. The most suitable medium for stem segment germination of *C. camphora* ‘Ganning 1’ was Murashige and Skoog (MS) + 1.2 mg/L 6-benzylaminopurine (6-BA) + 0.1 mg/L indole-3-butyric acid (IBA), the germination rate was 66.67%. The most suitable medium for multiplication was MS + 2.0 mg/L 6-BA + 0.1 mg/L IBA, the multiplication coefficient was 4.06. The suitable medium for rooting was 1/2 MS + 2.0 mg/L IBA, and the rooting rate reached 100%. After 11 – 14 days of rooting culture and 7 – 10 days of seedling training in greenhouse, the transplanting survival rate of tissue culture seedlings could reach 90.06%. The establishment of the above technical conditions for tissue culture can effectively improve the axillary bud germination rate of stem segment of *C. camphora* ‘Ganning 1’, the increment rate and rooting rate of tissue culture seedlings, and lay the foundation for the factory seedling of *C. camphora* ‘Ganning 1’.

Key words: *Cinnamomum camphora* ‘Ganning 1’; tissue culture; stem segment; growth regulator; germination rate; rooting rate

责任编辑:米慧芝