

目前,关于刺槐的组织培养^[1]及影响培养的因素^[2]已有报道 特别是关于饲料型四倍体刺槐的组织培养技术研究较多^[3-5]。在研究中,主要针对宁夏暖泉农场从东北引进栽植的绿化刺槐进行了研究,观察发现在栽植的 50 多棵树中,其中有 3 棵变异株 在 6 a 生长时间中树高达 10 m 以上,树径达 15 cm,达到速生树种的要求^[6]。因此,对 3 种变异株的植物组织培养技术进行了研究 利用刺槐变异的特殊株 即生长速度快,树干笔直无刺、高大粗壮,树枝分叉多,又上刺密,无种子(28 号)或种子极少(24、34 号)等特点,进行组织培养快速繁殖,以便保持变异株的特征特性,为生产提供优良的速生树种种苗,并为大规模工厂化育苗提供科学的理论配方。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验材料 从宁夏暖泉农场的刺槐林中,选择树干高大、粗壮、无病虫害、树干上无刺,而且树枝分叉多、刺密、种子极少或无种子、生长速度快的特殊变异种,于 2003 年 5 月上旬取实际栽植顺序为第 24 棵、第 28 棵、第 34 棵的嫩芽作为接种材料共 3 株,分别编为

第一作者简介:曹君迈(1964-),女,现就职于西北第二民族学院生命科学系,主要从事细胞工程教学与科研工作,发表论文 20 余篇。E-mail: junmaicao@163.com。

基金项目:国家林业局 948 资助项目(2004-4-10)。

收稿日期:2007-03-19

绿化刺槐突变株的离体组织培养

曹君迈¹,陈彦云²,高艳明

(1.西北第二民族学院,宁夏 银川 750021; 2.宁夏大学 宁夏 银川 750021)

摘 要:对刺槐的 3 种变异株进行了离体组织培养研究,结果表明:MS+BA 1 mg/L+IBA 0.05 mg/L+sugar 30 g/L 均适合 3 个变异品种刺槐芽分化,其分化率为 93.3%~100%,且理想的增殖培养基为 MS+BA 0.5 mg/L+IBA 0.05 mg/L+KT 0.5 mg/L+sugar 30 g/L,繁殖系数为 4.5~8.02,最适的生根培养基为 1/2MS+IAA 0.05 mg/L+sugar 30 g/L+0.1%活性碳,生根率为 100%;练苗成活率 49.5%~72%,其中 28 号变异株表现优良,有利于组培快繁。

关键词:刺槐变异株;离体培养

中图分类号:S 792.27 文献标识码:A

文章编号:1001-0009(2007)08-0197-02

24 号、28 号和 34 号。

1.1.2 试剂 试验试剂均为分析纯。BA 购于 Zew-land,其余为上海植生所生产。

1.1.3 培养基 诱导分化培养基为 4 种:即:1. MS+BA 3.0 mg/L+IBA 1.0 mg/L+sugar 30 g/L; 2. MS+BA 2 mg/L+IBA 0.5 mg/L+sugar 30 g/L; 3. MS+BA 1 mg/L+IBA 0.05 mg/L+sugar 30 g/L; 4. MS+BA 0.5 mg/L+IBA 0.05 mg/L+sugar 30 g/L。增殖培养基为 2 种:即:5. MS+BA 1 mg/L+IBA 0.05 mg/L+sugar 30 g/L; 6. MS+BA 1 mg/L+IBA 0.05 mg/L+KT 0.5 mg/L+sugar 30 g/L。

1.2 方法

把取回的嫩芽及时用洗洁精漂洗一遍,在自来水下冲洗至无泡沫,然后将外植体带入接种室,把嫩芽夹

[8] 曲士松,刘宪华,黄宝勇等. CTAB 法提取大蒜、白菜基因组 DNA

[J]. 山东农业大学学报(自然科学版),2000 31(4): 427-429.

Research on RAPD Reaction System of *Euptelea pleiosperma* Hook. f. &Thoms

TIAN Shi-lin, LI Li

(College of Agriculture and Forestry Sciences, Institute of Huanghua; Henan 463000, China)

Abstract: RAPD technology was first employed to study the rare and endangered plant *Euptelea pleiosperma* Hook. f. &Thoms. In this experiment, modified CTAB methods were used to extract DNA from the leaves of *Euptelea pleiosperma* Hook. f. &Thoms to optimize RAPD reaction system. An efficient and stable RAPD reaction system was established through the investment of factors of: template DNA, Mg^{2+} , dNTPs, Taq DNA polymerase and primers which will influence the results of RAPD. The results showed that the optimized RAPD reaction conditions were 10ng template DNA, 2.0 mmol/L Mg^{2+} , 2.2 mmol/L dNTPs, 1 unit Taq polymerase and 2.5 μ mol/Lol/L primer in a total of 25 μ l reaction mixture.

Key words: *Euptelea pleiosperma* Hook. f. &Thoms; RAPD; DNA extraction; Optimization

入灭菌的三角瓶中, 倒入 75% 的酒精约 15 s, 立刻倒出酒精 加入灭菌水冲洗 3 遍, 再加入 0.1% 的升汞并放入 3 滴 80 吐温灭菌 6 min, 用灭菌水冲洗 3~5 遍, 取出放在消毒过滤纸上, 吸干水份, 将其接于培好的固体培养基上, 用封口膜盖紧瓶口, 放入培养间培养。

2 结果与分析

2.1 芽的诱导与分化

表 1 不同激素组合对刺槐 3 种变异株诱导分化的影响

培养基 代号	品种 编号	接种外植 体数/个	分化芽 数/个	分化 率/%	总芽 数/个	每瓶芽 数/个	平均芽 高/cm	生长情况 调查
1	34	60	0	0	0	0	0	叶、叶柄变粗、短扭曲
2		60	54	90	270	4.5	1	从腋芽上又可分化出小苗
3		60	60	100	330	5.5	0.9	从基部分化出苗
4		60	42	70	150	2.5	0.8	从基部分化出苗
1	28	60	0	0	0	0	0	叶、叶柄变粗、短扭曲
2		60	55	91.7	300	5.0	1.2	从腋芽上又可分化出小苗
3		60	60	100	420	7.0	1.5	从基部分化出苗
4		60	50	83.3	258	4.3	1.0	从基部分化出苗
1	24	60	0	0	0	0	0	叶、叶柄变粗、短扭曲
2		60	49	81.7	270	3.5	1	从腋芽上又可分化出小苗
3		60	56	93.3	276	4.6	0.9	从基部分化出苗
4		60	40	66.7	120	2.0	0.9	从基部分化出苗

将处理好的 3 棵树上的芽按在取样时的数顺号, 进行编号分别为 24、28、34。并接入事先配好的 1~4, 4 种培养基上, 每 7 d 观察一次, 经 30 d 后统计结果(见表 1)。由表 1 得出: 从复配的 4 种培养基看, BA 浓度 3 mg/L, IBA 1.0 mg/L 时, 培养材料易发生畸变; BA 浓度降为 2 mg/L, IBA 0.5 mg/L 时, 较有利于芽分化, 芽苗正常; BA 为 1 mg/L, IBA 0.05 mg/L 时, 有利于芽苗分化; BA 为 0.5 mg/L, IBA 0.05 mg/L 时, 芽苗分化率降低; 由此说明适宜的芽苗分化的 BA 浓度范围为 1~2 mg/L, IBA 0.05~0.5 mg/L。对不同变异株进行比较 28 号、34 号变异种芽苗分化率分别达 100%, 24 号品种只有 93.3%, 且 28 号变异株繁殖系数最高, 达 7 以上, 芽生长速度在 3 号培养基上最高为 1.5 cm, 其次为 34 号、24 号变异株, 说明 28 号变异株增长速度快、繁殖系数高, 是一个适合快速繁殖的突变株。

表 2 刺槐不同变异株的增殖效果统计表					
培养基 代号	品种 编号	继代芽 数/个	增殖芽 数/个	繁殖 系数	苗高 /cm
5	34	55	326	5.93	1.5
	28	58	416	7.17	2.6
	24	86	376	4.37	2.0
6	34	66	404	6.12	1.5
	28	63	505	8.02	2.3
	24	60	270	4.5	2.1

2.2 继代培养

将分化的芽苗接于以下 2 种增殖培养基上, 继代培

养 45 d 时, 统计增殖效果(见表 2)。从表 2 中得出: 3 种变异株均在 6 号培养基上比 5 号培养基上增殖系数高, 说明, KT 对芽苗的增殖是有利的, 但仍以 28 号突变株增殖效果最佳, 较为适宜的增殖培养基为: MS+BA 1 mg/L+IBA 0.05 mg/L+KT 0.5 mg/L+sugar 30 g/L。

2.3 生根及练苗移栽

当继代培养的幼苗, 苗高达到 4~5 cm 时, 将其转接到生根培养基 1/2 MS+IAA 1 mg/L+sugar 30 g/L+1%活性碳^[1] 进行生根培养, 培养 12 d 时, 可将瓶口逐渐打开 1~2 d, 逐步降低湿度, 以适应温室内练苗。将适应的小苗栽入事先准备好的弓棚苗床上, 并注意温、湿度调节, 使温度维持在 20~25℃, 湿度维持在 60%~85%, 一月后统计生根及练苗情况(见表 3)。

表 3 刺槐不同变异株生根及练苗情况调查表

品种 编号	接种 数/棵	生根 数/棵	生根 率/%	练苗成活 数/棵	练苗成活 率/%
34	200	200	100	130	65.0
28	200	200	100	144	72.0
24	200	156	78	99	49.5

由表 3 看出: 不同变异株除 24 号生根率较低外, 28、34 号均达到 100%, 但练苗成活率以 28 号变异株最高达 72%, 其次为 34 号为 65%, 最差为 24 号, 49.5%, 说明 28 号生长适应能力最强。

3 讨论与结论

3.1 通过对筛选的 3 个变异株中进行组培快繁技术的研究, 得出 28 号变异株可作为理想的绿化苗木速生种苗进行繁殖, 为绿化苗木的速生组培快繁技术奠定了基础。24 号、34 号变异株的组培快繁技术还有待于进一步的研究。

3.2 在快速繁殖中, BA 与 2,4-D 复配时, 28 号芽苗的增殖系数最高达 7.17, 但在加有 KT 的培养基上, 使芽苗增殖系数达到 8.02, 说明 KT 对增殖系数的提高是有利的, 即适宜的增殖培养基为: MS+BA 1 mg/L+IBA 0.05 mg/L+KT 0.5 mg/L+sugar 30 g/L。

3.3 在练苗过程中, 饲料型四倍体刺槐练苗成活率达 90%以上^[3], 而绿化速生刺槐成活率最高达 72%, 所以在基质与管理过程中还有待提高。

参考文献

[1] 高艳明, 李建设, 高娜 等. 刺槐组织培养繁殖技术[J]. 林业科技 2005, 30(1): 9-10.

[2] 郑亚琴. 不同激素配方对四倍体刺槐组织培养的影响分析[J]. 种子, 2005, 24(7): 76-77.

[3] 李云, 姜金仲. 我国饲料型四倍体刺槐研究进展[J]. 草业科学 2006 23(1): 41-46.

[4] 曹善东. 四倍体刺槐组培快繁技术研究[J]. 山东林业科技 2003 144 (1): 11-12.

[5] 王侠礼, 钟士传, 曹邦华, 等. 饲料型刺槐微体快繁技术研究[J]. 中国农学通报, 2003 19(3): 51-53.

[6] 山东省林业研究所编. 刺槐[M]. 北京: 中国林业出版社 1982.