植物学通报 2002，19（1）：92～97
Chinese Bulletin of Botany

泡桐愈伤组织再生植株的诱导与培养①

[1]范国强 [1]翟晓巧 [2]李松林

[1]（河南农业大学泡桐研究所 河南郑州 450002） [2]（信阳市南湾试验林场 河南信阳 464031）

摘要 首先以MS为基本培养基从18个不同浓度的NAA和BA组合中，找出了毛泡桐（*Paulownia tomentosa*）、南方泡桐（*Pauiownia australis*）、白花泡桐（*Paulownia fortunei*）、兰考泡桐（*Paulownia elongata*）和豫杂一号泡桐（*Paulownia tomentosa* × *P. fortunei*）叶片愈伤组织诱导芽分化最适培养基分别为MS + 0.3NAA + 12 BA、MS + 0.3NAA + 12 BA、MS + 0.5NAA + 12 BA、MS + 0.5NAA + 12 BA和MS + 0.7NAA + 12 BA；然后，筛选出了5种泡桐芽诱导根的最适培养基（分别为1/2MS + 0.1NAA、1/2MS + 0.1NAA、1/2MS、1/2MS + 0.3 NAA和1/2MS + 0.5NAA）。这些结果为利用不同种泡桐的原生质体融合培育泡桐新品种奠定了一定的基础。

关键词 泡桐，愈伤组织，再生植株，培养基，激素

Plant Regeneration from Leaf Calli of *Paulownia* Plants

[1]FAN Guo-Qiang [1]ZHAI Xiao-Qiao [2]LI Song-Lin

[1]（*Institute of Paulownia*, *Henan Agricultural University*, Zhengzhou 450002）

[2]（*Nanwan Testing Forestry Station*, Xinyang 464031）

Abstract This paper deals with plant regeneration from leaf calli of *Paulownia tomentosa*, *P. australis*, *P. fortunei*, *P. elongata* and *P. tomentosa* × *P. fortunei*, which proliferated on MS basic medium with 18 combinations of NAA and 6-BA concentrations. The results indicates that those media which can best induce bud from leaf calli of the above five varieties are MS + 0.3 NAA + 12BA, MS + 0.3NAA + 12BA, MS + 0.5NAA + 12BA, MS + 0.5NAA + 12BA and MS + 0.7NAA + 12BA respectively. Then the buds of the above five varieties were placed on media to induce roots, and the best media are 1/2 MS + 0.1 NAA, 1/2 MS + 0.1NAA, 1/2 MS, 1/2 MS + 0.3NAA and 1/2 MS + 0.5NAA respectively. These results will assist the breeding of new vareities from different kinds of *Paulowuia* protoplasts.

Key words *Paulownia*, Callus, Plant Regeneration, Medium, Hormones

愈伤组织再生植株培养是林木原生质体植株再生和利用原生质体培育转基因苗不可缺少的重要环节。泡桐为我国的重要速生用材树种之一，虽然以前有人对白花泡桐原生质体再生植株作过研究（卫志明等，1991），但原生质体形成愈伤组织后没有获得大量的再生植株，并且不同种泡桐原生质体愈伤组织诱导和植株再生等方面存在一定的差异。本文系统研究了不同种泡桐叶片愈伤组织再生植株的培养条件，为不同种泡桐原生质体融合，从而培育泡桐新品种奠定了基础。

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t21-012

① 河南省自然科学基金重点资助项目（994011100）。
作者简介：范国强（1964～），男，河南禹州人，教授，博士后。
收稿日期：2001-02-14 接受日期：2001-06-05 责任编辑：姜联合

1　材料和方法

1.1　试验材料

实验材料为本研究所研究人员在 MS 基本培养基附加不同浓度 NAA 和 6-BA（其分别为 MS + 0.5 mg·L^{-1} NAA + 4 mg·L^{-1} 6-BA（以下简写为 MS + 0.5NAA + 4BA）、MS + 0.3NAA + 2BA、MS + 0.5NAA + 4BA、MS + 0.3NAA + 6BA 和 MS + 0.3NAA + 8 BA）的改良培养基上诱导出的毛泡桐（*Paulownia tomentosa* (Thunb.) Steud）、南方泡桐（*P. australis* Gong Tong）、兰考泡桐（*P. elongata* S. Y. Hu）、白花泡桐（*P. fortunei* (Seem) Hemsl）和豫杂一号泡桐（*P. tomentosa* × *P. fortunei*）无菌苗叶片的愈伤组织（如图版 1 A-E）。

1.2　试验方法

1.2.1　芽分化最适培养基的筛选　将以上 5 种泡桐叶片愈伤组织分别切成约 1.0 cm^3 的小块放入芽分化培养基（表 1）上。每瓶一块，每种 20 瓶。将不同种泡桐叶片愈伤组织放在光照强度为 1500 lx、光照时间为 12 h、温度为 28 ± 2 ℃条件下的培养箱内进行芽分化，第 20 天观察计算出芽的分化情况，根据芽形成的多少和生长情况，选出不同泡桐芽分化的最适培养基。

1.2.2　根诱导最适培养基的筛选　将在诱导芽培养基上生长的小芽从其茎的基部剪断并转移到生根培养基上，放入培养箱内观察生根情况（培养条件同上），挑选出不同种泡桐根诱导的最适培养基。

1.2.3　愈伤组织再生植株的培养与栽植　当泡桐幼苗的幼根在生根培养基上长到 3 cm 左右时，去掉三角瓶塞，在室内强光下锻炼 7 天，然后移入盛有蛭石（经 5% 的高锰酸钾消毒处理）的小花盆中，用适量营养液浇灌，上面罩以大烧杯，保持栽苗环境中有较高的空气湿度和稳定的温度，待苗木栽植 3 周后，小心移植到盛有较肥沃土壤的花盆中，放在室外观察其生长。

2　结果与分析

2.1　不同种泡桐叶片愈伤组织芽的分化

不同种泡桐叶片愈伤组织在培养基上诱导芽的结果如表 1。由表 1 可以看出，毛泡桐叶片愈伤组织在 MS 培养基上芽分化率随激素浓度的变化而不同。当 NAA 的浓度在 0.1 时，芽分化率随 BA 浓度的升高而下降；当 NAA 的浓度在 0.3 ~ 0.5 时，芽分化率随 BA 浓度的升高而升高；当 NAA 浓度为 0.7 时，随着 BA 浓度的增加，毛泡桐叶片愈伤组织芽分化率也逐渐增大；而当 NAA 的浓度在 0.9 ~ 1.1 范围内时，不同 BA 的浓度组合中，芽分化率为 0。当 BA 浓度为 8 时，随着 NAA 浓度的增加，叶片愈伤组织的芽分化率逐渐减小；当 BA 浓度为 10 和 12 时，叶片愈伤组织芽分化率随 NAA 浓度增加呈先升高而后下降的趋势，但二者随 BA 浓度增加，叶片愈伤组织芽分化的数量存在着差异。此外，随浓度增加芽分化率达到一定大小后变小的速率也不一致。从芽分化率看，毛泡桐叶片愈伤组织在 MS + 0.3NAA + 12 BA 培养基上芽分化率最高。因此，选此培养基为毛泡桐叶片愈伤组织芽分化的最适培养基。毛泡桐芽分化情况见图版 1-F。

https://www.cnki.net

表 1 不同种泡桐叶片愈伤组织在不同激素浓度培养基上芽诱导情况

Table 1 Bud proliferation from leaf calli of different *Paulownias* on media with various concentrations of hormones

激素浓度组合/mg·L⁻¹ Hormone concentration	毛泡桐 *P. tomentosa*			南方泡桐 *P. australis*			白花泡桐 *P. fortunei*			兰考泡桐 *P. elongata*			豫杂一号泡桐 *P. tomentosa* × *P. fortunei*		
	愈伤组织数 No of calli	分化芽块数 No of proliferation	分化率(%) Proliferation rate	愈伤组织数 No of calli	分化芽块数 No of proliferation	分化率(%) Proliferation rate	愈伤组织数 No of calli	分化芽块数 No of proliferation	分化率(%) Proliferation rate	愈伤组织数 No of calli	分化芽块数 No of proliferation	分化率(%) Proliferation rate	愈伤组织数 No of calli	分化芽块数 No of proliferation	分化率(%) Proliferation rate
0.1NAA + 8 BA	20	5	25.0	19	3	15.6	20	5	25.0	20	0	0	20	0	0
0.1NAA + 10BA	20	3	15.0	20	2	10.0	20	2	10.0	19	0	0	20	0	0
0.1NAA + 12BA	19	2	10.5	18	0	0	19	0	0	20	0	0	19	0	0
0.3NAA + 8 BA	20	3	15.0	20	10	50.0	20	0	0	20	0	0	18	0	0
0.3NAA + 10BA	18	15	83.3	20	15	75.0	18	10	55.6	18	0	0	20	5	25.0
0.3NAA + 12BA	19	18	94.7	19	19	100.0	20	19	95.0	19	5	41.6	20	8	40.0
0.5NAA + 8 BA	20	0	0	18	0	0	19	0	0	20	0	0	20	0	0
0.5NAA + 10BA	19	8	42.1	20	2	10.0	20	12	60.0	17	10	58.8	19	6	31.6
0.5NAA + 12BA	18	14	77.8	20	5	25.0	18	18	100.0	20	18	90.0	17	10	58.8
0.7NAA + 8 BA	20	0	0	20	0	0	20	0	0	19	0	0	20	0	0
0.7NAA + 10BA	19	2	10.5	19	0	0	20	5	25.0	20	13	65.0	18	10	55.5
0.7NAA + 12BA	17	5	29.4	20	2	10.0	19	10	52.6	20	15	75.0	20	18	90.0
0.9NAA + 8 BA	19	0	0	20	0	0	20	0	0	18	0	0	20	0	0
0.9NAA + 10BA	20	0	0	20	0	0	18	0	0	20	8	40.0	19	4	21.1
0.9NAA + 12BA	19	0	0	20	0	0	20	0	0	19	3	15.6	17	6	35.3
1.1NAA + 8 BA	20	0	0	20	0	0	17	0	0	17	0	0	18	0	0
1.1NAA + 10BA	20	0	0	19	0	0	20	0	0	20	0	0	20	0	0
1.1NAA + 12BA	18	0	0	18	0	0	20	0	0	19	0	0	20	0	0

南方泡桐叶片愈伤组织在 NAA 浓度为 0.1 时，芽分化率随着 BA 浓度的升高(由 8 到 12)而降低，在 NAA 浓度为 0.3 时,随 BA 浓度的升高而升高 在 NAA 浓度为 0.5 ~0.7，BA 浓度为 8 ~ 12 时，芽分化率较低；当 NAA 的浓度为 0.9 ~ 1.1 时，在 BA 的 3 个浓度组合中，芽分化率均为 0。比较南方泡桐叶片愈伤组织芽分化率可以看出，在 MS + 0.3NAA + 12 BA 的培养基上，叶片愈伤组织芽分化率最高,为了在愈伤组织上得到更多的泡桐芽，因此选此培养基为南方泡桐叶片愈伤组织诱导芽分化的最适培养基进行愈伤组织芽的分化。南方泡桐芽分化情况见图版 1-G。

白花泡桐叶片愈伤组织在 0.3 ~ 0.5NAA + 10 ~ 12 BA 的激素浓度组合中有较高的芽分化率。当 NAA 的浓度在 0.9 ~ 1.1 范围时,分别与 BA 的 3 种浓度组合培养基上芽分化率均为 0。从分化率的高低看,MS + 0.5NAA + 12 BA 的分化率最高,其次是 MS + 0.3NAA + 12 BA 培养基。因此,选以上两种培养基为白花泡桐叶片愈伤组织诱导芽分化的适宜培养基。其芽分化情况见图版 1-H。

http://www.yiigle.com/doi/10.3724/CBB-t21-012

兰考泡桐叶片愈伤组织 NAA 浓度为 0.1、0.3、1.1 时,与 3 种 BA 浓度的组合中,芽分化率均为 0 。其主要在 0.5 ~ 0.9NAA + 12 BA 的激素浓度组合中有芽分化,其中在 MS +

0.5NAA + 12 BA 的培养基上，芽分化率最高。因此，可选择此培养基为兰考泡桐叶片愈伤组织诱导芽分化的最适宜培养基。其芽分化情况见图版 1-I。

豫杂一号泡桐愈伤组织在 0.3 ~ 0.9NAA + 10 ~ 12 6-BA 的激素浓度组合范围内均有芽分化。其中以 0.7NAA + 12 6-BA 的激素浓度组合芽分化率最高，而 NAA 浓度为 0.1、1.1 时与 BA 的浓度组合中芽分化率均为 0。因此，可选择 MS + 0.7NAA + 12 BA 培养基为豫杂一号泡桐愈伤组织芽分化的最适宜的培养基。其芽分化情况见图版 1-J。

这些结果表明，芽分化率的高低一方面与泡桐的遗传特性有关，另一方面也与培养基内的激素（NAA 和 BA）浓度有密切的关系。

图版 1　不同种泡桐种叶片愈伤组织及其再生植株

A-E. 毛泡桐、南方泡桐、白花泡桐、兰考泡桐和豫杂一号泡桐叶片的愈伤组织。F-J. 毛泡桐、南方泡桐、白花泡桐、兰考泡桐和豫杂一号泡桐叶片的诱导芽。K-O. 毛泡桐、南方泡桐、白花泡桐、兰考泡桐和豫杂一号泡桐叶片的再生植株。

Plate 1　Calli, buds and regenerated plants from different *Paulownia* plant leaves

A-E. Calli from *P. tomentosa*, *P. australis*, *P. fortunei*, *P. elongata*, *P. tomentosa* × *P. fortunei*. F-J. Proliferated buds from calli of *P. tomentosa*, *P. australis*, *P. fortunei*, *P. elongata*, *P. tomentosa* × *P. fortunei*. K-O. Regenerated plants of *P. tomentosa*, *P. australis*, *P. fortunei*, *P. elongata*, *P. tomentosa* *P. fortunei*.

https://www.scientiasinica.com.cn/10.3724/SP.J.1142

2.2 不同种泡桐诱导芽根的分化

将 5 种泡桐叶片愈伤组织诱导出的芽从茎的基部剪断放入 NAA 浓度不同的 1/2MS (大量元素减半的 MS)培养基中,第 20 天观察其生根情况(图版 1 K-O),并统计出 5 种泡桐诱导芽的生根数极其根长(表 2)。由此可以看出,毛泡桐、南方泡桐、白花泡桐、兰考泡桐、豫杂一号泡桐芽在生长素浓度为 0.1、0.3、0.5 及其不含生长素的培养基上培养生根率都可达到 100%,这可能是由于不同种泡桐的芽诱导过程中,其体内含有较高浓度生长素的缘故。但是,不同种泡桐在不同生长素浓度培养基上,生根的数量和长度存在着一定的差异。根据不同种泡桐诱导芽生根的多少及其长度确定其生根最适培养基。所以,毛泡桐、南方泡桐、白花泡桐、兰考泡桐和豫杂一号泡桐叶片愈伤组织诱导芽生根的最适培养基分别为 1/2MS + 0.1NAA、1/2MS + 0.1NAA、1/2MS、1/2MS + 0.5NAA 和 1/2MS + 0.3 NAA。

表 2 不同种泡桐在不同浓度的生长素上生根情况

Table 2 Rooting of different *Paulownia* plants on 1/2 MS media with different NAA concentrations

种类 Species	NAA 浓度(mg·L⁻¹) NAA concentrations	生根百分率(%) Rooting percentages	平均根数(条) № of mean roots	平均根长(cm) Mean length of roots
	0.0	100	3	2.5
毛泡桐	0.1	100	5	3.0
P. tomentosa	0.3	100	4	2.1
	0.5	100	2	1.8
	0.0	100	4	2.5
南方泡桐	0.1	100	8	3.0
P. australis	0.3	100	5	2.0
	0.5	100	3	1.5
	0.0	100	8	3.5
白花泡桐	0.1	100	6	2.4
P. fortunei	0.3	100	4	2.0
	0.5	100	2	1.8
	0.0	100	5	2.5
兰考泡桐	0.1	100	3	2.4
P. elongata	0.3	100	4	1.7
	0.5	100	8	2.7
	0.0	100	3	1.8
豫杂一号泡桐	0.1	100	5	2.6
P. tomentosa × *P. fortunei*	0.3	100	8	3.1
	0.5	100	4	2.5

2.3 泡桐愈伤组织再生植株锻炼与栽植

将不同种泡桐叶片愈伤组织得到的再生植株经过锻炼后栽植在花盆中,生长状况良好。

3 讨论和结论

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t21-012

3.1 毛泡桐、南方泡桐、白花泡桐、兰考泡桐和豫杂一号泡桐叶片愈伤组织诱导芽的最适

培养基分别为 MS + 0.3NAA + 12 BA、MS + 0.3NAA + 12 BA、MS + 0.5NAA + 12 BA、MS + 0.5NAA + 12 BA 和 MS + 0.7NAA + 12 BA。毛泡桐、南方泡桐、白花泡桐、兰考泡桐和豫杂一号泡桐叶片愈伤组织诱导根的最适培养基分别为 1/2MS + 0.1NAA、1/2MS + 0.1NAA、1/2MS、1/2MS + 0.3NAA 和1/2MS + 0.5NAA。

3.2　植物组织或器官诱导愈伤组织的最适培养基随植物种的不同而有所差异。我们通过对 5 种泡桐的试验发现，毛泡桐、南方泡桐、白花泡桐、兰考泡桐和豫杂一号泡桐叶片在以 MS 培养基为基本培养基上的愈伤组织诱导率比较高，在 1/2MS、B5 和 PC 培养基上的诱导率较低，而在 N6 培养基上无愈伤组织形成。因此，我们选择 MS 为 5 种泡桐叶片诱导愈伤组织的基本培养基，这与姜国武等报导的泡桐快速繁殖采用的培养基相一致(1988)。由于植物种(品种)之间的遗传差异，导致了不同种(品种)植物器官或组织诱导愈伤组织所需培养基内激素水平的不同(卫志明等，1991)。毛泡桐、南方泡桐、白花泡桐、兰考泡桐和豫杂一号泡桐虽为同属植物，并且兰考泡桐和豫杂一号泡桐皆为毛泡桐和白花泡桐的杂交种(Fan Guoqiang *et al*，2001)，但由于长期的自然进化，引起体内基因发生变异，从而使不同种之间的物理性状和生理生化代谢水平及激素含量出现差异，因而要求培养的条件也有所不同。这可能就是导致毛泡桐、南方泡桐、白花泡桐、兰考泡桐和豫杂一号泡桐诱导叶片愈伤组织最适培养基不同原因所在。

参　考　文　献

蒋建平，1990. 泡桐栽培学. 北京：中国林业出版社

黄敏仁，许农，陈道明，1990. 林木原生质体培养的现状. 植物生理学通讯，(2)：75 ~ 78

黄健秋，卫志明，许智宏，1995. 马尾松成熟合子胚的体细胞胚胎发生和植株再生. 科学通报，**40**(1)：72 ~ 75

唐巍，欧阳藩，郭仲琛，1998. 火炬松胚性愈伤组织诱导和植株再生的研究. 林业科学，**34**(3)：115 ~ 119

王影，黄敏仁，1993. 林木原生质体研究进展. 南京林业大学学报，**17**(2)：91 ~ 95

卫志明，许农，黄敏仁，1991. 悬铃木叶肉原生质体培养再生植株. 植物学报，**33**(11)：813 ~ 818

Becwar M R, Nagmani R, Wann S R, 1990. Initiation of embryogenic cultures and somatic embryos development in loblolly pine. *Can J For Res*, **20**:810 ~ 81

Fan G Q, Peng H F, Zhai X Q, 2001. Protein diversity of *Paulownia* plant leaves and cluster. *J For Res*, **12**: 21 ~ 24

Gupta P K, Durzan D J, 1987. Biotechnology of somatic polyembryogenesis and plantlet regeneration in loblolly pine. *Biotechnology*, **5**:147 ~ 151

Hakman I, Fowke L C, von Arnod S, 1985. The development of somatic embryos on tissue cultures initiated from immature embryo of *Picea abies*. *Plant Sci*, **38**:53 ~ 59

Laine E, David A, 1990. Somatic embryogenesis in immature embryos and protoplast of *Pinus caribaea*. *Plant Sci*, **69**:215 ~ 224

Von Arnold S, Woodward S, 1988. Organpgenesis and embryogenesis in mature embryos of *Picea sitchensis*. *Tree Physiol*, **4**: 291 ~ 300

卫志明，镰田博原宏，1991. キリ(*Paulownia fortunei*)の叶肉プロトラストガ的の植物体再生. 植物组织培养，**8**(2)：110 ~ 113

https://www.sciengine.com/doi/10.3724/CBB-t21-012