

文章编号: 1001-7380(2015)03-0040-03

# 金焰彩栎组织培养技术研究

蒋泽平, 张 敏

(江苏省林业科学研究院, 江苏 南京 211153)

**摘要:** 通过正交试验等方法开展的金焰彩栎离体培养技术研究结果表明: 从金焰彩栎播种后生长3个月的苗上选取外植体, 经过0.1% HgCl<sub>2</sub>消毒5 min, 灭菌成活率为86.8%; 改良MS培养基附加BA、NAA、IBA、IAA等植物生长调节剂可有效促进试管芽苗增殖和生根, 其中BA 0.02 mg/L + IBA 0.02 mg/L + NAA 0.03 mg/L + IAA 0.08 mg/L组合培养基为最适宜的继代培养基, 增殖倍数达3.8, 生长高度为4.8 cm; 带根试管苗移栽于泥炭(V): 黄心土(V) = 6:4的混合基质, 控制温度23~30℃, 相对湿度85%, 保湿10~15 d, 其间适当遮荫, 20 d后成活率达92.8%。

**关键词:** 金焰彩栎; 植株再生; 离体培养

中图分类号: S688; Q813.1+2 文献标识码: A doi: 10.3969/j.issn.1001-7380.2015.03.010

## The *in vitro* tissue culture of *Koelreuteria bipinnata* var *integrifoliola* 'Jinyancailuan'

JIANG Ze-ping, ZHANG Min

(Jiangsu Academy of forestry, Nanjing 211153, China)

**Abstract:** We studied the technology of *in vitro* tissue culture of *Koelreuteria bipinnata* var *integrifoliola* 'Jinyancailuan' by orthogonal test. The results showed that after disinfection with 0.1% HgCl<sub>2</sub> for 5 min, the survival rate of the explants excised from three-month old seedlings could reach 86.8%. The modified MS media supplemented with BA, NAA, IBA or IAA could elevate effectively the tube shoot proliferation and rooting rate, among which, the medium containing 0.02 mg/L BA + 0.02 mg/L IBA + 0.03 mg/L NAA + 0.08 mg/L IAA was most suitable for subculture with proliferation rate of 3.8 and inoculated plantlets height of 4.8 cm. After transferred into the mixed substrate composed of peat and yellow soil (6:4, V/V), the rooted plantlets could gain the survival of 92.8% 20 d later in case of temperature controlled at 23~30℃, relative humidity of 85%, moisturizing lasted for 10~15 d with proper shading.

**Key words:** *Koelreuteria bipinnata* var *integrifoliola* 'Jinyancailuan'; Plant regeneration; *In vitro* culture

黄山栎树, 为无患子科(Sapindaceae) 栎树属(*Koelreuteria*) 树种, 枝叶茂密, 树形优美。春季, 红叶引人注目, 夏秋黄叶耀眼, 秋果紫红, 酷似灯笼, 奇特美丽, 具有较强的绿化、观赏价值<sup>[1-2]</sup>。前人在其播种繁殖、芽苗移栽技术<sup>[3-7]</sup>、种子脂肪分析、果实维生素含量、叶清除自由基活性物质的分离和制备、体细胞胚的发生和组织学观察等方面开展了研究<sup>[8-12]</sup>。金焰彩栎(*Koelreuteria bipinnata* var *integrifoliola* 'Jinyancailuan') 是在黄山栎树中选出的优良品种, 其主要特性是树干或枝条呈黄色, 春季新芽、

叶呈桔红色, 夏季叶呈黄绿色, 秋叶呈金黄色, 具有很高的园艺观赏价值<sup>[13]</sup>。在现有技术中, 主要采用嫁接方法进行繁殖, 尚未有组织培养技术研究的报道<sup>[13]</sup>。本文对金焰彩栎组织培养技术进行了探索, 试图加快规模化繁育速度, 满足园林绿化市场和林业生态建设的需求。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

试验选择江苏省林业科学研究院选育的金焰彩

收稿日期: 2015-03-24; 修回日期: 2015-04-10

基金项目: 江苏省科技支撑(农业)项目“彩叶栎树新品种选育(BE2013450)”; 江苏省林业三新工程项目“金焰彩栎新品种区域试验与种苗快繁技术”(LYSX[2014]03)

作者简介: 蒋泽平(1963-), 男, 江苏丹阳人, 研究员, 主要从事林木花卉良种选育和植物组织培养技术研究。

栎新品种 秋季采种后经冬季沙藏,早春播种于含有泥炭基质的育苗盘中,3个月后选择生长健壮的小苗作为试验材料。

### 1.2 外植体灭菌

采用生长健壮高15~20 cm的播种苗为外植体,然后将选取的外植体剪切成长2~4 cm的带腋芽茎段,经70%酒精消毒30 s,然后置于消毒液中。消毒液分别采用A<sub>1</sub>(17%的H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>溶液)、A<sub>2</sub>(0.1% HgCl<sub>2</sub>溶液)、A<sub>3</sub>[10% Ca(ClO<sub>2</sub>)<sub>2</sub>溶液];消毒时间分别采用B<sub>1</sub>(3 min)、B<sub>2</sub>(5 min)、B<sub>3</sub>(8 min),采用随机区组排列,表面消毒后用无菌水冲洗3~5次,沥干水后迅速将带腋芽的茎段接到诱导培养基中,每瓶接1个,每次20瓶,每组重复3次,30 d后统计污染率、死亡率和成活率。

### 1.3 植物生长调节剂正交继代培养试验

诱导出的不定芽长至1~2 cm左右时,切下接入增殖培养基中继代培养。以改良MS为基本培养基和BA 0.02 mg/L的基础上,选定NAA(0.01, 0.03, 0.05 mg/L)、IBA(0.02, 0.04, 0.06 mg/L)、IAA(0.03, 0.05, 0.08 mg/L)3种植物生长调节剂进行L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>)正交试验<sup>[12]</sup>,接种培养30~40 d时观测试管芽苗增殖倍数、芽苗生长高度及生根情况。

### 1.4 组织培养苗移栽管理

试管苗移栽试验方法是将已生根的试管苗,移栽于泥炭(V):黄心土(V)分别为6:4,5:5,7:3的混合基质中,控制温度25~30℃,相对湿度85%~90%,遮荫保湿10~15 d,20 d后统计成活率。

所有培养基均加入3%的白砂糖和0.6%卡拉胶,pH值为5.8,培养室温度设置为有光照时为26~28℃,黑暗时为20~22℃,光照度2 000 lx左右,光照时间12 h/d。

### 1.5 统计分析

试验获得的数据采用SPSS 17软件进行方差分析,Duncan's法进行多重比较。

## 2 结果与分析

### 2.1 消毒方法对金焰彩栎外植体消毒效果的影响

药剂和消毒时间对外植体灭菌效果试验结果(见表1)表明:不同消毒剂与消毒时间组合处理间的灭菌效果差异显著。说明金焰彩栎外植体灭菌应考虑消毒的时间和消毒的药剂才有助于提高成活

率。本试验以A<sub>2</sub>B<sub>3</sub>处理效果最好,即0.1% HgCl<sub>2</sub>消毒5 min的成活率达86.8%。

表1 不同消毒剂种类及其组合和不同消毒时间对外植体的影响

处理	消毒剂	消毒时间/min	污染率/%	死亡率/%	成活率/%
A <sub>1</sub> B <sub>1</sub>	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	3	87.2	0.0	12.8
A <sub>1</sub> B <sub>2</sub>	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	5	80.8	0.0	19.2
A <sub>1</sub> B <sub>3</sub>	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	8	81.5	0.0	18.5
A <sub>2</sub> B <sub>1</sub>	HgCl <sub>2</sub>	3	68.2	0.0	31.8
A <sub>2</sub> B <sub>2</sub>	HgCl <sub>2</sub>	5	31.0	7.1	61.9
A <sub>2</sub> B <sub>3</sub>	HgCl <sub>2</sub>	8	5.2	8.0	86.8
A <sub>3</sub> B <sub>1</sub>	Ca(ClO) <sub>2</sub>	3	95.8	0.0	4.2
A <sub>3</sub> B <sub>2</sub>	Ca(ClO) <sub>2</sub>	5	86.1	0.0	13.9
A <sub>3</sub> B <sub>3</sub>	Ca(ClO) <sub>2</sub>	8	81.3	0.0	18.7

### 2.2 植物生长调节剂正交组合对金焰彩栎试管苗生长的影响

植物生长调节剂正交组合对金焰彩栎试管苗生长的影响试验结果(见表2)表明,在改良MS培养基附加BA 0.02 mg/L条件下,添加NAA、IBA、IAA不同质量浓度试验,对金焰彩栎的试管苗增殖、高生长、根系生长都有影响,其中增殖倍数最差的是NAA 0.01 mg/L + IBA 0.02 mg/L + IAA 0.03 mg/L组合,为1.8倍,最佳的为NAA 0.03 mg/L + IBA 0.02 mg/L + IAA 0.08 mg/L组合,达3.8倍;生长高度最差的是NAA 0.05 mg/L + IBA 0.06 mg/L + IAA 0.08 mg/L组合,只有2.3 cm,最好的是NAA 0.03 mg/L + IBA 0.02 mg/L + IAA 0.08 mg/L组合;每个试管苗平均根数最差的是NAA 0.05 mg/L + IBA 0.06 mg/L + IAA 0.08 mg/L,只有3.0条,最好的是NAA 0.03 mg/L + IBA 0.02 mg/L + IAA 0.08 mg/L,达6.5条;平均根长度最差的是NAA 0.05 mg/L + IBA 0.06 mg/L + IAA 0.08 mg/L组合,只有2.2 cm;最佳的是NAA 0.03 mg/L + IBA 0.02 mg/L + IAA 0.08 mg/L组合,达4.2 cm。

综上所述,改良MS + BA 0.02 mg/L + NAA 0.03 mg/L + IBA 0.02 mg/L + IAA 0.08 mg/L组合继代培养效果最佳,增殖倍数达3.8,生长高度4.8 cm,平均每个试管苗的生根数为6.5条,平均根长为4.2 cm。

表 2 金焰彩栎继代培养的正交试验结果

组合号	A ( NAA) /mg/L	B ( IBA) /mg/L	C ( IAA) /mg/L	增殖倍数 /倍	高度 /cm	根长数 /条	平均根长 /cm
1	0.01	0.02	0.03	1.8 d	3.1 c	3.1 d	2.8 c
2	0.01	0.04	0.08	2.3 c	3.3 c	4.0 c	3.0 b
3	0.01	0.06	0.05	2.6 c	3.9 b	5.7 b	3.6 a
4	0.03	0.02	0.08	3.8 a	4.8 a	6.5 a	4.2 a
5	0.03	0.04	0.05	3.2 a	4.5 a	5.9 a	3.8 a
6	0.03	0.06	0.03	3.0 b	3.7 b	5.3 b	3.2 b
7	0.05	0.02	0.03	2.8 b	3.2 c	4.1 c	2.7 c
8	0.05	0.04	0.05	2.5 c	2.7 d	3.2 d	2.6 c
9	0.05	0.06	0.08	2.1 d	2.3 d	3.0 d	2.2 d

LSD 多重比较 ,同列中不同小写字母表示在 5% 水平上差异显著。

2.3 金焰彩栎组织培养苗的移栽

移栽试验结果表明 ,采用改良 MS + BA 0.02 mg/L + NAA 0.03 mg/L + IBA 0.02 mg/L + IAA 0.08 mg/L 培养的生根试管苗 ,在相同条件下 ,基质对金焰彩栎试管苗移栽成活有影响。成活所需时间 ,成活率都有明显差异。表 3 也表明 ,混合基质中泥炭的比例稍高有利于移栽成活 ,但是比例过高又会降低成活率 ,而泥炭( V) : 黄心土( V) = 6: 4 的混合基质 ,移栽苗成活所需时间 20 d ,成活率为 92.8% ,为最佳配比的基质。

表 3 2 种基质比对金焰彩栎试管苗移栽成活的影响

组合	成活所需时间 /d	成活率 /%
7:3	25	87.5 b
5:5	32	84.4 b
6:4	20	92.8 a

LSD 多重比较 ,同列中不同小写字母表示在 5% 水平上差异显著。

3 小结

(1) 在本试验中 ,采用 0.1% HgCl<sub>2</sub> 消毒 5 min 的组织培养苗成活率达 86.8% ,效果较好。

(2) 在前期试验中发现 ,采用先增殖后生根的培养方式进行组织培养繁殖时 ,金焰彩栎试管苗容易发生落叶退化 ,继而无法继代的情况 ,本试验采用的是根芽同长、一步成苗的的方式继代增殖 ,效果较好。在本试验条件下 ,金焰彩栎芽苗继代最佳组合为改良 MS + BA 0.02 mg/L + IBA 0.02 mg/L + NAA 0.03 mg/L + IAA 0.08 mg/L + 白砂糖 3.0% 。

(3) 在本试验条件下 ,金焰彩栎组织培养苗移

栽基质以泥炭与黄心土容积比为 6:4 最好。温度控制在 23 ~ 30 ℃ 之间 ,湿度在移栽前后 5 ~ 7 d 控制在 92% 以上 ,7 d 后控制在 85% ~ 90% ,20 d 即可成活 ,成活率达 92.8% 。

参考文献:

[1] 陈有民. 园林树木学[M]. 北京: 中国林业出版社, 2004: 548.

[2] 浙江植物志编辑委员会. 浙江植物志: 4 卷. [M]. 杭州: 浙江科技出版社, 1993: 88.

[3] 孙居文, 张运吉, 李可贵. 黄山栎树的特性及其播种育苗技术[J]. 山东林业科技, 2002( 22) : 41-42.

[4] 韩新华, 黄洁玉. 栎树属植物的引种栽培[J]. 河南科学, 1996( 17) : 162-164.

[5] 李桂山. 黄山栎树育苗及造林技术[J]. 安徽林业科技, 2005( 22) : 33.

[6] 陈洪滨, 周维冲. 黄山栎树芽苗移栽技术[J]. 现代农业科技, 2009( 20) : 219.

[7] 李秀芹, 张欢婷, 张国斌. 黄山栎树大苗培育技术[J]. 林业实用技术, 2006( 12) : 38-39.

[8] 冯大领, 李 伟, 张 洁, 等. 黄山栎树体细胞胚的发生和组织学观察[J]. 植物生理学通讯, 2009, 45( 9) : 855-858.

[9] Yokozawa T, Chen C P, Dong E, et al. Study on the inhibitory effect of tannins and flavonoids against the 1, 1'-diphenyl-2-picrylhydrazyl radical[J]. Biochemical Pharmacology, 1998, 56( 2) : 213-222.

[10] 陆瑞利, 胡丰林, 丁晓娟, 等. 黄山栎树叶中具有清除自由基活性物质的分离和制备[J]. 安徽农业大学学报, 2004, 31( 2) : 207-211.

[11] 虞祖权, 陈万章, 仇才楼, 等. 黄山栎树引种实验初报[J]. 江苏林业科技, 2003, 30( 1) : 9-13.

[12] 王治斌, 李 军. 回归方法在枫杨散生木优选中的应用[J]. 湖北林业科技, 1990, 74( 4) : 17-20.

[13] 董筱昀, 黄利斌. ‘金焰彩栎’嫁接苗年生长规律研究[J]. 江苏林业科技, 2014, 41( 2) : 20-23, 27.