

# 二个毛白杨新杂种组培再生体系的建立研究

刘晓梅, 樊军锋, 周永学, 高建社

(西北农林科技大学 林学院 陕西 杨凌 712100)

**摘 要:**以毛白杨×响叶杨,毛白杨×84K 杨2 个新杂种的无菌苗嫩茎为外植体,进行组织培养。研究其植株再生能力,筛选出较为理想的芽增殖和生根培养基,建立起有效的茎段增殖快繁途径。结果表明,毛白杨×响叶杨的最佳增殖培养基是MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.01 mg/L,茎芽诱导率为 93.3%,平均分裂芽数为 6.38 个。毛白杨×84K 杨的最佳增殖培养基是MS+6-BA 1.00 mg/L+NAA 0.01 mg/L,茎芽诱导率为 90.0%,平均分裂芽数 6.00 个。毛白杨×响叶杨的最佳生根培养基是MS+NAA 0.15 mg/L,生根率达到 86.7%,毛白杨×84K 的最佳生根培养基是MS+NAA 0.15 mg/L,生根率 96.7%。

**关键词:**白杨;新杂种;组培

中图分类号:S 792.117 文献标识码:A 文章编号:1001-0009(2010)11-0163-04

毛白杨(*Populus tomentosa*)×响叶杨(*Populus adonpoda*),毛白杨×84K 杨是西北农林科技大学林学院选育出的2个毛白杨新杂种,建立园圃其生长迅速,抗逆性强,但大田扦插育苗成活率低,繁殖系数不高<sup>[1]</sup>,限制了其推广速度。利用组织培养可以加快苗木的繁殖速度,短期内获得大量苗木。毛白杨组织培养始于20世纪80年代初,相关报道很多<sup>[2-8]</sup>,但多侧重于某一优良无性系培养基的筛选研究,目前还没有系统的关于杂种毛白杨离体再生体系的报道<sup>[9]</sup>,该试验旨在通过系统开展毛白杨×响叶杨,毛白杨×84K 杨2个新杂种的组织培养研究,揭示其诱导规律和特点,为建立毛白杨杂种快繁及遗传转化体系提供理论依据,为工厂化育苗和生产推广奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

2009年2月底晴天的下午在西北农林科技大学林学院苗圃采集毛白杨×响叶杨,毛白杨×84K 杨杂种苗健壮的越冬茎段若干,长度80 cm,该杂种材料为2002~2007年杂交育种获得的优良实生苗材料。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 外植体的处理

将茎段放于27℃温室水培,3 d

第一作者简介:刘晓梅(1983-),女,在读硕士,现主要从事林木遗传改良和林业生物技术研究工作。  
通讯作者:樊军锋(1963-),男,博士,研究员,现主要从事林木遗传育种工作。E-mail: fanjf28@sina.com。  
基金项目:国家“十一五”科技支撑计划资助项目(2006BAD01A1502-2);陕西省“13115”重大科技专项资助项目(2009IDKG-12)。

收稿日期:2010-03-10

换水1次,水培14 d后,茎段上嫩芽长至5~10 cm,剪取嫩茎,在自来水下冲洗5 min,再用蒸馏水冲洗5 min,用84消毒液消毒3~5 min,无菌水冲洗3遍,再用0.1%升汞消毒6~10 min,无菌水冲洗3~5遍,后接种到MS培养基上初代培养,消毒时间由材料的木质化程度来决定,幼嫩材料适当缩短时间<sup>[10]</sup>。接种时在超净工作台上将茎段横切成约0.50~1.0 cm带2个腋芽的小段,无菌操作接种于100 mL三角瓶中,用封口膜封口。

**1.2.2 培养基及培养条件** 增殖培养基为添加激素6-BA和NAA的MS培养基,6-BA设0.50、1.0、1.50 mg/L 3个梯度,NAA设0.01、0.05、0.10 mg/L 3个梯度,两两组合,共9个实验处理,诱导生根的培养基为分别添加0.01、0.05、0.10、0.15 mg/L NAA的MS培养基。培养基中含蔗糖30 g/L,琼脂6 g/L,pH 5.8,培养温度(25±2)℃,光照时间16 h/d,光照强度1 800~2 200 lx,每处理设3次重复,每重复10个培养物。30 d后统计结果,采用SPSS软件对数据进行统计处理。

## 2 结果与分析

### 2.1 2个杂交种茎芽分化和生长的差异

**2.1.1 不同激素对比对2个杂交种茎芽诱导率影响**  
由表1可知,毛×响的腋芽诱导率都在50%以上,处理1的诱导率最高,为93.3%,此时激素组合为6-BA 0.5 mg/L,NAA 0.01 mg/L。毛×84K的腋芽诱导率都在40%以上,处理4的诱导率最高,为90.0%,此时激素组合为6-BA 1.0 mg/L,NAA 0.01 mg/L。由图1可知,毛×响和毛×84K的腋芽诱导率均随6-BA浓度的增加而减小,由图2可知,毛×响的腋芽诱导率随NAA浓度的增加而减小,而毛×84K的腋芽诱导率随NAA浓度的增加呈现先增加后减少的趋势。由图1、2分析所得结

论与表 1 中数据结果一致。由表 2 可知,对于毛×响,不同浓度的 6-BA 对其增殖芽数的影响达到显著水平,不同浓度的 NAA 对其增殖芽数的影响不显著。对于毛×84K,不同浓度的 6-BA 对其增殖芽数的影响达到极显著水平,不同浓度的 NAA 对其增殖芽数的影响达到极显著水平,6-BA 与 NAA 的交互作用对其增殖芽数的影响极显著。表 3 表明,对于毛×响,6-BA 对茎芽数影响显著的适宜浓度是 0.5 mg/L。对于毛×84K,6-BA 对茎芽数影响显著的适宜浓度是 0.5 mg/L。表 4 表明,对于

表 1 不同激素组合对 2 个杂交种茎芽诱导率的影响

激素浓度/mg·L <sup>-1</sup>			接种外植体数/个	产生不定芽外植体数/个		诱导率/%	
6-BA	NAA			毛×响	毛×84K	毛×响	毛×84K
CK	0	0	30	0	0	0	0
1	0.5	0.01	30	28	25	93.3	83.3
2	0.5	0.05	30	25	26	83.3	86.7
3	0.5	0.10	30	25	25	83.3	83.3
4	1.0	0.01	30	24	27	80.0	90.0
5	1.0	0.05	30	23	23	76.7	76.7
6	1.0	0.10	30	20	19	66.7	63.3
7	1.5	0.01	30	19	17	63.3	56.7
8	1.5	0.05	30	18	14	60.0	46.7
9	1.5	0.10	30	15	12	50.0	40.0

表 2 不同激素对茎芽数的方差分析结果

变异来源	自由度		均方		F 值		S	
	毛×响	毛×84K	毛×响	毛×84K	毛×响	毛×84K	毛×响	毛×84K
6-BA	2	2	20.031	75.932	42.263	42.263	0.014	0.000
NAA	2	2	10.846	26.514	14.757	14.757	0.089	0.000
6-BA×NAA		4		2.526		1.406		0.000
误差	98.817	98.817	38	1.797				0.244

表 3 2 个杂交种经 6-BA 处理的多重比较结果

6-BA/mg·L <sup>-1</sup>	均值		5%显著水平		1%显著水平	
	毛×84K	毛×响	毛×响	毛×84K	毛×响	毛×84K
0.5	6.00	7.13	a	a	A	A
1.0	4.77	4.40	ab	b	AB	B
1.5	3.62	3.23	b	c	B	C

表 4 2 个杂交种经 NAA 处理的多重比较的结果

NAA/mg·L <sup>-1</sup>	均值		5%显著水平		1%显著水平	
	毛×响	毛×84K	毛×响	毛×84K	毛×响	毛×84K
0.01	5.63	6.75	a	a	A	A
0.05	3.83	5.12	b	b	A	B
0.10	4.83	3.95	ab	c	A	C

毛×响, NAA 对茎芽数影响显著的适宜浓度是 0.01 mg/L。对于毛×84K, NAA 对茎芽数影响显著的适宜浓度是

表 5 2 个杂交种在不同激素组合培养基上的分化茎芽数的方差分析结果

变异来源	平方和		自由度		均方		F 值		F <sub>0.05</sub>		F <sub>0.01</sub>	
	毛×响	毛×84	毛×响	毛×84	毛×响	毛×84K	毛×响	毛×84K	毛×响	毛×84K	毛×响	毛×84K
组间	89.253	249.168	8	8	11.157	31.146	2.823 *	17.335 **	2.23	2.12	3.09	2.86
组内	134.375	98.817	34	55	3.952	1.797						
总变异	223.628	347.984	42	63								

注 P≤0.05 水平上的数据 \*表示显著 \*\*表示极显著。

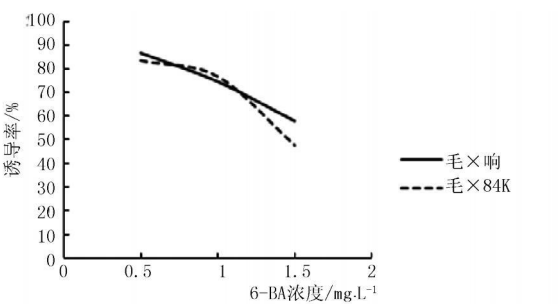


图 1 茎芽诱导率随 6-BA 浓度变化曲线图

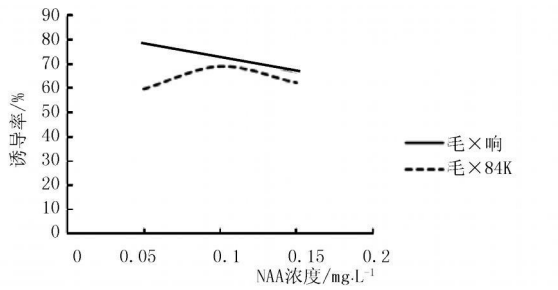


图 2 茎芽诱导率随 NAA 浓度变化曲线图

0.01 mg/L。表 5 表明,在不同激素组合培养基上的分化茎芽数这一指标上,毛×响差异显著,毛×84K 差异极显著。由表 6 可知,对于毛×响,处理 1、3、4 与 5、9 间差异显著,处理 3 与 5、9 间差异极显著。处理 3 产生的茎芽数最多,为 7.00 个,其次是处理 1,产生 6.38 个。从芽数上看,3、1、4 处理为较好的毛×响杂交组合的增殖培养基。对于毛×84K,处理 1 与 3、4、5、6、7、8、9 间差异显著,2、3、4 与 5、6、7、8、9 间差异显著;1、2 与 6、8、9 间差异极显著。处理 1 产生的芽数最多,为 7.93 个,1、2、4、3 为其较好的增殖培养基,与毛×响杂交组合筛选的相同,只是二者在差异程度上大小不一样。

2.1.2 不同激素配比对 2 个杂交种生长状况的影响

由表 7 知, 处理 1、2、3、4、5、6 作用下 2 个杂交种均生长较快, 且不存在叶卷曲现象。处理 1、2、3 毛× 响叶色均为绿色, 处理 4、5、6 时, 毛× 84K 的叶色均为绿色。由图 3、4 可知, 毛× 响的苗高随 6-BA 浓度的增大而降低, 在 6-BA 浓度为 0.5 mg/L 时为最大值。而毛× 84K 则呈现出先升后降的趋势。2 个杂交种的苗高均随 NAA 浓度的增大而降低, 在 NAA 浓度为 0.01 mg/L 时为最大值。所以图 3、4 所示最大苗高值时的激素浓度与表 7 数据显示的最大苗高值时的激素浓度组合是一致的。由表 7 和图 3、4 可得, 0.50 mg/L 6-BA 浓度与 NAA 的组合利于毛× 响的生长, 1.0 mg/L 6-BA 浓度与 NAA 的

表 6 2 个杂交种在不同激素组合培养基上的茎芽数特征值及多重比较结果

处理	均值		5%显著水平		1%显著水平	
	毛× 响	毛× 84K	毛× 响	毛× 84K	毛× 响	毛× 84K
1	6.38	7.93	a	a	AB	A
2	4.60	6.88	ab	ab	AB	A
3	7.00	5.88	a	b	A	AB
4	5.83	6.00	a	b	AB	AB
5	2.33	4.00	b	c	B	BC
6	5.00	2.33	ab	c	AB	C
7	4.20	4.00	ab	c	AB	BC
8	4.00	3.00	ab	c	AB	C
9	2.50	2.80	b	c	B	C

组合利于毛× 84K 的生长。

表 7 2 个杂交种茎芽生长情况的比较

编号	激素浓度/ mg · L <sup>-1</sup>		苗高/ cm		生长		叶色	
	6-BA	NAA	毛× 响	毛× 84K	毛× 响	毛× 84K	毛× 响	毛× 84K
CK	0	0	2.56	2.88	缓慢	缓慢	绿色	绿色
1	0.5	0.01	3.52	3.42	较快	较快	绿色	嫩绿
2	0.5	0.05	3.34	3.30	较快	较快	绿色	浅绿
3	0.5	0.10	3.15	3.12	较快	较快	绿色	浅绿
4	1.0	0.01	3.28	3.88	较快	较快	浅绿	绿色
5	1.0	0.05	3.12	3.65	较快	较快	嫩绿	绿色
6	1.0	0.10	2.86	3.32	较快	较快	绿色	绿色
7	1.5	0.01	2.63	3.05	较慢, 丛生状叶较多 叶卷曲	较慢 丛生状叶 较多叶卷曲	浅绿	浅绿
8	1.5	0.05	2.42	2.76	较慢, 丛生状叶 较多叶卷曲	较慢 丛生状叶 较多叶卷曲	浅绿	浅绿
9	1.5	0.10	2.20	2.52	较慢	较慢, 叶卷曲	浅绿	浅绿

表 8 不同 NAA 浓度对 2 个杂交种生根诱导的影响

编号	NAA 浓度 / mg · L <sup>-1</sup>	接种株数 / 个	生根株数/ 个		生根率/ %		二次根		备注	
			毛× 响	毛× 84K	毛× 响	毛× 84K	毛× 响	毛× 84K	毛× 响	毛× 84K
CK	0.00	30	10	9	33.3	30.0	主根少 无次生根	主根少 无次生根	基部大, 叶小	基部大, 叶小
1	0.01	30	14	12	46.7	40.0	主根少次生 根少而细	主根少次生 根少而细	底叶黄, 叶小	底叶黄, 叶小
2	0.05	30	20	18	66.7	60.0	主根少次 生根多	主根少次 生根多	基部大, 叶小, 底叶黄	基部大, 叶小, 底叶黄
3	0.10	30	24	26	80.0	86.7	主根次生 根多而粗	主根次生根 都多主根粗	基部小, 叶大而绿	基部小, 叶绿
4	0.15	30	26	29	86.7	96.7	主根次生根多, 主根粗	主根次生根 都多主根细	基部小, 叶绿	基部小, 叶绿

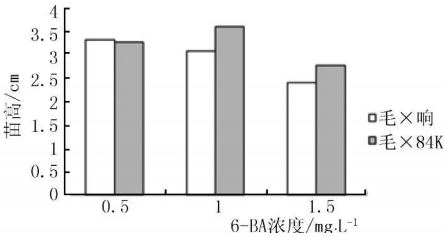


图 3 杂种苗高度随 6-BA 浓度变化

综合以上各表、图数据分析可得 对于毛× 响杂种, 诱导率最高依次为 1、2、3, 均值最高的是处理 3、1、4, 生长状况较好的为 1、2、3, 生长高度处理 1 高于 3。综合诱导率, 茎芽数, 苗高几方面指标, 处理 1 为毛× 响最好的

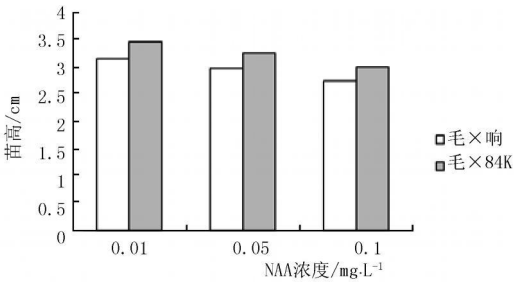


图 4 杂种苗高度随 NAA 浓度变化

增殖培养基。对于毛× 84K, 诱导率最高的是处理 4、2、3, 均值较高的处理是 1、2、4、3, 生长状况较好的处理是

2、3、4、5、6, 综合考虑, 4 为毛×84K 最好的增殖培养基。

## 2.2 不同浓度 NAA 对生根诱导的差异

当茎芽长度达到 3~4 cm 时, 将其剪下进行生根培养。表 8 可知, NAA 对 2 个杂交种生根诱导效果明显, 能有效促进主根, 次生根的生长, 且 2 个杂交种的生根率随 NAA 浓度增大而增大, 其中处理 4 对 2 个杂交种的生根诱导率均最高, 毛×响的生根率达到 86.7%, 毛×84K 的达到 96.7%, 且根长势良好。

## 3 结论与讨论

### 3.1 激素配合使用对芽增殖的效应

该研究结果显示, 6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.01 mg/L, 6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.01 mg/L 分别为最佳的毛×响, 毛×84K 的茎芽增殖培养基, 说明毛白杨杂种茎芽分化需要较低质量浓度的 6-BA, 6-BA 与低质量浓度的 NAA 配合使用能更好促进茎芽的生长。

毛×响增殖最多时的 6-BA 浓度是 0.5 mg/L, 随 6-BA 浓度的增大, 增殖芽数减少, 可能存在 6-BA 浓度小于 0.5 mg/L 的最大值, 所以为了获得更精确结果, 应在 0~1.0 mg/L 之间设置梯度差更小的 6-BA 浓度进行试验设计, 获得更准确的结果。毛×84K 在 6-BA 1.0 mg/L 时增殖效果最好, 也需要在 0~1.0 mg/L 之间设置梯度差更小的 6-BA 浓度进行试验设计, 综合各项指标筛选最佳增殖培养基。

从平均芽数和生长状况看, 当 6-BA 在 0.5、1.0 mg/L 时苗基本都可以正常的生长, 当 6-BA 浓度达到 1.5 mg/L 时, 苗高显著降低, 丛生状叶较多, 茎较短, 有时很难独立成活, 且存在部分茎叶卷曲, 伸长生长不正常现象, 可能过高的 6-BA 浓度不利于抽茎, 有利于丛生状叶增加。在诱导丛生芽的过程中还发现, 幼嫩的组织都比老年的组织具有较高的形态发生能力<sup>[11]</sup>。

### 3.2 激素对诱导生根的影响

在培养基中添加不同浓度的 NAA, 2 个杂交种的生根能力都增强, 根数和根长都有所增加, 生出根数和粗细程度不同, 证明 NNA 浓度在 0~0.15 mg/L 范围内, 生根率随 NAA 浓度的增大而增加, MS+NAA 0.15 mg/L 培养基为毛白杨×84K 杨, 毛白杨×响叶杨杂种的最适生根培养下步试验内容还要考虑 1/2MS, 3/4MS 培养基, NAA 的其它浓度或其他的生长素共同使用的作用效果。

### 参考文献

- [1] 赵勇刚, 高克姝. 三倍体毛白杨发展战略研究[J]. 陕西林业科技 1997(3): 26-31.
- [2] 吴耀辉, 马彩萍. 截叶毛白杨叶组织培养成苗的研究[J]. 西北植物研究 1983 3(1): 65-69.
- [3] 陈耀华. 利用胚培养方法获得毛白杨实生苗[J]. 北京林业学院报, 1983 (3): 85-88.
- [4] 孙学新, 邓煜. 毛白杨优树快速繁殖的研究[J]. 甘肃农业报, 1989 (2): 21-23.
- [5] 高金润, 朱之梯. 毛白杨组培茎段扦插研究[J]. 北京林业大学学报 1988, 10(4): 80-84.
- [6] 鲁善发. 三倍体毛白杨组织培养技术体系研究[J]. 植物学报 2001, 43(4): 435-437.
- [7] 张存旭, 张瑞娥, 赵忠. 不同无性系毛白杨离体植株再生能力比较研究[J]. 西北农林科技大学学报 2004(8): 71-74.
- [8] LU Shan-fa, ZHAO Huayan, WEI Jian-hua, et al. Establishment of in Vitro Regeneration System of Triploid Chinese White Poplar[J]. 植物学报, 2001, 43(4): 435-437.
- [9] 王斌, 李百炼, 张金凤, 等. 杂种白杨离体再生体系的建立[J]. 西北植物学报 2009 29(4): 704-710.
- [10] 曹致义, 刘国民. 实用植物组织培养技术教程[M]. 兰州: 甘肃科学技术出版社 1999: 38-41.
- [11] 谭文澄, 戴策刚. 观赏植物组织培养技术[M]. 北京: 中国林业出版社, 1997.

## Research of Establishment of Tissue Culture Regeneration System About Two New Hybrid Poplars

LIU Xiao-mei, FAN Jun-feng, ZHOU Yong-xue, GAO Jian-she

(College of Forestry, Northwest Science and Technology University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100)

**Abstract:** *Populus tomentosa*×*Populus adenopoda* and *Populus tomentosa*×84K poplar were two new hybrids. Sterile shoots of them were used in this tissue culture study as explants. Research on the potential of plantlet regeneration was compared in order to filter out a more satisfactory bud proliferation and rooting medium, establish effective ways to the stem-proliferation of fast propagation. The results showed that the best multiplication medium for *Populus tomentosa*×*Populus adenopoda* was MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.01 mg/L and the shoots proliferation rate was 93.3%, the average number of proliferating stem axillary buds was 6.38. And for the *Populus tomentosa*×84K poplar was MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.01 mg/L and the shoots proliferation rate was 90.0%, the average number of proliferating stem axillary buds was 6.00. The best rooting medium for *Populus tomentosa*×*Populus adenopoda* was MS+NAA 0.15 mg/L, rooting rate reached 86.7%, and the *Populus tomentosa*×84K was MS+NAA 0.15 mg/L, rooting rate was 96.7%.

**Key words:** poplar; new hybrid; tissue culture