

利用组织培养快速繁殖桤柳

韦小敏, 李先芳, 李利红, 王 鹏

(河南省郑州牧业工程高等专科学校生物工程系, 450011)

摘 要:将桤柳幼嫩枝条接种于添加有不同种类和浓度激素的 MS 培养基上, 确定最适丛生芽诱导培养基, 将丛生芽和桤柳嫩枝接种在含有不同浓度的 NAA 的 MS 培养基上, 以确定最适生根培养基, 试验结果表明: 添加 1.0 mg/L BA 和 0.01 mg/L NAA 的 MS 培养基适宜丛生芽生根。通过比较认为, 直接把桤柳嫩枝接种在生根培养基上, 是一种很好的快速繁殖方法, 苗高 4 cm 时移栽, 成活率可达 80% 以上。

关键词:桤柳; 诱导培养基; 生根; 快速繁殖

中图分类号:S 793.505 **文献标识码:**A

文章编号:1001-0009(2007)01-0168-02

桤柳(*Tamarix chinensis* Lour), 别名红柳, 三春柳, 山川柳, 是桤柳科桤柳属多年生灌木树种, 原产我国, 分部极广。桤柳极耐寒冷、干旱, 又耐水湿和盐碱。叶嫩绿, 花期长达 4~5 个月, 观赏价值很高, 所以, 近几年来桤柳被越来越多的应用在绿化美化环境方面及盆景制作中^[3-5]。桤柳常规繁殖方法常用播种法, 此法必须严格掌握播种期, 因桤柳种子较小, 成熟期不一致, 如果采种过迟, 则果皮开裂吐絮, 种子极易随风飘散, 所以种子采集比较困难^[2,6,7]。若用硬枝扦插, 不仅对接穗的要求较严格, 而且为了防止接穗春季早发芽, 降低扦插成活率, 还需要冬贮插条^[7]。目前对桤柳组织培养方面的研究仅见少量报道^[8]。桤柳组织培养体系的建立, 将大大加快桤柳无性繁殖的速度和应用范围。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验所用桤柳从郑州市林业科学研究所采集。从一株 30 多年树龄、生长健壮的桤柳植株上采集当年生尚未木质化的嫩梢作外植体。试验从 2004 年夏开始一直延续至今。

1.2 试验方法

将桤柳用自来水冲洗 20 min, 然后用 75% 酒精浸泡 3~5 s, 置于超净工作台上, 用 0.1% HgCl₂ 溶液表面灭菌 5 min, 再用无菌水冲洗 3~4 次, 剪成 1.5 cm 左右的

茎段, 备用。

1.3 诱导培养基的确定

以 MS 为基本培养基, 在此基础上, 附加 BA 0.1、0.5、1.0 mg/L 共 3 个浓度水平和 NAA 0.01、0.05 mg/L 共 3 个浓度水平进行正交试验, 组成 10 种诱导培养基, 每种培养基 10 瓶, 每个三角瓶接种 3 个茎段, 观测统计每种培养基诱导外植体分化丛生芽的结果, 以确定最适诱导培养基。

1.4 生根培养基的确定和试管苗的移栽

以 MS 为基本培养基, 分别添加 NAA 0.01、0.05、0.25、0.5 mg/L 共 4 个浓度水平, 接入嫩茎和丛生芽, 观察各种培养基诱导生根情况及试管苗生长情况, 最终筛选出理想的生根培养基, 将两种试管苗移栽于特配的基质中, 观察其成活情况。

培养基的 pH 均为 5.8, 培养温度 25±1℃, 光照强度 2 500 Lx, 光照时间 12 h/d。

2 结果与分析

2.1 不同激素与浓度对比对桤柳茎段诱导丛生芽的影响

把桤柳嫩茎接种在诱导培养基上, 诱导丛生芽的结果列于表 1。

表 1 不同激素和浓度对比对桤柳茎段诱导丛生芽的影响

培养基 编号	6-BA mg/L	NAA mg/L	丛生芽 发生时间(d)	诱导率(%)	丛生芽数量 /每个茎段(个)
1	0	0	无丛生芽	0	0
2	0.1	0	31	75	无法统计
3	0.5	0	28	78	无法统计
4	1.0	0	26	85	无法统计
5	0.1	0.01	18	95	18
6	0.5	0.01	14	98	27
7	1.0	0.01	12	99	35
8	0.1	0.05	15	100	30
9	0.5	0.05	13	100	32
10	1.0	0.05	14	99	无法统计

从表 1 可以看出, 桤柳嫩茎接种在单纯的 MS 培养基上, 无论培养时间多久, 都无丛生芽发生, 而是在茎段基部有根的分化, 平均每个茎段产生 1~2 条纤细的根系, 有的茎段在根系长出一段时间后, 其上的顶芽和侧芽开始生长, 有的茎段顶端干枯变黄。

嫩茎在只含有 BA 的 MS 培养基上, 陆续有丛生芽发生。丛生芽发生的时间较迟, 诱导率较低; 产生的丛生芽多为密集的芽丛, 叶色黄绿, 有的只是嫩黄的芽点而无茎叶分化。随着 BA 浓度增大, 丛生芽启动的时间越早, 但后期生长缓慢。

由表 1 还可以看出, 桤柳嫩茎接种在含有两种激素的 MS 培养基上后, 丛生芽的诱导率普遍较高, 基本上接近于 100%。丛生芽启动的时间也较早, 而以 7 号培养基启动的最早, 产生丛生芽的数量也最多。但每种培养基诱导出的丛生芽质量差异很大; 在 NAA 为 0.05 mg/L 时, 产生的丛生芽叶色翠绿, 但无茎的分化, 有时一个茎段产生上百个十分密集的芽丛而难以计数。当 NAA 浓

第一作者简介: 韦小敏, 女, 1969 年生, 讲师, 在读博士, 从事植物组织培养和遗传育种的的教学及研究工作。

基金项目: 河南省科技攻关资助项目, 编号: 0424050018。

收稿日期: 2006-09-10

度为 0.01 mg/L 时,丛生芽营养生长旺盛,叶色常绿,部分丛生芽具有正常的茎叶分化;其中 BA 浓度为 1.0 mg/L 时,诱导率最高,每个茎段产生的丛生芽数量也最多。所以,在这 10 种培养基中,7 号培养基是桤柳最合适的诱导培养基。

2.2 生根培养基的确定

将桤柳嫩茎和具有正常茎叶分化的丛生芽接种在 4 种生根培养基上,35 d 后统计每个外植体产生的平均主根数量、主根长度和侧根数量,结果见表 2。

表 2 桤柳嫩茎和丛生芽在生根培养基上的生长情况

培养基 编号	NAA 浓度 (mg/L)	嫩茎			丛生芽		
		主根 条数	主根长度 (cm)	侧根 条数	主根 条数	主根长度 (cm)	侧根 条数
11	0.01	5	1	4	1	0.5	3
12	0.05	3	0.7	5	2	2	6
13	0.25	2	0.5	15	无	0	很多
14	0.5	无	0	很多	无	0	很多

由表 2 看出,在低浓度的 NAA 水平下,两种外植体产生主、侧根的数量较多,并且主根具有一定的长度,试管苗营养生长旺盛。在 NAA 浓度较高时,产生的根系短而细弱,很多似棉絮状;根系着生的部位多在外植体与培养基交叉的界面,因而不具有正常的生理功能;枝条生长量较小,试管苗也很柔弱。

由表 2 还可看出,桤柳嫩茎在 11 号培养基上,产生的主根最长,数量较多,根系大都发生在嫩茎基部,主、侧根分布合理而且粗壮;虽然侧根数量没有在 12 号培养基上多,但每条侧根均有一定粗度,在发根的同时,茎叶营养生长旺盛。嫩茎在 12 号培养基上,发生的主、侧根分布不太明显,有的侧根长在培养基表面;枝条生长速度过快,节间变长,茎叶细小瘦弱。所以,11 号培养基是最适合桤柳嫩茎生根的培养基。

丛生芽在 12 号培养基上主根发育最多,侧根数量也最多;枝条生长量大,试管苗比较健壮。12 号培养基是适合丛生芽生根的培养基。

2.3 两种途径产生的试管苗移栽成活情况

分别由嫩茎和丛生芽产生的试管苗长到适当大小,应及时移栽。先将试管苗在培养室内打开封口膜,练苗 3 d,用清水洗净根上的培养基,并去除老根及黄化枝条,然后移栽于经过消毒的壤土:珍珠岩:细沙=1:1:1 的混合基质中。试验结果表明两种试管苗的移栽成活率差异较大,由嫩茎产生的试管苗移栽成活率高达 80% 以上,而由丛生芽产生的试管苗移栽成活率则低于 50%。

3 结论与讨论

最适合桤柳产生丛生芽的诱导培养基是 MS+1.0 mg/L BA+0.01 mg/L NAA。在添加 0.01 mg/L NAA 的 MS 培养基上,桤柳嫩枝生根最好;添加 0.05 mg/L NAA 的 MS 培养基适宜丛生芽生根。

由表 1 可以看出,桤柳嫩茎在不含任何激素的 MS 培养基上预培养,外植体有少量根系产生,说明桤柳内源激素中具有一定水平生长素类,这就启发我们在诱导培养基中不加或少加 NAA。从诱导丛生芽的结果看,NAA 和 BA 协调作用比 BA 的单独作用诱导效果要好,而且高比例的细胞分裂素浓度与生长素浓度对茎芽的分化具有明显的促进作用,这在一定程度上也验证了植物激素控制器官形成的理论^[9]。

有试验表明:施用 NAA 可以降低植物体内吲哚类生长素水平,这样就使内源细胞分裂素的含量相对提高^[10],所以在桤柳诱导生根时适当添加外源生长素,有助于内源细胞分裂素的增加,可使生根的同时枝条能保持旺盛的营养生长。但是在培养基中添加的 NAA 含量又不能太高,因为内源激素平衡受外源生长物质的影响,如果内源激素平衡被破坏,细胞的分裂和形态发生就发生紊乱。正如我们试验中所观察到的情况:在高浓度的 NAA 影响下,在茎节上会无序地产生一些细弱不定根,不定根的出现对营养生长产生明显的抑制作用。

虽然桤柳的嫩茎和丛生芽在生根培养基上都可以产生试管苗,但由嫩茎产生的试管苗生长比较健壮,根系分布合理,试管苗移栽成活率较高。这种由外植体越过脱分化阶段而直接分化出再生植株的再生系统,周期短,操作简单。因为外植体直接分化出再生植株,省略了愈伤组织诱导培养过程,体细胞无性系变异小,能较好的保持植物的遗传稳定性。所以,直接把桤柳嫩茎接种在生根培养基上产生试管苗,是一种理想的快速繁殖方法。此法特别适用于外植体来源丰富的无性繁殖的园艺植物,如果树、花卉及某些木本植物^[11]。对于比较稀缺名贵花卉种类,外植体采集比较困难,所以应先诱导分化出丛生芽进行扩繁,然后再诱导生根产生试管苗,是较为合适的快繁途径。

参考文献:

- [1] 朱跃,许鹏.桤柳及其推广价值[J].山西林业,2001,6:22-23.
- [2] 吴忠祥,王恒恩.甘蒙桤柳播种育苗试验效果分析[J].青海农林科技,2002,增刊,22.
- [3] 王景志,董文杰,刘岩山,等.桤柳的绿化价值与栽培[J].林业实用技术,2002,(8),11-12.
- [4] 卫芙蓉,郭美蓉,吴全忠.浅谈盐碱的桤柳有园林应用[J].山西林业科技,1999,(3),39-41.
- [5] 滕士远,李鹏.桤柳应用前景及其栽培技术[J].林业科技开发,2005,19(2),62-64.
- [6] 陈博.桤柳育苗造林技术[J].青海农林科技,2005,(3),68-69.
- [7] 周庆荣,张爱勤.红柳平地育苗法[J].林业实用技术,2002,(10),30.
- [8] 程磊,周根余.桤柳的组织培养与快速繁殖[J].上海师范大学学报(自然科学版),2001,30(2),67-71.
- [9] 李俊明.植物组织培养教程[M].北京,中国农业大学出版社,2002,5.
- [10] 谷瑞升,蒋湘宁,郭仲琛.植物离体培养中器官发生调控机制的研究进展[J].植物学通报,1999,16,(3),238-244.
- [11] 王关林,方宏筠.植物基因工程[M].北京,科学出版社,2002,347.