

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201611034

引文格式: 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  
SU J, XIAN KH, FU CM, et al. Tissue culture and rapid propagation technique of the superior tree from *Paulownia fortunei* [J]. *Guihaia*, 2017, 37(11):1386-1394

## 白花泡桐优树组织培养及产业化快繁技术

苏江, 洗康华, 付传明, 黄宁珍, 黄惠锦, 何金祥\*

(广西喀斯特植物保育与恢复生态学重点实验室, 广西壮族自治区广西植物研究所, 广西桂林 541006)  
中国科学院

**摘要:** 以自选育的白花泡桐优树茎段为外植体, 进行种苗组培快繁技术研究。结果表明: 其最佳的外植体灭菌方法是以 0.1% 升汞处理 7 min; 合适的初代诱导培养基为 MS+6-BA 2.0 mg · L<sup>-1</sup>+IBA 0.2 mg · L<sup>-1</sup>+糖 30 g · L<sup>-1</sup>+琼脂 3.5 g · L<sup>-1</sup>(pH 5.8), 培养 30 d, 芽诱导率 70%; 合适的继代增殖方法为在高浓度植物生长物质培养基 MS+6-BA 4.0 mg · L<sup>-1</sup>+IBA 0.4 mg · L<sup>-1</sup>+蔗糖 30 g · L<sup>-1</sup>+琼脂 3.5 g · L<sup>-1</sup>(pH 5.8) 和低浓度植物生长物质培养基 MS+6-BA 0.4 mg · L<sup>-1</sup>+IBA 0.04 mg · L<sup>-1</sup>+蔗糖 30 g · L<sup>-1</sup>+琼脂 3.5 g · L<sup>-1</sup>(pH 5.8) 中交替培养, 获得的丛生芽长势良好, 玻璃化率低于 5%, 增殖系数大于 6.0/25 d; 最适的生根培养基为 1/2MS+NAA 0.2 mg · L<sup>-1</sup>+蔗糖 20 g · L<sup>-1</sup>+卡拉胶 3.4 g · L<sup>-1</sup>(pH 5.8), 培养 14 d, 得到白花泡桐生根苗, 每株长根 5~10 条, 根长 3~5 cm, 生根率 98%, 根系洁白、根毛少而短, 易于清洗。将生根苗按照常规方法炼苗后移栽于温室大棚中, 50 d 后即可出圃, 此时平均苗高 1.0 m、地径 1.0~2.0 cm, 成活率在 90% 以上。

**关键词:** 白花泡桐, 组织培养, 快繁技术, 培养基

中图分类号: Q943.1, Q813.1 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2017)11-1386-09

## Tissue culture and rapid propagation technique of the superior tree from *Paulownia fortunei*

SU Jiang, XIAN Kang-Hua, FU Chuan-Ming, HUANG Ning-Zhen,  
HUANG Hui-Jin, HE Jin-Xiang\*

(Guangxi Key Laboratory of Plant Conservation and Restoration Ecology in Karst Terrain, Guangxi Institute of Botany,  
Guangxi Zhuang Autonomous Region and Chinese Academy of Sciences, Guilin 541006, Guangxi, China)

**Abstract:** Using excellent stem segments of *Paulownia fortunei* as explants, tissue culture and rapid propagation technique for *P. fortunei* were studied in this paper. The results showed that the optimal sterilization time of 0.1% HgCl<sub>2</sub> was

收稿日期: 2017-04-06 修回日期: 2017-04-29

基金项目: 广西科技创新能力与条件建设计划项目(2015ED32065); 广西喀斯特植物保育与恢复生态学重点实验室项目(GKB15-A-31, 16-A-03-01); 桂林市科学研究与技术开发计划项目(20170108-5)[Supported by Program of Guangxi Science and Technology Innovation Ability and Condition Construction (2015ED32065); Guangxi Key Laboratory of Plant Conservation and Restoration Ecology in Terrain (GKB15-A-31, 16-A-03-01); Program of Guilin Scientific Research and Technology Development (20170108-5)]。

作者简介: 苏江(1988-), 男, 山东烟台人, 硕士, 研究实习员, 林木遗传改良专业, (E-mail) 731805771@qq.com。

\*通信作者: 何金祥, 研究员, 植物保护专业, (E-mail) 45257545@qq.com。

7 m; the suitable primary induction medium was MS+ 6-BA 2.0 mg · L<sup>-1</sup>+ IBA 0.2 mg · L<sup>-1</sup>+ sucrose 30 g · L<sup>-1</sup>+ agar 3.5 g · L<sup>-1</sup>(pH 5.8), 30 d later, bud induction rate was 70%; the suitable method for multiplication culture was MS+ 6-BA 4.0 mg · L<sup>-1</sup>+ IBA 0.4 mg · L<sup>-1</sup>+ sucrose 30 g · L<sup>-1</sup>+ agar 3.5 g · L<sup>-1</sup>(pH 5.8) and MS+ 6-BA 0.4 mg · L<sup>-1</sup>+ IBA 0.04 mg · L<sup>-1</sup>+ sucrose 30 g · L<sup>-1</sup>+ agar 3.5 g · L<sup>-1</sup>(pH 5.8) alternately, health and vitrification multiple shoots with this method was lower than 5%, multiplication factor was higher than 6.0/25 d; the optimal medium for rooting was 1/2MS + NAA 0.2 mg · L<sup>-1</sup>+ sucrose 20 g · L<sup>-1</sup>+ carrageenan 3.4 g · L<sup>-1</sup>(pH 5.8), 14 d later, the rooting seedlings were obtained, rooting number were 5–10, root length was 3–5 cm, the rooting rate was 98% and whose roots were white, with less and short hair, easy to clean. Through acclimatization, the rooting seedlings were transplanted in the greenhouse, 50 d later, whose average height was 1.0 m, ground diameter was 1.0–2.0 cm, and survival rate was above 90%.

**Key words:** *Paulownia fortunei*, tissue culture, rapid propagation technique, medium

我国是木材需求大国,自 1999 年以来,我国进口木材及其制品耗汇每年均在 100 亿美元以上(马花如,2011)。随着人类对环境保护意识的增强,我国对生态脆弱区的天然林实行了商品性禁伐,对国有林区实行了减产限伐,进一步减少了我国木材供给,加剧了木材供需矛盾(马花如,2011)。尽管自 2002 年以来,我国把发展速生丰产林纳入林业六大工程,在一定程度上促进速生丰产林的进一步发展,但据统计,2003—2009 年间,我国营造速生丰产用材林平均生长量为 9~12 m<sup>3</sup> · hm<sup>-2</sup> · a<sup>-1</sup>,水平远低于新西兰、瑞典、巴西等国家的 30 m<sup>3</sup> · hm<sup>-2</sup> · a<sup>-1</sup>(陈桂英和吴宣明,2007)。因此,发展适合我国立地条件的速生丰产林树种,充分挖掘我国林地供给潜力,提高我国速生丰产用材林木材的产量和质量,对我国林业工程及经济发展具有重要意义。

泡桐为玄参科泡桐属(*Paulownia*)多年生落叶乔木,在我国分布较广(邢雅丽等,2013)。泡桐为良好的用材林树种,其材质轻软,易加工和干燥,尺寸稳定性好,很少开裂和变形,材质浅白,具有独特的丝绢光泽(邱乾栋等,2014)。白花泡桐是玄参科泡桐属的一个种,树高可达 20 m,生长快,抗性强,材质优良,是我国重要的速生用材和生态防护树种,在我国南方泡桐产区占有十分重要的地位(曲金柱等,2006;李芳东等,2010)。白花泡桐也是泡桐属内分布区域最为广泛的树种,由于悠久的栽培历史和分布区域内多变的生态条件,其种内变异十分丰富(罗江华等,2010)。由于泡桐属种间可天然杂交,自然形成的种子变异的可

能性较大,为保证母本的优良性状,埋根、埋条和组培等无性繁殖是泡桐优株繁殖的主要方式,但是埋根和埋条繁殖速度慢且需要较大的人力及占地面积,而通过组培快繁,既能够加快繁殖速度,又能够减少人力物力输出。本文的研究对象是从桂北地区自选育的一个白花泡桐优良株系,其突出的特点是(1)抗逆性好、适应性强、长江流域以南均可种植;(2)杆形好,定植头 1~2 a 内分枝少;(3)生长速度快,5~6 a 即可采伐、平均胸径 42 cm、平均亩产量 33 m<sup>3</sup>;(4)材质轻、韧性好、密度低、强度及抗弯强度大,经济价值较高。

虽然白花泡桐的种苗脱毒快繁技术目前已有报道,但不同的白花泡桐优良单株,其最优的组培脱毒技术和方法不同(李芳东等,2010)。本研究在参照前人研究成果、开展白花泡桐优良无性系种苗组培快繁研究中,发现仍存在一些需要解决的技术问题:一是在高浓度植物生长物质培养基上多次继代后,材料容易玻璃化,玻璃化率随着继代次数的增加而升高,大幅影响种苗质量、繁殖率、生根率和成活率;二是在低浓度植物生长物质增殖培养基上多次继代后,玻璃化率虽然降低,但繁殖速度慢,生长缓慢;三是组培苗在琼脂为支撑物的培养基上生根时,根系表面长出大量的长约 5 mm 的细绒毛,吸附大量的培养基,洗苗费工费时,且在洗苗时容易对种苗造成损伤,影响洗苗效率和移栽成活率。

针对上述问题,本研究以自选育的白花泡桐优良株系为对象,研究并完善其种苗组培快繁技术,为泡桐种苗的产业化生产提供技术支撑。

# 1 材料与amp;方法

## 1.1 植物材料

2015年5—6月份,从桂林植物园白花泡桐(*Paulownia fortunei*)优树种质园中,采集当年生嫩枝为外植体材料。

## 1.2 白花泡桐消毒、接种及初代培养

将白花泡桐当年生枝条置于质量浓度为1%的洗洁精水溶液中浸泡15 min,取出后用流水冲洗干净,再置于超净工作台上用体积浓度为70%的乙醇浸泡60 s,取出后再置于质量浓度为0.1%的 $\text{HgCl}_2$ 中浸泡灭菌,灭菌时间分别为5、6、7和8 min,取出后用无菌水清洗3~5次。将经过消毒处理的白花泡桐枝条剪切成含有1或2个腋芽的茎段,将茎段接种到初代诱导培养基中,每个处理30瓶,每瓶接种外植体1个,重复3次,两周后进行观测。

白花泡桐初代诱导培养基为MS+6-BA 1.0~3.0  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +IBA 0.2  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +蔗糖 30  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ +琼脂 3.5  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ (pH 5.8),6-BA取1.0、2.0、3.0  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 三个水平,共设计3个处理,接种时每个处理60瓶,每瓶接种白花泡桐茎段1个,重复3次;之后,置于温度(26±3)℃、光照时间10~12 h·d<sup>-1</sup>、光照强度40  $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 的条件下培养,每隔3~5 d观测记录材料的生长情况,及时清理污染材料,30 d后观察记录幼苗生长状态及诱导率。

## 1.3 白花泡桐增殖培养

将初代诱导培养基中获得的无菌幼苗剪成带有1~2个腋芽的茎段,接种于白花泡桐增殖培养基中进行增殖培养。

初步继代增殖培养试验设计:培养基为MS+6-BA 3.0~5.0  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +IBA 0.3~0.5  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +蔗糖 30  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ +琼脂 3.5  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ (pH5.8),6-BA取3.0、4.0、5.0  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 三个水平,IBA取0.3、0.4、0.5  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 三个水平,共设计9个处理,3次重复;筛选出适合的6-BA和IBA的浓度和配比。

后续的继代增殖培养试验设计:根据初筛实验,获得适合的6-BA和IBA的浓度和配比,但在这一条件下连续培养5代后,发现产生较多的玻

璃化材料,因此,保持6-BA与IBA浓度比例不变,降低二者的浓度进行后续的继代增殖培养试验。所采用的培养基为MS+6-BA 0.2~4.0  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +IBA 0.02~0.4  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +蔗糖 30  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ +琼脂 3.5  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ (pH 5.8),其中,6-BA和IBA的浓度组合分别为0.2和0.02、0.4和0.04、2.0和0.02、4.0和0.4  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,共设计4个处理,三次重复。上述每个处理10瓶,每瓶6个接种点,接种后置于温度(26±3)℃、光照时间10~12 h·d<sup>-1</sup>、光照强度40  $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 的条件下培养。每25 d为一代,连续进行6次继代。统计各个处理每一代的增殖系数、长势(叶片颜色、苗高及茎杆的粗细等)和玻璃化率等,分析植物生长物质浓度和继代次数对白花泡桐增殖培养的影响。

交替继代增殖培养试验设计:前述的继代增殖实验结果表明,不论在高6-BA和IBA浓度或低6-BA和IBA浓度的培养基上进行连续继代,均无法达到理想的增殖效果,还需对继代培养方案进行进一步改善。根据前述的继代实验结果,以高浓度植物生长物质增殖培养基MS+6-BA 4.0  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +IBA 0.4  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +蔗糖 30  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 和低浓度植物生长物质增殖培养基MS+6-BA 0.4  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +IBA 0.04  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +蔗糖 30  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 进行交替继代,每25 d为一代,连续6个世代,统计各个处理每一代的增殖系数、长势(叶片颜色、苗高及茎杆的粗细等)和玻璃化率等,以确定白花泡桐继代增殖培养方案。

## 1.4 白花泡桐组培苗生根培养及炼苗移栽

选择高浓度植物生长物质增殖培养基上培养所得的株高4 cm以上、植株正常粗壮的芽苗为生根材料,转入生根培养基中进行生根培养。生根培养基为1/2MS+NAA 0.1~0.3  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +蔗糖 20  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ +琼脂/卡拉胶 3.4  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ (pH5.8),NAA取0.1、0.2、0.3  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 三个水平,以琼脂和卡拉胶分为两个组,每组设计6个处理,每个处理10瓶,每瓶接种白花泡桐无根苗6株,重复3次。接种后,将材料置于温度(26±3)℃、光照时间10~12 h·d<sup>-1</sup>、光照强度40  $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 的培养室中培养;每隔3~5 d观测植株的生根情况,培养14 d后,观测统计各处理幼苗的根数、根长、根毛、生根率及

植株长势等。将所得的生根苗置于 70% 遮阴度的大棚中炼苗 5~7 d 后,取出并洗净根部培养基,移栽于装有消过毒的移栽基质(红壤土:泥碳土=2:1)的营养杯(12 cm × 12 cm)中,每个处理移栽 30 株、重复 3 次,在温室大棚培养 50 d 后,对比观察株高、地径及成活率等。

将低浓度植物生长物质增殖培养基上培养所得的株高 4 cm 以上、植株正常粗壮的芽苗为生根材料,按照上述方法,同时进行生根培养和炼苗移栽实验,以比较不同的继代增殖培养方式对白花泡桐组培苗生根和移栽的影响。

## 2 结果与分析

### 2.1 白花泡桐消毒、接种与初代培养

消毒灭菌试验表明,随着杀菌时间的延长,污染率逐渐降低,成活率先提高后下降,其中消毒 7 min 效果较好,成活率为 26.7%(表 1)。

表 1 不同杀菌时间对白花泡桐茎段成活率的影响  
Table 1 Effects of different sterilization time on survival rate of stem segments of *Paulownia fortunei*

0.1% 升汞 杀菌时间 0.1% HgCl <sub>2</sub> sterilization time (min)	接种数 Inoculation number	污染率 Contamination rate (%)	成活率 Survival rate (%)
5	60	83.3a	13.3c
6	60	71.7b	20.0b
7	60	68.3c	26.7a
8	60	56.7d	18.3b

注: 同列数字旁不同的小写字母表示在 0.05 水平有显著差异。下同。

Note: Different lowercase letters in the same column show that there are significant differences at the 0.05 levels between the different treatments. The same below.

白花泡桐初代诱导的目的是利用白花泡桐茎段腋芽抽生出健康幼苗,初代诱导结果表明,6-BA 浓度为 2.0 mg · L<sup>-1</sup> 和 IBA 浓度为 0.2 mg · L<sup>-1</sup> 的组合诱导效果较好(表 2, 图 1:A),诱导出的芽苗健壮,诱导率达到 70%,能够满足继代增殖的需求。

表 2 不同浓度 6-BA 和 IBA 组合对白花泡桐初代诱导的影响

Table 2 Effects of different concentrations and combinations of 6-BA and IBA on primary induction of *Paulownia fortunei*

处理号 Treatment No.	植物生长物质 Plant growth substance (mg · L <sup>-1</sup> )		30 d 后植株的生长状况 Plant growth status after 30 d	诱导率 Induction rate (%)
	6-BA	IBA		
1	1.0	0.2	植株矮小,叶片发黄,苗高 3~4 cm Dwarf plant, yellow leaves, plant height 3-4 cm	62.6c
2	2.0	0.2	植株健壮,叶片鲜绿,苗高 4~5 cm Strong plant, green leaves, plant height 4-5 cm	70.1a
3	3.0	0.2	植株健壮,叶片鲜绿,苗高 4~5 cm Strong plant, green leaves, plant height 4-5 cm	64.7b

6-BA 和 IBA 浓度过低,生长慢、芽诱导率低;浓度过高,则产生大量的愈伤组织,芽诱导在一定程度上受到抑制。

### 2.2 白花泡桐增殖培养

初步的增殖培养研究表明,不同浓度组合的 6-BA 和 IBA 对白花泡桐生长和增殖的影响明显不同(表 3)。其中,当 6-BA 浓度为 4.0 mg · L<sup>-1</sup>、IBA 浓度为 0.4 mg · L<sup>-1</sup> 时,白花泡桐增殖系数达到最大值(7.0/25 d),所培养出的材料较好,顶枯、死亡或玻璃化苗很少,而且所得幼苗均匀健壮,叶片鲜绿,茎秆相对较粗,苗高达到 8.1 cm,是较为适宜的白花泡桐增殖培养基;在 6-BA 和 IBA 浓度配比失当的培养基上,不仅增殖系数变低,还会出现一定数量的死亡和顶枯材料,且植株高矮不齐、长势比较凌乱;在 6-BA 和 IBA 配比合适但浓度较低或较高的培养基上,芽生长较慢,增殖系数低。因此,白花泡桐继代增殖培养基中 6-BA 和 IBA 的合适比例为 10:1,两者初始的最佳浓度组合为 6-BA 4.0 mg · L<sup>-1</sup>+IBA 0.4 mg · L<sup>-1</sup>。

然而,进一步的继代培养研究(表 4)发现,在

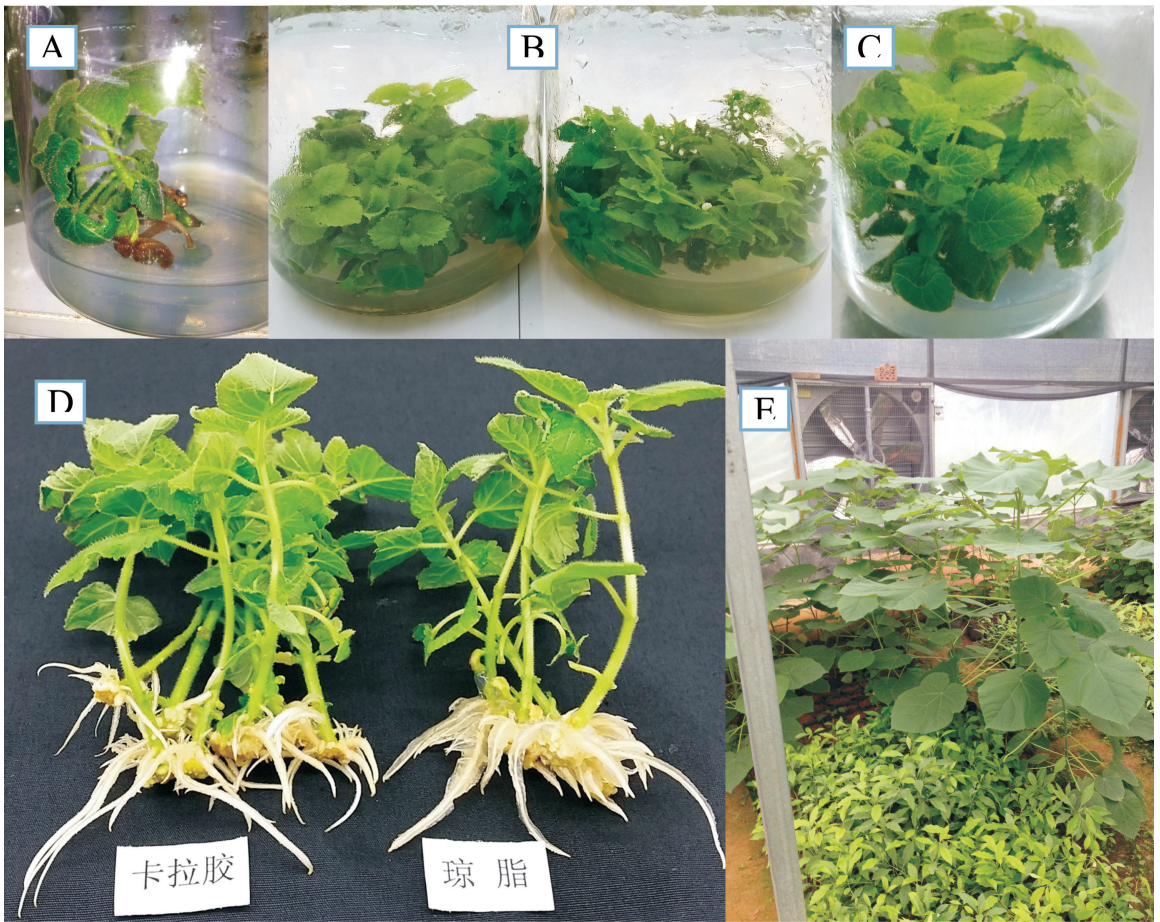


图 1 白花泡桐组织快繁过程 A. 初代诱导芽苗; B. 在 MS+6-BA  $4.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +IBA  $0.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 上继代培养获得的芽苗; C. 在 MS+6-BA  $0.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +IBA  $0.04 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 继代培养获得的芽苗; D. 以卡拉胶和琼脂为支撑物进行生根培养获得的水洗生根苗; E. 组培苗移栽于大棚。

Fig. 1 Tissue and rapid propagation process of *Paulownia fortunei* A. Bud getting from primary inducing culture; B. Plantlets growing on subculture medium of MS+6-BA  $4.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  + IBA  $0.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ; C. Seedlings growing on subculture medium of MS+6-BA  $0.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +IBA  $0.04 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ; D. Washing root seedlings getting from rooting media with carrageenan and agar as support respectively; E. Tissue culture plantlets which transplanted in the greenhouse.

保持 6-BA 和 IBA 的比例 (10 : 1) 不变的前提下, 当白花泡桐在 6-BA  $2.0 \sim 4.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、IBA  $0.2 \sim 0.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  浓度下连续继代多代, 玻璃化率随着继代次数的增加而增高, 到第 5 代时玻璃化率超过 20%; 同时, 由于玻璃化产生大量的无效材料, 增殖系数则随着继代次数的增加而降低。在 6-BA  $0.2 \sim 0.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、IBA  $0.02 \sim 0.04 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的浓度下连续培养多代, 玻璃化率普遍较低 (低于 2.0%), 未随继代次数的增加而产生改变; 增殖系数除了第 1~2 代较高外, 后续世代均比较低。因

此, 不论在高 6-BA 和 IBA 浓度或低 6-BA 和 IBA 浓度的培养基上进行连续继代, 均无法达到理想的增殖效果, 因此, 还需对白花泡桐继代培养方案进行进一步改善。

在高浓度植物生长物质培养基 MS+6-BA  $4.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +IBA  $0.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +蔗糖  $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ +琼脂  $3.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  (pH 5.8) 和低浓度植物生长物质培养基 MS+6-BA  $0.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +IBA  $0.04 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +蔗糖  $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ +琼脂  $3.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  (pH 5.8) 交替培养 (表 5) 结果显示, 通过多次交替继代培养后, 材料玻璃化

表 3 6-BA 和 IBA 浓度和组合对白花泡桐生长和增殖的影响

Table 3 Effects of concentrations and combinations of 6-BA and IBA on growth and proliferation of *Paulownia fortunei*

处理号 Treatment No.	植物生长物质 Plant growth substance ( $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )		苗高 Plant height (cm)	叶片颜色 Leaf color	增殖系数 Multiplication factor
	6-BA	IBA			
1	3.0	0.3	6.82c	淡绿色 Light green	4.4c
2	3.0	0.4	7.15bc	鲜绿色 Fresh green	4.6c
3	3.0	0.5	7.54b	淡绿色 Light green	4.3c
4	4.0	0.3	7.26bc	鲜绿色 Fresh green	6.1b
5	4.0	0.4	8.11a	鲜绿色 Fresh green	7.0a
6	4.0	0.5	8.23a	淡绿色 Light green	5.9b
7	5.0	0.3	5.26de	黄绿色 Yellow-green	3.2d
8	5.0	0.4	5.72d	黄绿色 Yellow-green	3.0d
9	5.0	0.5	5.17e	黄绿色 Yellow-green	3.1d

表 4 不同培养基上连续继代增殖对白花泡桐生长和增殖的影响

Table 4 Effects of different media on growth and proliferation of *Paulownia fortunei* during continuous subculture

处理号 Treatment No.	培养基 Medium	世代 Generation	玻璃化率 Vitrification rate (%)	增殖系数 Multiplication factor
1	MS + 6-BA4.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + IBA 0.4 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + 蔗糖 30 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ + 琼脂 3.5 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ MS + 6-BA4.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + IBA 0.4 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + sucrose 30 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ + agar 3.5 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	1	2.8f	7.0a
		2	5.6e	6.6b
		3	8.9d	5.2c
		4	20.2c	3.6d
		5	27.4b	3.0e
		6	36.1a	2.0f
2	MS + 6-BA2.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + IBA 0.2 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + 蔗糖 30 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ + 琼脂 3.5 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ MS + 6-BA2.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + IBA 0.2 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + sucrose 30 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ + agar 3.5 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	1	2.3f	5.6a
		2	4.0e	5.3a
		3	7.8d	4.5b
		4	14.4c	3.9c
		5	23.4b	3.0d
		6	28.2a	2.5e
3	MS + 6-BA0.4 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + IBA 0.04 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + 蔗糖 30 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ + 琼脂 3.5 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ MS + 6-BA0.4 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + IBA 0.04 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + sucrose 30 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ + agar 3.5 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	1	1.6a	5.0a
		2	1.7a	4.2b
		3	1.7a	3.0c
		4	2.1a	3.1c
		5	1.8a	3.0c
		6	1.8a	3.2c
4	MS + 6-BA0.2 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + IBA 0.02 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + 蔗糖 30 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ + 琼脂 3.5 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ MS + 6-BA0.2 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + IBA 0.02 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + sucrose 30 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ + agar 3.5 $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	1	1.6a	3.8a
		2	1.1a	2.6b
		3	1.1a	2.5b
		4	1.7a	2.6b
		5	1.3a	2.4b
		6	1.3a	2.5b

表 5 高低浓度植物生长物质培养基交替培养对白花泡桐生长和增殖的影响  
Table 5 Effects of alternate culture in media with high and low concentrations of plant growth substance on growth and proliferation of *Paulownia fortunei*

世代 Generation	培养基 Medium	玻璃化率 Vitrification rate (%)	增殖系数 Multiplication factor	均值 Mean value
1	MS + 6-BA4.0 mg · L <sup>-1</sup> + IBA 0.4 mg · L <sup>-1</sup> + 蔗糖 30 g · L <sup>-1</sup> + 琼脂 3.5 g · L <sup>-1</sup> MS + 6-BA4.0 mg · L <sup>-1</sup> + IBA 0.4 mg · L <sup>-1</sup> + sucrose 30 g · L <sup>-1</sup> + agar 3.5 g · L <sup>-1</sup>	2.8a	7.1a	6.5
2	MS + 6-BA0.4 mg · L <sup>-1</sup> + IBA 0.04 mg · L <sup>-1</sup> + 蔗糖 30 g · L <sup>-1</sup> + 琼脂 3.5 g · L <sup>-1</sup> MS + 6-BA0.4 mg · L <sup>-1</sup> + IBA 0.04 mg · L <sup>-1</sup> + sucrose 30 g · L <sup>-1</sup> + agar 3.5 g · L <sup>-1</sup>	1.1b	5.8b	
3	MS + 6-BA4.0 mg · L <sup>-1</sup> + IBA 0.4 mg · L <sup>-1</sup> + 蔗糖 30 g · L <sup>-1</sup> + 琼脂 3.5 g · L <sup>-1</sup> MS + 6-BA4.0 mg · L <sup>-1</sup> + IBA 0.4 mg · L <sup>-1</sup> + sucrose 30 g · L <sup>-1</sup> + agar 3.5 g · L <sup>-1</sup>	4.5a	6.7a	6.2
4	MS + 6-BA0.4 mg · L <sup>-1</sup> + IBA 0.04 mg · L <sup>-1</sup> + 蔗糖 30 g · L <sup>-1</sup> + 琼脂 3.5 g · L <sup>-1</sup> MS + 6-BA0.4 mg · L <sup>-1</sup> + IBA 0.04 mg · L <sup>-1</sup> + sucrose 30 g · L <sup>-1</sup> + agar 3.5 g · L <sup>-1</sup>	3.9a	5.6b	
5	MS + 6-BA4.0 mg · L <sup>-1</sup> + IBA 0.4 mg · L <sup>-1</sup> + 蔗糖 30 g · L <sup>-1</sup> + 琼脂 3.5 g · L <sup>-1</sup> MS + 6-BA4.0 mg · L <sup>-1</sup> + IBA 0.4 mg · L <sup>-1</sup> + sucrose 30 g · L <sup>-1</sup> + agar 3.5 g · L <sup>-1</sup>	4.5a	6.8a	6.3
6	MS + 6-BA0.4 mg · L <sup>-1</sup> + IBA 0.04 mg · L <sup>-1</sup> + 蔗糖 30 g · L <sup>-1</sup> + 琼脂 3.5 g · L <sup>-1</sup> MS + 6-BA0.4 mg · L <sup>-1</sup> + IBA 0.04 mg · L <sup>-1</sup> + sucrose 30 g · L <sup>-1</sup> + agar 3.5 g · L <sup>-1</sup>	3.9a	5.8b	

表 6 高低浓度植物生长物质增殖培养所得的白花泡桐组培苗的生根情况  
Table 6 Rooting condition of *Paulownia fortunei* seedlings from different subculture media

组别 Group	处理 Treatment	固化剂 Curing agent	NAA (mg · L <sup>-1</sup> )	根长 Root length (cm)	根的条数 Number of root	生根率 Rooting rate (%)	根毛 Root hair
I *	1	卡拉胶 Carrageenan	0.1	3.25a	6.6a	93.3b	少 Less
	2	卡拉胶 Carrageenan	0.2	4.03a	8.2a	98.0a	少 Less
	3	卡拉胶 Carrageenan	0.3	3.51a	6.4a	91.5b	少 Less
	4	琼脂 Agar	0.1	3.33a	7.0a	92.2b	多 More
	5	琼脂 Agar	0.2	4.10a	7.8a	98.5a	多 More
	6	琼脂 Agar	0.3	3.62a	6.5a	93.4b	多 More
II *	1	卡拉胶 Carrageenan	0.1	3.41a	6.6a	90.3b	少 Less
	2	卡拉胶 Carrageenan	0.2	4.43a	7.9a	98.2a	少 Less
	3	卡拉胶 Carrageenan	0.3	3.71a	6.3a	92.3b	少 Less
	4	琼脂 Agar	0.1	3.8a	7.7a	93.1b	多 More
	5	琼脂 Agar	0.2	4.6a	8.1a	98.7a	多 More
	6	琼脂 Agar	0.3	3.7a	6.7a	95.0b	多 More

注: I \* 生根材料来自高浓度植物生长物质增殖培养基; II \* 生根材料来自低浓度植物生长物质增殖培养基。

Note: I \* Seedlings from the media with high concentration of plant growth substance; II \* Seedlings from the media with low concentration of plant growth substance.

率没有明显升高,每一代的玻璃化率都在 5% 以下;增殖系数在高浓度植物生长物质培养基中保

持在 7.0 左右(图 1:B),在低浓度植物生长物质培养基中为 5.8 左右(图 1:C),每两代取平均值在

6.0 以上。可见,此方案在降低玻璃化率的同时维持较高的增殖系数,因此是较为适用的白花泡桐继代增殖培养方法。

### 2.3 白花泡桐组培苗生根培养

通过生根培养实验结果(表 6)发现,白花泡桐比较容易生根,在所有的生根培养基中,生根率都在 90% 以上。生根率、生根条数和根长不受材料来源(不论原来是培养于高浓度或低浓度的 6-BA 和 IBA 的继代培养基中)、培养基中的固体支撑物种类(琼脂或卡拉胶)所影响;同时, NAA 浓度对根长和生根根条数也无明显影响;但当培养基中 NAA 浓度为  $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  时,生根率明显高于其它处理,为 98%。因此,确定 NAA  $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  为较适宜白花泡桐组培苗生根的生长素浓度。

本研究还发现,以琼脂为固体支撑物的生根培养基培养出的白花泡桐生根苗,根系上长有大量密集长约 0.5 cm 的绒毛,这些绒毛牢牢附着大量的培养基,洗苗时很难洗净,移栽后组培苗很容易被污染而死亡;而利用卡拉胶作为生根培养基的固体支撑物,植株基部愈伤团变小,根系上绒毛的生长受到抑制,绒毛少且短,生根苗清洗方便快捷,省时省工省力,更利于种苗的产业化生产(图 1:D)。因此,白花泡桐适合的生根培养基配方为  $1/2\text{MS}+\text{NAA } 0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}+\text{蔗糖 } 20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}+\text{卡拉胶 } 3.4 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

### 2.4 白花泡桐组培苗炼苗移栽

将不同生根培养实验所得的生根苗,炼苗 5~7 d 后,移栽于温室大棚中。50 d 后观测发现,所有生根苗(不论生根材料是来源于高浓度或低浓度植物生长物质的继代培养基中)的移栽成活率、株高和直径增长均没有明显差别,它们的平均成活率均在 90% 以上,平均株高为 1.10 m,平均地径为 1.4 cm(图 1:E)。

## 3 讨论与结论

白花泡桐种苗组培繁育研究已有零星报道。史保新(2005)在白花泡桐体细胞胚胎发生及植株再生的研究中发现,白花泡桐叶片和茎段胚性愈伤组织诱导的最适培养基分别为  $\text{MS}+6\text{-BA } 14.0$

$\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}+\text{NAA } 0.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  和  $\text{MS}+6\text{-BA } 8.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}+\text{NAA } 0.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,叶片的体细胞胚胎发育能力均高于茎段。邓建军等(2011)在白花泡桐优树试管嫁接幼化及组培快繁技术研究中发现,所研究的白花泡桐优树组培快繁最佳继代培养基为  $1/2 \text{ MS}+6\text{-BA } 6.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}+\text{NAA } 0.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,繁殖系数  $4.65/25 \text{ d}$ ;最佳生根培养基为  $1/2 \text{ MS}+\text{NAA } 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,培养 20 d 生根率 85%。李芳东等(2010)在对 13 个不同的白花泡桐优树进行组培快繁研究中发现,白花泡桐最适继代增殖培养基为  $1/2 \text{ MS}+6\text{-BA } 4.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}+\text{NAA } 0.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,生根培养基为  $1/2 \text{ MS}+\text{NAA } 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ;不同的优树在上述最适增殖培养基中增殖系数不同,变化幅度  $1.50\sim 5.57/30 \text{ d}$ 。王和乐等(2003)通过研究提供了改良白花泡桐组培快繁的初代( $\text{MS}+6\text{-BA } 0.6\sim 0.8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}+\text{NAA } 0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )、增殖( $\text{MS}+6\text{-BA } 2.5\sim 4.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}+\text{NAA } 0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )和生根培养基( $1/2 \text{ MS}+\text{NAA } 0.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  或  $\text{IBA } 0.3\sim 0.5$ ),生根培养 15~20 d,生根率 100%,繁殖系数未明。上述这些研究各有侧重点,所提供的数据和结果也不尽相同,未能对白花泡桐种苗组培快繁过程提供比较系统、详细及完整的技术资料。

本研究在前人的研究基础上,从外植体消毒、初代培养、继代增殖和生根培养四个与种苗快繁相关的环节,对自选育的白花泡桐优树进行种苗组培快繁研究,获得了与前人不同的研究经验和结果。首先,在外植体消毒过程中发现,由于白花泡桐嫩枝茎节中空,消毒灭菌时升汞渗入茎杆内部,从而对其造成伤害,导致污染率和死亡均比较高(江香梅等,2009);采用从基部整枝切下、整枝消毒的方法,利用隔层将中空的内腔与外部隔绝,避免了内腔在消毒前后暴露于空气、洗涤液和消毒液中,使得消毒成功率和成活率大大提高。

其次,在初代诱导培养过程中发现,培养基中 6-BA 和 IBA 浓度过低,芽诱导率低、生长慢;浓度过高,则产生大量的愈伤组织,芽生长受到抑制;比较合适的 6-BA 和 IBA 浓度为 2.0 和  $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

第三,在继代增殖培养过程中发现,在同一浓度植物生长物质的培养基上长期继代,如果植物生长物质浓度偏高,则产生比较多的玻璃化材料,



浓度偏低、则生长速度和繁殖速度下降;长期使用较高浓度的植物生长物质可能是组织培养中玻璃化产生的一个主要原因(Kevers et al, 1986;周音等, 2000);针对这一问题,采用植物生长物质高浓度(6-BA  $4.0\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、IBA  $0.4\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )和低浓度(6-BA  $0.4\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、IBA  $0.04\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ )交替培养的方法,获得了增殖系数大于6.0/25d的良好效果,在保证白花泡桐增殖效率的同时解决了白花泡桐组培苗玻璃化严重的问题;这一增殖效果与江香梅等(2009)相似,但高于曲金柱等(2006)所得的增殖系数。

第四,在生根培养研究中发现,白花泡桐的最佳生根培养为 $1/2\text{MS}+\text{NAA } 0.2\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ;但当以琼脂为支撑物时,苗基部会产生较大的愈伤团,长成的根系上有很多根毛,附着较多培养基,极不容易清洗;而以卡拉胶作为培养基支撑物时,植株基部的愈伤团变小,长成的根系根毛少且短,移栽时清洗容易,省工省时,降低了洗苗过程中的机械损伤,保证较高的移栽成活率。上述研究结果和经验为该白花泡桐优株种苗组培快繁产业化提供技术支撑,也为白花泡桐其它优株和泡桐属其它种的组培快繁研究提供参考。

## 参考文献:

- CHEN GY, WU XM, 2007. Fast growing and high yield forest construction must be accelerated [J]. Heilongjiang Sci Technol Inform, (17): 153. [陈桂英, 吴宣明, 2007. 速生丰产林建设必须加速 [J]. 黑龙江科技信息, (17): 153.]
- DENG JJ, LI FD, QIAO J, et al, 2011. The research on graft rejuvenation in test tubes and tissue rapid propagation technology of the *Paulownia fortunei* superior trees [J]. For Res, 25(5): 646-650. [邓建军, 李芳东, 乔杰, 等, 2011. 白花泡桐优树组织培养幼化技术研究 [J]. 林业科学研究, 25(5): 646-650.]
- JIANG XM, DAI XY, WEN Q, et al, 2009. Establishment of high effect regeneration system of tissue culture for three improved clones in *Paulownia fortunei* [J]. Jiangxi For Sci Technol, (2): 11-14. [江香梅, 戴小英, 温强, 等, 2009. “桐优1”等泡桐优良无性系组培高效繁育体系建立 [J]. 江西林业科技, (2): 11-14.]
- KEVERS C, COUMANS M, GASPAR T, 1986. Physiological and biochemical events leading to vitrification of plant culture in vitro [J]. Physiol Plant, (61): 69-74.
- LI FD, DENG JJ, ZHANG Y, et al, 2010. Study on tissue culture rejuvenation technology of the *Paulownia fortunei* superior trees [J]. J Centr S Univ For Technol, 30(8): 22-28. [李芳东, 邓建军, 张悦, 等, 2010. 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, 30(8): 22-28.]
- LUO JH, LI K, ENTOMACK · BORRATHYBAY, 2010. Research progress on *Paulownia fortunei* [J]. Guizhou Agric Sci, 38(4): 200-202. [罗江华, 李科, 恩特马克·布拉提白, 2010. 白花泡桐的研究进展 [J]. 贵州农业科学, 38(4): 200-202.]
- MA HR, 2011. A study on the development potential of fast-growing and high-yielding plantation in China [D]. Beijing: Beijing Forest University: 1-155. [马花如, 2011. 我国速生丰产用材林发展潜力研究 [D]. 北京: 北京林业大学: 1-155.]
- QIU QD, MO WJ, WANG N, et al, 2014. Selection of excellent wood color *Paulownia fortunei* individuals [J]. For Res, 27(2): 277-283. [邱乾栋, 莫文娟, 王楠, 等, 2014. 白花泡桐材色优良单株的选择 [J]. 林业科学研究, 27(2): 277-283.]
- QU JZ, CUI B, MA J, et al, 2006. The induction and regeneration of *Paulownia fortunei* petiole callus [J]. J Xinyang Norm Univ, 19(4): 407-410. [曲金柱, 崔波, 马杰, 等, 2006. 白花泡桐叶柄愈伤组织再生植株的诱导与培养 [J]. 信阳师范学院学报, 19(4): 407-410.]
- SHI BX, 2005. Embryogenesis and plant regeneration of somatic cell from *Paulownia fortunei* [J]. Agric Henan, 6: 18-19. [史保新, 2005. 白花泡桐体细胞胚胎发生及植株再生 [J]. 河南农业, 6: 18-19.]
- WANG HL, HONG ZX, CUI H, et al, 2003. Tissue culture and rapid propagation of improved *Paulownia fortunei* [J]. Bu Agric Sci Technol, (2): 18. [王和乐, 洪志霞, 崔惠等, 2003. 改良白花泡桐组织培养及快速繁殖 [J]. 农业科技通讯, (2): 18.]
- XING YL, BI LW, ZHAO ZD, et al, 2013. The research progress of the chemical composition and resource distribution on *Paulownia* [J]. Chem Ind For Prod, 6: 135-140. [邢雅丽, 毕良武, 赵振东, 等, 2013. 泡桐植物资源分布及化学成分研究进展 [J]. 林产化学与工业, 6: 135-140.]
- ZHOU Y, ZHANG ZQ, ZHANG JJ, et al, 2000. Study on overcoming the glass seedling in the process of genetic transformation of lettuce [J]. Jilin J Agric, 22(2): 62-64. [周音, 张智奇, 张建军, 等, 2000. 生菜遗传转化过程中克服玻璃苗的研究 [J]. 吉林农业学报, 22(2): 62-64.]