

# 苦楝组织培养与快速繁殖技术研究

蒋淑磊<sup>1,2</sup> 李振勤<sup>1,2</sup> 李志斌<sup>1,2</sup> 白雪霞<sup>1,2</sup>

(1.石家庄市农林科学研究院 河北 石家庄 050041 2.石家庄市花卉工程技术研究中心 河北 石家庄 050041)

**摘要** :以新生顶芽茎段为试验材料,筛选苦楝组织培养的最佳培养基配方,建立苦楝快繁技术体系。结果表明:最适启动培养基为 WPM+0.25mg/L NAA+0.5mg/L TDZ,增殖培养基为 WPM+1.5mg/L NAA+1.5mg/L 6-BA,生根培养基为 1/2WPM+0.5mg/L IBA+0.1mg/L NAA+0.5g/L AC(活性炭),炼苗移栽基质以腐质土和蛭石混合 2:1 效果最好,成活率达 95%。

**关键词** :苦楝 组织培养 快速繁殖

中图分类号 S792.33 文献标识码 A 文章编号 :1002-3356(2018)02-0030-03

DOI:10.16449/j.cnki.issn1002-3356.2018.02.009

## Research Progress on Tissue Culture and Rapid Propagation of *Melia azedarach*

JIANG Shu-lei, LI Zhen-qin, LI Zhi-bin, BAI Xiao-xia

(1.Shijiazhuang Academy of Agricultural and Forestry Sciences, Shijiazhuang Hebei 050081, China;

2.Shijiazhuang Flower Engineering Technology Research Center, Shijiazhuang Hebei 050081, China)

**Abstract** :With stem segment of newborn terminal were used experimental materials, selection of the best culture medium for the tissue culture, we will establish a tissue culture and rapid propagation system of *Melia azedarach*. The results are as following :The optimum medium for bud induction was WPM+0.25mg/L NAA+0.5 mg/L TDZ; The optimum combination of multiplication culture was WPM+1.5mg/L NAA+1.5mg/L 6-BA ;1/2WPM+0.5mg/L IBA+0.1mg/L NAA+0.5g/L AC is available to culture rooting. Using the transplanting matrix was humus soil vermiculite=2:1 the survival rate was maximal for 95% with the ideal of seedling also was the best.

**Key words** : *Melia azedarach* ; Tissue culture ; Rapid propagation

苦楝(*Melia azedarach*)属于楝科(*Meliaceae*)楝属(*Melia*),是河北优良乡土树种,具有耐干旱、瘠薄、抗风、耐烟尘、抗二氧化硫的特性,是重要四旁绿化及速生树种。苦楝果乙醇和乙酸乙酯提取物对美国白蛾幼虫具有明显的拒食、生长抑制和触杀作用<sup>[1]</sup>,是植物源杀虫剂原料树种<sup>[2-4]</sup>。

我国对苦楝种质资源、资源开发利用等方面的研究取得了一定进展。程诗明等学者从遗传资源学角度,阐述了国内外近几十年来对苦楝在资源分布、物候、生化水平变异、种源选择与良种选育、种质资源研究、资源开发利用等方面的研究进展,提出高效合理开发苦楝资源的建议<sup>[5]</sup>。廖柏勇等利用相关序列扩增多态性(SRAP)分子标记对来自 17 个省(区)的 31 个苦楝种源进行遗传多样性分析,为苦楝种质资源的保存和育种计划的制订提供依

据,推测我国苦楝遗传多样性起源中心或许存在于 2 类不同种源的生态过渡区<sup>[6]</sup>。苦楝繁殖方面以播种繁殖为主。播种繁殖工作量较大,繁殖时间较长,难以满足大规模生产的要求<sup>[7]</sup>,组织培养方面的研究也有涉及<sup>[8]</sup>,但是增殖系数和生根率不高。本文开展苦楝组培快繁技术研究,在借鉴前者研究人员研究基础上,进一步提高苦楝增殖系数和生根率,为苦楝的工厂化生产提供有效途径和大量材料。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

于 2016 年 4 月在石家庄市农林科学研究院资源圃采取,以生长健壮,无病虫害 1a 生实生苗为试验材料。

### 1.2 试验方法

收稿日期 2018-03-16

基金项目:石家庄科技支撑项目“优良乡土树种苦楝组培快繁及容器育苗技术研究”(161520142A)。

作者简介:蒋淑磊(1984-),女,博士,助理研究员。研究方向:园林植物遗传育种。

### 1.2.1 外植体处理

选取新生茎段,去除叶片,将枝条剪成约2cm小段,用洗洁精溶液浸泡10min,流水冲洗1.5h。在无菌条件下,用75%酒精消毒30s,再用0.1%HgCl<sub>2</sub>溶液消毒处理,共设4个处理时间(3、4、5、6min),分别用无菌水冲洗4~5次。

### 1.2.2 启动培养

以WPM为基本培养基,外加IBA、NAA和TDZ不同浓度的生长调节剂,选择对苦楝芽启动培养的适宜浓度,所配制培养基中均含蔗糖30g/L,琼脂6.5g/L,pH6.5~6.8。试验共设9个处理,每个处理重复3次,每个重复10瓶,每瓶接种5个外植体。

### 1.2.3 增殖培养

以WPM为基本培养基,外加不同浓度的生长调节剂,探索IBA、NAA、6-BA和ZT对苦楝芽诱导的适宜浓度,进而选取最适宜的培养基。试验共设7个处理,每个处理重复3次,每个重复10瓶,每瓶接种5个不定芽。所有培养基中均含有蔗糖30g/L,琼脂6.5g/L,pH6.5~6.8。

### 1.2.4 生根培养

选用1/2WPM为基本培养基,蔗糖20g/L,琼脂6.5g/L,pH6.5~6.8,以附加AC(活性炭)与无添加AC进行比较,同时添加不同浓度的IBA、NAA。将诱导出的不定芽剪去基部愈伤组织后,接入生根培养基中诱导生根。试验共设13个处理,每个处理重复3次,每个重复10瓶,每瓶接种2个不定芽。

### 1.2.5 炼苗移栽

移栽前将生根的组培苗连瓶从无菌培养室转移到普通试验室,放置5d后将瓶盖打开缝隙,在室内锻炼3d,再将瓶口完全揭开,继续炼苗4~5d。移栽时,将苗从培养瓶中取出,用自来水洗掉根部的培养基,把根浸泡在0.2%的多菌灵溶液中2min,栽入不同基质中,每个处理为60株生根组培苗,30d

后观察苗的成活率和生长情况。

### 1.3 数据收集与处理

外植体接入培养基后每5d观察1次,培养30d时进行统计。

启动率=启动个数/接种外植体个数×100%

增殖系数=统计时芽体总数/接种时不定芽个数  
增殖率=产生丛生芽的个数/接种时不定芽个数

×100%

生根率=生根的苗数/接种时的总苗数×100%

成活率=成活的苗数/移栽时的总苗数×100%

利用SPSS21数据处理系统进行数据分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 外植体灭菌处理

本研究通过75%酒精灭菌后,对HgCl<sub>2</sub>的灭菌时间根据不同的外植体幼嫩程度,设计了不同灭菌时间,幼嫩的外植体升汞灭菌时间是3min,较幼嫩的4~5min即可得到无菌苗。

### 2.2 不同植物生长调节剂对启动培养的影响

不同浓度植物生长调节剂组合启动培养30d后,各处理均有明显的生长差异。分别对各处理幼苗数和生长情况进行统计,不同植物激素对苦楝组培苗的启动影响不同(表1)。

在试验中,相同浓度的IBA、NAA添加同浓度TDZ对苦楝组培苗芽启动培养的影响有差异,NAA的效果明显高于IBA,芽苗的生长也比较健壮。相同浓度的NAA添加不同浓度的TDZ对苦楝的启动培养有显著影响,而相同浓度的IBA添加不同浓度的TDZ效果不如NAA。结果表明,添加NAA启动培养效果明显高于IBA,而随着添加TDZ浓度的增加,获得的无菌苗数量率明显提高。由此可见,最有利于苦楝组培苗启动培养基为处理4,WPM+0.25mg/L NAA+0.5mg/L TDZ。

表1 不同植物生长调节剂组合启动培养

处理	培养基	无菌苗数量/株	启动率/%	生长情况
1	WPM	0	0	无启动
2	WPM+0.25mg/L NAA+0.1mg/L TDZ	0	0	0
3	WPM+0.25mg/L NAA+0.3mg/L TDZ	13	26	生长较慢,健壮
4	WPM+0.25mg/L NAA+0.5mg/L TDZ	14	28	健壮
5	WPM+0.25mg/L IBA+0.3mg/L TDZ	10	20	苗较健壮
6	WPM+0.25mg/L IBA+0.5mg/L TDZ	12	24	苗细弱,有黄化现象
7	WPM+0.25mg/L IBA+0.2mg/L TDZ	11	22	苗细弱
8	WPM+0.2mg/L IBA+0.2mg/L TDZ	0	0	0
9	WPM+0.2mg/L NAA+0.2mg/L TDZ	12	24	苗较健壮

2.2 不同浓度植物生长调节剂组合对增殖培养的影响  
 在不同浓度植物生长调节剂组合培养基中增殖培养 60d 后, 7 个处理均有明显的生长差异。分别对各处理增殖率、增殖系数和生长情况进行统计, 不同植物激素对苦楝组培苗的增殖影响有所不同(表 2)。而试验中 IBA、NAA、6-BA 和 ZT 对苦楝组培苗芽增殖培养的影响有差异, 处理 3、5 比较, 添加相同浓

度的 NAA 和 IBA 对增殖率影响不大, 但添加 NAA 苗生长质量高于 IBA。从处理 2、3、4 可以看出 6-BA 随着浓度的提高, 增殖率增高, 增殖倍数提高, 增殖苗质量情况也随之提高。同样浓度的 IBA 附加同浓度 6-BA 和 ZT 附加 ZT 增殖倍数较高, 但增殖苗有轻度的玻璃化。由此可见, 最有利于苦楝组培苗增殖培养基为处理 4, WPM+1.5mg/L NAA+1.5mg/L 6-BA。

表 2 不同植物生长调节剂组合增殖培养

处理	培养基	增殖率/%	增殖系数	生长情况
1	WPM	0	0	无增殖生长
2	WPM+1.0mg/L NAA+0.5mg/L 6-BA	82.53	4.68	苗生长慢, 苗质量较差
3	WPM+1.0mg/L NAA+1.5mg/L 6-BA	87.32	4.89	苗生长慢, 苗质量较好
4	WPM+1.5mg/L NAA+1.5mg/L 6-BA	95.21	7.68	苗生长健壮, 质量好
5	WPM+1.0mg/L IBA+1.5mg/L 6-BA	88.64	5.32	苗生长慢, 苗质量较差
6	WPM+1.0mg/L IBA +1.5mg/L ZT	93.02	7.03	苗生长健壮, 有轻度玻璃化
7	WPM+1.5mg/L IBA+2.0mg/L ZT	97.67	7.96	苗细弱, 有玻璃化现象

2.3 不同浓度植物生长调节剂组合对生根培养影响  
 试验结果表明(表 3): AC(活性炭)对组培苗的生根率和平均生根数的影响显著。在含有 AC 的生根培养基中苦楝生根效果好。组培苗在 NAA 和 IBA 的组合中有明显生根现象, 而且随着 IBA 浓度的升

高, 生根率和生根条数都有明显的增加, 当 IBA 增加到 0.5mg/L 时出现了明显的生根, 生根数较多。所以综合筛选得出的最佳生根培养基为 1/2WPM+0.5mg/L IBA+0.1mg/L NAA+0.5g/L AC+白砂糖 20g/L+琼脂 6.5g/L, pH 值调至 6.5~6.8。

表 3 不同植物生长调节剂组合生根培养结果

处理	培养基	平均生根率/%	平均根数/条	生长情况
1	WPM	0	0	无生根苗
2	1/2WPM+0.2mg/L IBA+0.1mg/L NAA	78.54	3.02	生根少, 苗较弱
3	1/2WPM+0.5mg/L IBA+0.1mg/L NAA	81.88	3.98	生根较少, 苗较弱
4	1/2WPM+0.8mg/L IBA+0.1mg/L NAA	84.67	4.78	生根较多, 有增殖现象
5	1/2WPM+0.2mg/L IBA+0.1mg/L NAA+0.5g/L AC	86.42	4.86	生根较多, 苗较细弱
6	1/2WPM+0.5mg/L IBA+0.1mg/L NAA+0.5g/L AC	93.34	5.67	生根多, 苗壮
7	1/2WPM+0.8mg/L IBA+0.1mg/L NAA+0.5g/L AC	87.56	4.78	生根较少, 苗较弱
8	1/2WPM+0.2mg/L IBA+0.2mg/L NAA	80.11	3.91	生根较多, 苗细弱
9	1/2WPM+0.5mg/L IBA+0.2mg/L NAA	80.12	5.46	生根较多, 有较少增殖
10	1/2WPM+0.8mg/L IBA+0.2mg/L NAA	83.24	4.84	生根多, 有增殖现象
11	1/2WPM+0.2mg/L IBA+0.2mg/L NAA+0.5g/L AC	83.85	4.01	生根较少, 苗细弱
12	1/2WPM+0.5mg/L IBA+0.2mg/L NAA+0.5g/L AC	90.32	5.01	生根较多, 苗壮
13	1/2WPM+0.8mg/L IBA+0.2mg/L NAA+0.5g/L AC	88.54	4.89	生根较少, 增殖较多

瓶内生根的组培苗在 4 种基质中的成活率存在很大差异(表 4)。结果表明, 最有利苦楝无菌苗移栽存活的基质为: 腐质土: 蛭石=2:1 的混合物, 其次是腐质土: 沙土=2:1 的混合物, 再次是腐质土, 园土

成活率最低, 腐质土和蛭石混合最有利于移栽苗的存活, 成活率达 95%。

表 4 移栽成活率

处理	基质	移栽苗数	成活率/%
1	园土	100	46
2	腐殖土	100	78
3	腐殖土+沙土=2:1	100	89
4	腐殖土+蛭石=2:1	100	95

### 3 结论与讨论

根据前人试验结果新生的顶芽出芽率高于带腋芽的茎段, 并且组培苗的生长状况也优于后者<sup>[8]</sup>, 在本试验中采用了新生幼嫩茎段作为外植体, 启动率达到了 28%, 为增殖培养提供了试验材料。

6-BA 是较常用的一种细胞 (下转第 38 页)

还能产生生长激素,促进植物地上部分和地下部分的生长,积累了更多的生物量<sup>[4]</sup>,并且可以提高植物的抗性,为樟子松良好生长打下了基础。吸水保水剂是一种高分子材料,具有较好的吸水性和保水性,在植物根系周围形成了集水区域,由于植物根系的吸水能力较强,可以直接吸收保水剂中的水分,为植物生长提供了水分,因此,吸水保水剂可以提高樟子松的成活率<sup>[5-6]</sup>。ABT 生根粉为高效广谱型植物生长调节剂,ABT 生根粉可以促进不定根的形成,提高植物的代谢功能,提高植物抗性,达到提高造林成活和生长量的目的<sup>[7]</sup>。总之,4 种生物制剂都有利于樟子松造林成活率的提高及幼苗生长,但是效果不同,其中 Pt3 菌根剂效果最好,建议在生产中推广。

(上接第 32 页)分裂素,能促进细胞发生分化获得植株增殖。在本试验中 6-BA 随添加浓度的增加,植株表现出较好的增殖,与张敬丽的研究结果 6-BA 只适合诱导迷人杜鹃外殖体生长而增殖效果很差并不一致,说明同一生长调节剂对不同的植物材料诱导效果完全不同。ZT 是一种常用的细胞分裂素,能促进细胞分化和生长,在本试验中增殖率高,但是增殖苗出现了玻璃化现象,推测因为 ZT 应用浓度较高,促进了细胞过度生长。NAA 和 IBA 是生长素,在组织培养中促进细胞生长,在低浓度下具有较强的细胞增殖作用。本试验中 NAA 比 IBA 增殖效果较好。

基质的物理性状及化学成分的不同,其保水性、保肥能力以及透气性就不同,对组培苗的移栽成活率和后期生长有着重要的影响。本试验中有利苦楝无菌苗移栽存活的基质为腐质土:蛭石=2:1 的混合基质,生根率达 95%,高于陈佳等研究的苦楝炼苗移栽时使用泥炭土与河沙 1:1 时成活率,也验证了组培苗在移栽过程中的基质透气有利于植株根的生长。

### 参 考 文 献

[1] 苏红霞,王志刚,黄大庄,等.苦楝果提取物对美国白蛾生物活性的影响[J].河北农业大学学报,2008,31(4):95-

### 参 考 文 献

- [1] 红玉,郭连生,德永军.樟子松在科尔沁沙地造林技术的研究[J].内蒙古农业大学学报,2003,24(2):33-39.
- [2] 朱教君,康宏樟,许美玲.科尔沁沙地南缘樟子松人工林天然更新障碍[J].生态学报,2007,27(10):4086-4095.
- [3] 寇纪烈,林平.造林苗木生根问题的研究[J].林业科技通讯,1998(2):8-11.
- [4] 工力华,韩桂石,李琳,等.菌根技术在沙地植被恢复中的研究[J].生态学杂志,2004,23(5):236-240.
- [5] 罗志斌,马焕成,饶成兵.保水剂及其在林业上的应用研究进展[J].林业科学研究,2002,15(5):620-626.
- [6] 工振宇,包怡红,金钟跃,等.生物活性保水剂对模拟沙化土地治理效果的分析[J].东北林业大学学报,2003(3):27-28.
- [7] 王涛.绿色植物生长调节剂应用技术论文集[C].北京:中国林业出版社,2000:555-563.

97,101

- [2] Xu H, Xiao X. Natural products-based insecticidal agents 4. Semisynthesis and insecticidal activity of novel esters of 2-chloropodophyllotoxin against *Mythimna separata* Walker in vivo [J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2009, 19(18):5415-5418.
- [3] Xu H, Xiao X, Wang Q. Natural products-based insecticidal agents 7. Semisynthesis and insecticidal activity of novel 4 $\alpha$ -alkoxy-2-chloropodophyllotoxin derivatives against *Mythimna separata* Walker in vivo [J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2010, 20(17):5009-5012.
- [4] Xu H, Zhang J L. Natural products-based insecticidal agents 9. Design semisynthesis and insecticidal activity of 28-acyloxy derivatives of toosendanin against *Mythimna separata* Walker in vivo [J]. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 2011, 21(7):1974-1977.
- [5] 程诗明,顾万春.苦楝遗传资源学研究进展及其展望[J].浙江林业科技,2007,27(2):64-69.
- [6] 廖柏勇,王芳,陈丽君,等.基于 SRAP 分子标记的苦楝种质资源遗传多样性分析[J].林业科学,2016,52(4):48-58.
- [7] 董玉峰,苟守华,姜岳忠,等.苦楝育苗与造林技术[J].山东林业科技,2012(5):84-87.
- [8] 陈佳,陈凌艳,陈礼光,等.苦楝组织培养技术研究[J].福建林学院学报,2014,34(1):48-51.