

文章编号: 1004-3918(2008)01-0042-03

垂柳的组织培养及植株再生体系研究

袁秀云¹, 郭利勇², 马杰¹, 张仙云¹

(1. 郑州师范高等专科学校 生物技术研究所, 郑州 450044; 2. 河南省经济林和林木种苗工作站, 郑州 450008)

摘要: 对垂柳愈伤组织和植株再生体系进行了研究, 结果显示茎段比较适合诱导愈伤组织, 质量浓度为 1.0 mg/L 和 2.0 mg/L 的 6-BA 均能诱导垂柳茎段愈伤组织; MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L+KT 0.5 mg/L 的激素配比最为适合胚状体和芽的分化; MS+6-BA 1.0 mg/L+Ac 0.3 % 培养基能促使垂柳根的形成, 且能促使芽生长, 最终形成幼苗。

关键词: 垂柳; 组织培养; 植株再生**中图分类号:** S 687.1**文献标识码:** A

垂柳(*Salix babylonica* L.)是杨柳科(Salicaceae)柳属落叶乔木。其枝条柔软下垂, 树姿优美潇洒, 别有风致, 具有独特的观赏价值, 自古是重要的园林树种。垂柳根系发达, 枝叶繁茂, 发芽早, 落叶迟, 生长快, 材质好, 适应性广, 抗逆性强, 抗旱, 耐水湿, 可作行道树、庭荫树、固岸护堤及平原造林树种; 垂柳可吸收空气中 SO₂ 和 HF 等有害气体, 又可适用于工厂绿化^[1]。但垂柳容易受柳九星叶甲、柳毒蛾、杨扇舟蛾、光肩天牛、星天牛等病虫害, 常用的防治方法是人工防治和化学药剂防治, 浪费大量的人力和物力, 并且造成了环境污染。利用生物工程技术培养抗虫垂柳是很必要的。由于垂柳枝条繁殖极易成活, 垂柳组织培养方面的研究很少, 而利用生物技术研究抗虫垂柳的前提是垂柳的组织培养和植物再生体系的建立。目前垂柳离体器官愈伤组织的诱导和植株再生的研究还未见报道, 因此对此方面的研究将有重要的理论意义和实际应用价值。

1 材料和方法

1.1 供试材料

2006年7月从郑州师范高等专科学校校园内垂柳植株上选取当年生半木质化的枝条, 切割成带1~2个侧芽的茎段作为外植体。

1.2 材料处理

将采回的嫩枝带叶剪成段长20 cm左右, 放于自来水管下冲洗2~3 h, 去除表面污垢, 然后在超净台上将枝条剪成2~3 m小段, 去掉花序, 在超静工作台上, 用无菌水漂洗2~3次, 70 %酒精浸泡45 s, 用无菌水漂洗2~3次; 将叶取下用10 %的次氯酸钠灭菌15 min, 将枝条用0.1 %升汞灭菌8 min, 无菌水分别冲洗3次, 将叶片切割成0.5 cm×1 cm的小块, 枝条截成1 cm的小段备用。

1.3 实验方法

1.3.1 不同6-BA的质量浓度对愈伤组织诱导的影响

将叶片和茎段分别接种在1, 2, 3, 4, 5, 6号培养基上进行愈伤组织的诱导(表1)。

1.3.2 不同激素比对胚状体诱导和分化的影响

将愈伤组织切割接种于7, 8, 9, 10号培

表1 培养基的类型

Tab.1 The types of the medium

愈伤组织诱导培养基	1、MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L
	2、MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L+KT 0.5 mg/L
	3、MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L
	4、MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L+KT 0.5 mg/L
	5、MS+6-BA 2.5 mg/L+NAA 0.2 mg/L
	6、MS+6-BA 2.5 mg/L+NAA 0.2 mg/L+KT 0.5 mg/L
胚状体分化培养基	7、MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L
	8、MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L+KT 0.5 mg/L
	9、MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L
	10、MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L+KT 0.5 mg/L
植株再生培养基	11、MS+6-BA 1.0 mg/L+Ac 0.3 %
	12、MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L

收稿日期: 2007-10-11

基金项目: 郑州市重点科技攻关项目(051SGDS17017)

作者简介: 袁秀云(1970-), 女, 河南许昌人, 副教授, 主要从事植物学教学和植物生物技术研究工作。

培养基上进行胚状体诱导和分化(表 1)。

1.3.3 植株再生

将芽分株接种于 11 号和 12 号培养基上进行培养,用于苗和根的植株再生培养。

1.3.4 培养条件

所有培养基均加入蔗糖 3 %,琼脂 7.5 %。pH 值 5.8~6.0,培养温度(25±2)℃,光照度 2 000 Lx,每天光照 12 h。

2 结果与分析

2.1 不同 6-BA 的质量浓度对愈伤组织诱导的影响

将叶片和茎段分别接种在 1,2,3,4,5,6 号 6 种培养基上进行愈伤组织的诱导,30 d 后观察并记录数据(见表 2)。对于不同离体器官诱导培养而言,叶在诱导培养过程中,首先是膨大褶皱,接着从叶片边缘出现黄白色的愈伤组织,组织疏松干燥,增生较慢,30 d 时褐化死亡,随着 6-BA 的质量浓度的增加,叶片不产生愈伤组织,由开始的绿色逐渐褐化干燥死亡,可见几种培养基均不适合垂柳叶片的愈伤组织诱导。在茎段的诱导培养过程中,10 d 时首先是茎段两端出现膨大,逐渐向茎端中央产生愈伤组织,愈伤组织致密,黄绿色,表面有红褐色;随 6-BA 的质量浓度的增加,愈伤组织疏松,颜色变浅为黄白色;KT 在低 6-BA 的质量浓度条件下,对愈伤组织的产生没有不良的影响,但当 6-BA 的质量浓度增加时,KT 使愈伤组织疏松,颜色发白。说明 1.0 mg/L 和 2.0 mg/L 的 6-BA 的质量浓度均适合诱导垂柳茎段愈伤组织。

表 2 不同 6-BA 的质量浓度对垂柳器官愈伤组织的诱导

Tab.2 Induction of callus from different organs with different concentration of 6-BA in *Salix babylonica*

培养基	器官	结果
(1)	叶	10 d 叶片出现褶皱,25 d 75 % 产生愈伤组织,疏松干燥,黄白色,30 d 时褐化死亡
	茎段	10 d 时两端膨大,25 d 时 100 % 产生愈伤组织,致密,黄绿色,表面有红褐色
(2)	叶	10 d 叶片出现褶皱,25 d 60 % 有愈伤组织,疏松干燥,黄白色,30 d 时褐化死亡
	茎段	10 d 时两端膨大,25 d 时 100 % 产生愈伤组织,较致密,黄绿色,表面有红褐色
(3)	叶	10 d 叶片出现褶皱,25 d 10 % 有愈伤组织,疏松干燥,黄白色,30 d 时褐化死亡
	茎段	10 d 时两端膨大,25 d 时 100 % 产生愈伤组织,致密,黄绿色,表面有红褐色
(4)	叶	10 d 叶片少有褶皱,25 d 无愈伤组织,30 d 时死亡
	茎段	10 d 时两端膨大,25 d 时 100 % 产生愈伤组织,稍疏松,黄绿色至黄白色
(5)	叶	10 d 无褶皱,无愈伤组织,30 d 时死亡
	茎段	10 d 时两端膨大,25 d 时 100 % 产生愈伤组织,疏松,黄绿色
(6)	叶	10 d 无褶皱,无愈伤组织,30 d 时死亡
	茎段	10 d 时两端膨大,25 d 时 100 % 产生愈伤组织,疏松,黄绿色至黄白色

2.2 不同激素对比对胚状体诱导和芽分化的影响

将茎段产生的愈伤组织切割后分别接种在 7, 8, 9, 10 号培养基上进行继代培养及胚状体诱导,培养 30 d 时的结果发现,在各种培养基上,愈伤组织均出现胚状体,胚状体的诱导率分别为 4.5 %, 5.3 %, 3.4 %, 3.8 % (表3), 7 号和 8 号培养基上的胚状体稍多,且 40 d 时 8 号培养基上的胚状体已经长出丛生芽。可见 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L+KT 0.5 mg/L 的激素配比最为适合垂柳愈伤组织的胚状体诱导和芽的分化,KT 对胚状体诱导和芽分化有促进作用。

2.3 不同培养基对植株再生的影响

将从生芽分株接种于 11 号和 12 号培养基上进行培养,20 d 时发现在 11 号培养基上的芽生根,苗高 2 cm,根长约 7 cm,40 d 时苗高 5 cm,根数量增多,根长约 15 cm。在 12 号培养基上,芽无生根现象,且芽没有长高,生长处

表 3 不同培养基对垂柳愈伤组织胚状体诱导的影响

Tab.3 Effect of different media on induction of embryoid in *Salix babylonica*

培养基	接种数/块	诱导数/个	诱导率/%
(7)	6	27	4.5
(8)	6	32	5.3
(9)	5	17	3.4
(10)	5	19	3.8

表 4 不同培养基对垂柳再生植株的影响

Tab.4 Effect of different media on inducing regenerating plants in *Salix babylonica*

培养基	接种数/棵	再生植株数/棵	再生植株率/%
11	10	10	100 %
12	12	0	0

于停滞状态,芽基部褐化。可见活性炭有利于垂柳的植株再生,而 NAA 不利于垂柳生根和芽的生长。

3 结论

垂柳的离体器官组织培养及植株再生体系研究表明,叶片开始产生的愈伤组织疏松干燥,黄白色,最后逐渐褐化死亡,不适合诱导愈伤组织;茎段经过诱导培养产生的愈伤组织致密湿润,黄绿色,表面有红褐色,适合诱导愈伤组织;1.0 mg/L 和 2.0 mg/L 的 6-BA 的质量浓度均能诱导垂柳茎段愈伤组织,但 6-BA 的质量浓度过大,产生的愈伤组织疏松,颜色发白,不适于进行胚状体诱导和芽的分化;KT 能促进愈伤组织的产生,但与 6-BA 的浓度作用综合起来,使产生的愈伤组织疏松发白,不能用于胚状体的诱导,最终会褐化死亡;6-BA 的浓度和 NAA 的不同配比均能诱导垂柳茎段愈伤组织胚状体的分化,最适培养基为 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L+KT 0.5 mg/L,说明 KT 能促进垂柳芽的分化。我们知道在培养基中,生长素与细胞分裂素的比例决定着发育的方向、诱导愈伤组织长根还是长芽。当组织内细胞分裂素/生长素的比值高时,诱导愈伤组织或器官分化出不定芽;促进细胞分裂与扩大、抑制根的分化。在垂柳植株再生体系研究中,MS+6-BA 1.0 mg/L+Ac 0.3 %培养基不但能促使垂柳根的形成,而且能促使芽生长,进而形成幼苗。一般情况下,培养基中加入活性炭可以减少愈伤组织的褐化^[2],此实验结果说明活性炭有利于根的生成,而幼苗形成的关键就在于根的生成;NAA 不利于根的生成和芽的生长,不能形成幼苗。

参考文献:

- [1] 潘文明. 观赏树木学[M]. 北京:中国农业出版社,2001:147-148.
- [2] 郑文静,赵海岩,杨国立. 植物组织培养操作过程中的常见问题及其解决办法[J]. 辽宁农业科技,2001(2):49-51.

Research on Tissue Culture and Regeneration of *Salix babylonica*

YUAN Xiu-yun¹, GUO Li-yong², MA Jie¹, ZHANG Xian-yun¹

(1. Institute of Biology Technology, Zhengzhou Teacher's College, Zhengzhou 450044, China;

2. Economic Forest and Tree Seeding Center of Henan, Zhengzhou 450008, China)

Abstract: In this paper the tissue culture and plant regeneration of *Salix babylonica* was researched. The results show that the stem is optimum to induce callus; The 6-BA concentration of 1.0 mg/L and 2.0 mg/L can improve callus of *Salix babylonica*; MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L+KT 0.5 mg/L is the optimum medium for embryoid and bud induction; MS+6-BA 1.0 mg/L+Ac 0.3 % can not only grow root, but also improve bud, and in final regenerated plant.

Key words: *Salix babylonica*; tissue culture; plant regeneration