

• 园林绿化

杨树组织培养研究综述

丁 依 巩彦酉 欧品莉 杨巧琳 杨宗涵

(大连民族大学 环境与资源学院, 辽宁 大连 116600)

摘 要: 为扩大杨树生产应用, 简述了近年杨树组培的研究现状, 重点对外植体类型、培养基的选取、激素的选择及组培的分化培养、增殖培养、生根培养、炼苗移栽 4 个阶段进行概述, 以期对杨树组织培养研究提供参考。

关键词: 杨树; 组织培养; 研究现状; 展望

中图分类号: S792.11 文献标识码: A DOI 编码: 10.3969/j.issn.1006-6500.2018.11.022

Research Review on the Tissue Culture of *Populus*

DING Yi, GONG Yanyou, OU Pinli, YANG Qiaolin, YANG Zonghan

(College of Environment and Resource, Dalian Nationalities University, Dalian, Liaoning 116600, China)

Abstract: In order to expand the application of poplar production, the research status of poplar tissue culture in recent years was briefly described, focusing on the types of explants, the selection of culture medium, the selection of hormones and the four stages of differentiation culture, proliferation culture, rooting culture and seedling transplanting were summarized in order to provide reference for the research of poplar tissue culture.

Key words: *Populus*; tissue culture; research status; prospect

杨树是杨柳科(Salicaceae)杨属(*Populus* L.)落叶乔木植物的通称, 杨树是世界上分布最广、适应性最强的树种之一^[1], 属下通常分 5 个组: 青杨组(Sect. *Tacamahaca* Spach)、白杨组(Sect. *Lence* Duby)、黑杨组(Sect. *Aigei-ros* Duby)、胡杨组(Sect. *Turanga* Bge)和大叶杨组(Sect. *Leucoides* Spach)^[2]。杨树具有无性繁殖容易、生长速度快、生产周期短等优点^[3], 广泛用于生态防护林、三北防护林和工农业用材林。同时, 杨树树干高大、整齐, 常用作“四旁”绿化及道路绿化树种^[4]。随着各个行业对木材需求量的日益加大, 杨树作为重要的木材树种, 逐渐体现出它的价值。但杨树扦插繁殖具有成苗周期长、受季节的影响大和生长条件不易控制等缺点, 在短时间内难以繁殖出生长状态统一的苗木。而组织培养作为一种快速繁殖技术, 可有效地解决这些问题, 短时间内能繁殖大量优良树种。

1 杨树组织培养研究现状

随着杨树组培技术的日渐成熟, 已经有许多

不同种类杨树再生体系成功建立的例子, 如 2001 杨^[5](*Populus* × *euramericana* cv. ‘2001’), 大青杨^[6](*Populus ussuriensis* Kom.), 725 杨^[7](*P. deltoides* cl. ‘725’), 箭杆杨^[8](*Populus nigra* L. Var. *thevestina*), 巨霸杨^[9](*Populus deltoides* 50 × *P. deltoides* 36), 南方四季杨^[10](*Populus deltoides* × *P. nigra* cv. *Chile*), 欧美杨 POR^[11](*Populus* × *euramericana*), 欧美杨渤丰 1 号^[12](*Populus* × *euramericana* cl. ‘Bofeng 1’), 山新杨^[13](*Populus davidiana* × *P. bolleana*), 小黑杨^[14](*Populus simonii* × *Populus nigra*)等都有报道。

2 杨树组织培养概述

2.1 外植体的选择

一般来说, 外植体越幼嫩越容易再生植株^[15], 在林木组培中首选腋芽萌发途径, 以腋芽萌发途径进行组培, 其再生植株的遗传变异程度较愈伤组织诱导的小, 但茎段腋芽组培的增殖率通常低于愈伤组织诱导丛生芽的增殖率^[16]。杨树组织培

收稿日期: 2018-05-29

基金项目: 辽宁省省级大学生创新创业训练计划项目(201712026146)

作者简介: 丁依(1996—), 女, 贵州六枝人, 在读本科生, 主要从事植物组织培养研究。

养中大多选用叶片和茎段,少数用叶柄。姜洋等^[6]以大青杨无菌苗叶片为外植体,14 d 后产生不定芽,且不定芽翠绿,生芽率达 100%。李春利等^[17]选择毛白杨叶片为外植体,叶片通过直接分化培养的方式,20 d 即可形成丛芽。李永丽等^[5]选择 2001 杨叶片、叶柄和茎段作为外植体进行研究,结果显示,茎段、叶柄外植体 7 d 后两端切口发红膨大,开始形成绿色愈伤组织,15 d 左右愈伤组织上开始出现不定芽,丛生芽诱导率较高,均达 90%;叶片主叶脉切口处 10 d 后可见形成的白色愈伤,20 d 后丛生芽出现,丛生芽诱导率为 60%,但从生芽量较茎段、叶柄外植体产生的多。从上述研究结果的诱导时间来看,茎段所需时间最短,叶片所需时间较长。所以,在杨树组织培养中,与茎段和叶柄相比,叶片为较好的外植体材料。

2.2 外植体消毒

目前,对外植体消毒的消毒液常用的有乙醇、 HgCl_2 、次氯酸钠、次氯化钙等^[18]。对于大多数外植体只需要进行表面消毒即可,而有些外植体由于具有内生菌,为达到较好的灭菌效果,除需要进行表面消毒外还需要进行其他处理^[9]。叶片通常采用 70%~75% 乙醇处理 10~30 s,0.1% 的 HgCl_2 处理 3~7 min。茎段、茎尖和腋芽在消毒中通常选用乙醇消毒 30~60 s,再用 0.1% 的 HgCl_2 溶液处理 5~15 min。在实际操作中,不同的外植体对消毒剂的敏感程度也不太相同,根据所选材料确定消毒剂及消毒时间。

2.3 培养基的选取与激素的选择

2.3.1 培养基的选取 在植物组织培养的过程中,培养基的选择对植物组织的生长、脱分化、再分化有着很大的影响,对杨树培养苗的生长至关重要。在杨树组织培养的过程中,MS,1/2 MS,WPM 等培养基都有广泛的应用,其中,应用最多的是 MS 培养基及 1/2 MS 培养基,其营养丰富且全面。MS 培养基具有较高的无机盐浓度,对保证组织生长所需的矿质营养和加速愈伤组织的生长十分有利,可用来诱导愈伤组织,或用于胚、茎段、茎尖及花药培养。杜兆伟等^[14]在小黑杨快繁与再生体系的优化中,使用了 MS,MH,WPM 这 3 种培养基对小黑杨进行不定芽分化,结果表明,相同激素下的 MS 培养基比 MH 效果要好,WPM 效果最差,在多种激素处理下叶片都迅速褐化,只有少数茎段能进行分化。李永丽等^[5]在 2001 杨组培再生体系建立的研究中发现,MS 培养基的诱导分化

效果比 WPM 好,且经相同条件培养,MS 培养基比 WPM 培养基外植体丛生芽诱导率高,在箭杆杨的初代培养及苗木生根培养中,1/2 MS 培养基比 MS 效果更好,有利于愈伤组织再分化和不定芽的形成^[8],与欧美杨 POR 生根培养基选择相同,不同杨树的生长条件各不相同。所以,在选择各个阶段的培养基时,要根据实际情况而定。

2.3.2 激素的选择 生长素类植物生长调节剂可显著促进植物扦插生根,生产上最为常用的是 IBA 和 NAA,能促进侧根和不定根的形成,促进胚芽鞘和茎的生长,抑制根的生长^[20-21]。细胞分裂素促进细胞质分裂,从而使细胞体积扩大,最主要的是诱导芽的分化。人工合成的 6-BA 活性比其他细胞分裂素强,在农业和园艺上得到广泛应用^[21],也是多数木本植物体诱导和增殖培养的主导激素^[22]。在各类细胞分裂素中,6-BA 使用最为广泛^[23],但单独使用时增殖率较低,且无法促进试管苗的生长^[24]。在杨树的分化培养过程中,通常选用的细胞分裂素是 6-BA,ZT,KT 等,生长素为 NAA^[7,17]。对欧美杨渤丰 1 号的研究结果表明,渤丰 1 号杨叶片在 6-BA $0.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 与 NAA $0.04 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 组合的不定芽分化率和平均分化芽数均表现为最高,分别为 100% 和 21 个^[12],而甜杨叶片不定芽分化叶片在 BA $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 与 NAA $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 组合的培养基中获得的诱导率最高,为 98.8%,显著高于其他培养基配方,平均不定芽数也较高^[25]。TDZ 作为一种有效的形态发生调节剂在木本植物组织培养快繁体系中得到了广泛的应用^[26],周洲等^[11]在对欧美杨 POR 组培再生系统研究中表明,TDZ 在芽诱导过程中有显著的促进作用,在 TDZ,6-BA 和 NAA 同时存在时,茎段和叶片均可直接诱导产生丛生芽,而 6-BA 和 NAA 的组合也能诱导出丛生芽,但是诱导率较低,在 TDZ $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,6-BA $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,NAA $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的培养基上,15 d 后丛生芽诱导率可达 97.3%。李春利等^[17]在毛白杨叶片再繁和遗传转化体系的优化中研究表明,6-BA 和 TDZ 激素混合使用可促进叶片分化,叶片分化率可达 100%;增加芽伸长步骤提高了单片叶的繁殖系数。TDZ 促进芽的分化要强于其他分裂素,但抑制芽的伸长,因此,增加芽伸长步骤来消除抑制。

2.4 分化培养

培养基中激素的种类及配比是影响外植体分

化和不定芽诱导的关键因素,不同部位的外植体的大小对杨树组织培养的分化率及成活率存在影响。王金贵^[27]筛选出的俄罗斯抗寒杨不定芽的诱导培养基中,6-BA 与 NAA 的绝对质量浓度为 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。王颜波等^[28]选出欧洲黑烟 N46 最适的分化培养基 6-BA 与 NAA 的绝对质量浓度为 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $0.03 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。汪玲等^[7]研究表明,725 杨最佳分化培养基为 MS+6-BA $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +NAA $0.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +KT $0.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +蔗糖 $25 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ +琼脂 $6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。沈迪玉等^[29]选用四季杨茎段为外植体,研究表明,随着 6-BA 浓度的增加,四季杨外植体的芽分化率呈现先增加后下降的变化趋势,当 6-BA 浓度为 $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时外植体芽分化率最高。

2.5 增殖培养

将分化芽转继代到增殖培养基中,可以使分化芽成倍地增长,也可以降低细胞分裂素 6-BA 的浓度而利于分化芽下一步的生根培养^[7]。外源激素的浓度及不同种类激素的相对配比对增殖存在影响,6-BA 单独使用时增殖率较低,王大鹏等^[30]在胡杨组织培养叶片及插穗毛状根发生的研究中发现,培养基组为 MS+ $0.75 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA + $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA+ $6.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 琼脂时,平均株高达到最大值 (4.2 cm),不定芽数较多,且无玻璃化现象,叶色鲜绿,未见黄化现象,为最佳增殖培养基。毕海林等^[31]在黄杨叶枸杞子组织培养与快速繁殖技术研究中显示,增殖系数随 6-BA 浓度的降低而降低,在一定范围内随 6-BA 浓度的增高而增高,过高的 6-BA 浓度反而会使增殖系数降低。在相同浓度的细胞分裂素中,加入适量生长素 IBA,增值系数会略有升高;当 6-BA 质量浓度为 $1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 IBA 质量浓度为 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,黄杨叶枸杞子的增殖系数最高。因此,不同杨树组培中激素及其浓度的选择应根据其具体情况来确定。

2.6 生根培养

一般影响组培苗生根的因素有植物材料、培养基类型、植物生长调节剂和其他因子。杨树的生根培养大都用 $1/2 \text{ MS}$ 培养基,加入一定量的 NAA, IAA, IBA。姜洋等^[6]在大青杨再生体系的优化中指出, $1/2 \text{ MS} + 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IBA 的生根最好,平均生根数最高。在生根培养中,适量的 GA_3 有利于根的生长和壮苗,李永丽等^[5]在 2001 杨树组培再生体系建立中显示,2001 杨不定芽在 $1/2 \text{ MS} +$

IAA $0.02 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +IBA $0.22 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ +AC $3.00 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ +蔗糖 $30.00 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 培养基中生根最好,形成根系较多,生根率达 90%。张瑞芝等^[32]在欧美杨再生体系的建立中表明,NAA 浓度会影响无根幼苗的生根率,蔗糖浓度过高会导致根较短或较长,且须根不明显。选出的最优生根培养基为 $1/2 \text{ MS} + 0.25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA+ $20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 蔗糖,有利于再生苗根生长,可提高存活率。

2.7 炼苗移栽

在杨树组培苗炼苗移栽过程中,常使用草泥炭、蛭石、珍珠岩、腐质土、沙、草木灰等作为栽培基质。生根苗出瓶前 2~3 d,打开瓶盖让瓶苗逐步适应外界的光照和湿度,以增强组培苗对环境的适应能力,可以提高组培苗移栽成活率^[33]。在滇杨组培苗移栽中,沙:腐质土:蛭石=1:1:1 基质中成活率最高,且疏松、透气性好的基质有利于组培苗成活和生长,复合基质比单一基质要好。王娜等^[13]将胡杨移栽到蛭石:珍珠岩为 2:1 (V/V) 的基质中,将小苗栽植到装有配制的营养土或腐殖质土的育苗钵中,苗木也可在取出栽植前把老根去掉^[34]。可见,不同植物对基质的要求存在一定的差异,因此,在筛选炼苗基质时,应参考具体植物对土壤质地的偏好来设计炼苗基质。

3 存在问题及展望

以上是杨树组织培养的几个主要方面,利用组培技术在杨树扩繁上获得许多成果,但同其他植物组培一样,存在着易受污染、玻璃化、褐化等现象,仍需进一步研究。组织培养技术为杨树的基因工程提供了基础,在短时间内可以得到优质、大规模的优良品种,为扩大杨树生产应用、推动社会经济发展作出更大贡献。

参考文献:

- [1]李树鑫,卢元兵,段宝利,等.杨树(*Populus*)生理生态特性对增温、大气 CO_2 浓度升高和干旱响应的 Meta 分析[J].山地学报,2017,35(5): 636-644.
- [2]尹春英,李春阳.杨树抗旱性研究进展[J].应用与环境生物学报,2003(6): 662-668.
- [3]杜兆伟,郑唐春,李爽,等.小黑杨快繁与再生体系的优化[J].植物研究,2015,35(6): 904-907,914.
- [4]张玉楼.杨树造林的技术措施[J].农民致富之友,2018(7): 205.

- [5]李永丽,周洲,范晶超,等. 2001 杨组培再生体系建立[J]. 西北林学院学报, 2012, 27(6): 83-87.
- [6]姜洋,刘焕臻,李开隆. 大青杨再生体系的优化[J]. 东北林业大学学报, 2017, 45(4): 28-32.
- [7]汪玲,项艳. 725 杨组培繁殖技术研究[J]. 安徽农业大学学报, 2013, 40(4): 612-617.
- [8]陶延珍,李枫,李毅. 箭杆杨组织培养再生体系的建立[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2008(3): 203-207.
- [9]王桂英,刘晓杰,李珊珊,等. 巨霸杨组培再生体系的建立及潮霉素抗性试验[J]. 北方园艺, 2015(13): 98-102.
- [10]夏正林,王红莉,罗建勋,等. 南方四季杨组培再生体系的建立[J]. 西南林业大学学报, 2013, 33(2): 42-47.
- [11]周洲,李永丽,源春彦,等. 欧美杨 POR 组培再生系统研究[J]. 河南农业大学学报, 2015, 49(1): 52-56.
- [12]崔旭东,苏晓华,张冰玉,等. 欧美杨渤丰 1 号高效组培再生体系建立[J]. 林业科学研究, 2012, 25(2): 157-162.
- [13]王娜,窦恺,王志英,等. 山新杨组培苗生根移栽方法[J]. 植物研究, 2014, 34(3): 380-385.
- [14]杜兆伟,郑唐春,李爽,等. 小黑杨快繁与再生体系的优化[J]. 植物研究, 2015, 35(6): 904-907, 914.
- [15]冯连荣,宋立志,张妍,等. 根癌农杆菌介导杨树遗传转化的影响因素[J]. 西北林学院学报, 2015, 30(3): 120-126.
- [16]黄烈健,王鸿. 林木植物组织培养及存在问题的研究进展[J]. 林业科学研究, 2016, 29(3): 464-471.
- [17]李春利,王孝敬,丁强强,等. 毛白杨叶片再繁和遗传转化体系的优化[J]. 植物研究, 2016, 36(2): 177-183.
- [18]裴晓梅. 中金系列杨树的组培技术研究[J]. 山西林业科技, 2011, 40(3): 28-31.
- [19]胡凯,张立军,白雪梅,等. 植物组织培养污染原因分析及外植体的消毒[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(3): 680-681.
- [20]宫庆涛,武海斌,张坤鹏,等. 10 种常用植物生长调节剂在我国的登记情况[J]. 河南农业科学, 2016, 45(2): 92-97.
- [21]段娜,贾玉奎,徐军,等. 植物内源激素研究进展[J]. 中国农学通报, 2015, 31(2): 159-165.
- [22]黄烈健,陈祖旭,张赛群,等. 马占相思优树组培快繁技术研究[J]. 林业科学研究, 2012, 25(2): 227-230.
- [23]BOUZA L, JACQUES M, MIGINIAC E. In vitro propagation of *Paonia suffruticosa* Andr. Cv. 'Mme de Vary': development effect of exogenous hormones during the multiplication phase[J]. Scientia horticulturae, 1994a, 57(3): 241-251.
- [24]GABRYSEWSKA E. The influence of cytokinins, thidiazuron, paclobutrazol and red light on shoot proliferation of herbaceous peony cv. Jadwiga in vitro[J]. Journal of fruit and ornamental plant research, 1998, 6 (3/4): 157-169.
- [25]赵鑫闻. 甜杨叶片高频率植株再生体系的建立[J]. 中国农学通报, 2015, 31(34): 6-9.
- [26]徐晓峰,黄学林. TDZ :一种有效的植物生长调节剂[J]. 植物学通报, 2003(2): 227-237.
- [27]王金贵. 俄罗斯抗寒杨树的组织培养技术探讨[J]. 中国科技纵横, 2014, 183(3): 248.
- [28]王颜波,常英英,梁立雄,等. 欧洲黑杨 'N46' 组培再生体系的建立[J]. 东北林业大学学报, 2015, 43(10): 10-13.
- [29]沈迪玉. 四季杨茎段组织培养初步研究[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(11): 5549-5550, 5573.
- [30]王大鹏,唐嘉泽,邵明成,等. 胡杨组织培养叶片及穗毛状根发生[J]. 植物学报, 2017, 52(2): 210-217.
- [31]毕海林,和加卫,杨正松,等. 黄杨叶柃子组织培养与快速繁殖技术研究[J]. 西南农业学报, 2012, 25(1): 343-345.
- [32]张瑞芝,王峰,李丹蕾,等. 欧美杨再生体系的建立[J]. 中国农学通报, 2017, 33(4): 48-53.
- [33]辛培尧,刘岩,李根前,等. 滇杨组培苗的移栽技术研究[J]. 中南林业科技大学学报, 2012, 32(2): 23-25, 30.
- [34]刘爱萍,毕延林,于海媛,等. 大叶山杨组培微繁工厂化育苗生产技术[J]. 吉林林业科技, 2012, 41(2): 55, 58.

(上接第 81 页)

- [5]刘海萍,宋德萱. 绿化类型对高密度城市住区的热环境影响研究[J]. 建筑科学, 2018, 34(2): 66-73.
- [6]李海峰,李永树,卢正,等. 绿地景观热环境效应的遥感研究[J]. 测绘科学, 2018, 43(1): 66-72.
- [7]杨雅君,邹振东,赵文利,等. 6 种城市下垫面热环境效应对比研究[J]. 北京大学学报(自然科学版), 2017, 53(5): 881-889.
- [8]李华朋,张树清,孙妍. 基于光谱混合分析的城市植被覆盖度与地表温度关系的研究[J]. 中国科学院研究生院学报, 2010(6): 739-747.
- [9]李俊祥,宋永昌,傅徽楠. 上海市中心城区地表温度与绿地覆盖率相关性研究[J]. 上海环境科学, 2003(9): 599-601, 656.
- [10]梁保平,翟禄新. 1991—2006 年桂林市植被覆盖度、地表温度时空变化及相关性研究[J]. 中国园林, 2014(7): 77-81.
- [11]彭征,廖和平,郭月婷,等. 山地城市土地覆盖变化对地表温度的影响[J]. 地理研究, 2009(3): 673-684.
- [12]黄玉贤,陈俊良,童杉珊. 利用城市绿化缓解新加坡热岛效应方面的研究[J]. 中国园林, 2018, 34(2): 13-17.
- [13]李宇. 绿色屋顶植物景天属与水苏降温能力对比研究[J]. 河南农业科学, 2014, 43(2): 112-115.