

山新杨高效组培再生体系的建立

王红蕾^{1,2}

(1. 黑龙江省农业科学院 黑龙江 哈尔滨 150086 2. 东北农业大学 黑龙江 哈尔滨 150030)

摘要:以山新杨(*P. davidiana*×*P. bolleana*)叶片为外植体, 1/2MS为基本培养基, 对适合山新杨叶片再生的生长调节剂 6-BA 和 NAA 进行研究。结果表明: 适宜山新杨叶片分化培养基是 1/2MS+NAA 0.05 mg/L+6-BA 0.5 mg/L; 继代抽茎培养基是 1/2MS+NAA 0.08 mg/L+6-BA 0.1 mg/L; 最佳生根培养基是 1/2MS+IBA 0.3 mg/L。

关键词: 山新杨; 组织培养; 分化; 生根

中图分类号: S 792 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2010)13-0174-02

山新杨(*P. davidiana*×*P. bolleana*)是以山杨为母本, 以新疆杨为父本, 经人工杂交选育出的优良雌性不育系。从其生物学和生态学特性方面看, 其生长适中, 树干通直, 树冠圆锥形, 树皮光滑翠绿、披白粉, 侧枝细长, 树形优美。同时山新杨生长速度较快, 山新杨与其它杨树品种比较, 容重较重, 干缩系数较小, 抗压力较强, 木材较坚实。由于杂种不孕或拒不接受其它花粉授粉, 没有种子, 果序自然脱落不飞絮, 保持了环境整洁。经过多年的栽培试验和技术鉴定, 认为该品种是目前北方寒冷地区杨树品种中观赏价值非常高的城乡及庭院绿化优良树种。

近几十年来, 国内许多教学、科研和生产单位对山新杨的大量繁殖技术进行广泛深入的潜心研究, 表明山新杨是生根困难、成活率低、繁殖速度慢的树种, 这一点大大限制了这种优良品种的繁殖和发展。利用组织培养技术进行快繁, 获得在遗传上与母体保持一致的植株, 在许多农作物、花卉和果树生产上都已取得了巨大的经济效益^[1]。建立山新杨叶片高效再生组培体系, 可以实现优良品系的无性繁殖, 满足大面积人工造林的需要, 同时也为通过基因工程的方法将耐盐碱基因或抗病、抗虫基因导入山新杨基因组内以获得优良的新品种奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

山新杨无菌苗, 培养基为 1/2MS, 20 g/L 蔗糖, 5.0~6.0 g/L 琼脂, pH 5.8~6.0, 培养室温度为 (25±2)℃, 光/暗周期为 16 h/8 h, 光强 1 500~2 000 lx。

1.2 试验方法

1.2.1 叶片不定芽诱导

基本培养基中分别附加生长

调节物质 NAA (0.025、0.05、0.1 mg/L) 和 6-BA (0.25、0.5、1.0、2.0 mg/L), 共计 12 个处理, 每个处理重复 3 次, 每次接种 10 个叶片, 培养 25 d 时, 调查统计叶片分化倍数。叶片分化倍数公式为: 分化倍数 = 分化芽数量/接种的外植体数。

1.2.2 抽茎培养 在基本培养基中分别附加生长调节物质 NAA (0.05、0.08、0.1、0.15 mg/L) 和 6-BA (0.05、0.1、0.2 mg/L), 共计 12 个处理, 每个处理接种 10 瓶, 培养 20 d 时, 调查芽的增值倍数和平均苗高。芽的增值倍数计算公式为: 芽的增值倍数 = 增值芽数/接种芽数。

1.2.3 生根培养 在基本培养基中分别附加生长调节物质 NAA (0.1、0.2、0.3 mg/L) 或 IBA (0.1、0.2、0.3 mg/L), 共计 6 个处理, 每个处理接种 40 个无根组培苗, 培养 6 d 后, 调查统计生根数量和平均根长及根的状态。

1.2.4 试管苗移栽 选择根系发达、主茎高达 2~4 cm 且木质化程度高的幼苗, 揭去封口膜, 放入塑料大棚练苗 2~3 d 后, 洗去附着在根部的培养基, 移栽于按 2:1 混合的草碳土与沙子的基质中。

2 结果与分析

2.1 不同浓度 6-BA/NAA 配比对山新杨叶片不定芽诱导效果的影响

从表 1 可知, 当 NAA 的浓度一定时, 6-BA 在 0.25~2.0 mg/L 均有不定芽产生, 且芽分化倍数随着 6-BA 附加量的增加呈先增高而后下降的明显趋势。其中以 6 号培养基(1/2MS+NAA 0.05 mg/L+6-BA 0.5 mg/L)有利于提高山新杨叶片芽的分化。幼叶在 6 号培养基上能直接产生不定芽丛, 不定芽起源于伤口处, 先形成少量结构紧密的愈伤组织, 然后在隆起处产生多个小瘤状突起, 进而发育为不定芽, 芽分化倍数高达 12.1 倍。

2.2 抽茎培养

将无菌丛生苗从分化培养基接种到抽茎培养基中培养。表 2 表明, 6-BA 的增加不利于抽茎, 有利于丛状

作者简介: 王红蕾(1980-), 女, 辽宁沈阳人, 在读硕士, 助理研究员, 现从事农业信息研究工作。

收稿日期: 2010-03-25

叶增加。从芽的增值倍数、平均苗高等因素来看,以 6 号培养基(1/2MS+NAA 0.08 mg/L+6-BA 0.1 mg/L)诱导效果最好,芽的增值倍数为 3.0 倍,平均苗高为 3.6 cm。

表 1 不同浓度 6-BA/NAA 配比对山新杨叶片不定芽诱导效果的影响

处理	NAA 浓度 /mg·L ⁻¹	6-BA 浓度 /mg·L ⁻¹	外植体数 /个	分化芽数量 /个	分化倍数 /倍
1	0.025	0.25	30	259	8.6
2	0.025	0.5	30	318	10.6
3	0.025	1.0	30	267	8.9
4	0.025	2.0	30	219	7.3
5	0.05	0.25	30	321	10.7
6	0.05	0.5	30	364	12.1
7	0.05	1.0	30	300	10.0
8	0.05	2.0	30	289	9.6
9	0.1	0.25	30	283	9.4
10	0.1	0.5	30	303	10.1
11	0.1	1.0	30	280	9.3
12	0.1	2.0	30	242	8.1

表 2 不同浓度 6-BA/NAA 配比对山新杨不定芽的抽茎效果的影响

培养基	6-BA 浓度 /mg·L ⁻¹	NAA 浓度 /mg·L ⁻¹	接种芽数 /个·瓶 ⁻¹	20 d 增值芽数 /个·瓶 ⁻¹	增值倍数 /倍	平均苗高/cm
1	0.05	0.05	20	36	1.8	2.8
2	0.05	0.08	20	32	1.6	3.3
3	0.05	0.1	20	28	1.4	3.5
4	0.05	0.15	20	26	1.3	3.9
5	0.1	0.05	20	63	3.15	3.3
6	0.1	0.08	20	60	3.0	3.6
7	0.1	0.1	20	51	2.55	3.7
8	0.1	0.15	20	26	1.3	3.9
9	0.2	0.05	20	69	3.45	2.7
10	0.2	0.08	20	65	3.25	3.1
11	0.2	0.1	20	63	3.15	3.2
12	0.2	0.15	20	38	1.9	3.5

2.3 生根培养

抽茎培养 20~30 d 后,将抽茎培养基中的 2.5~3 cm 丛生不定芽切成若干单株移入生根培养基中诱导生根。表 3 表明,以 6 号培养基(1/2MS+IBA 0.3 mg/L)的效果最好,第 6 天开始在幼苗基部长出根,平均根长 15 mm,根黄白色多而长,生根率达 100%,利于移栽。

表 3 不同生根培养基对山新杨生根的影响

培养基	NAA /mg·L ⁻¹	IBA /mg·L ⁻¹	达到 100%生根天数/d	每株平均根数/条	平均根长/mm	根的状态
1	0.1	0	8~11	2.3	6	粉红色,短
2	0.2	0	7~9	3.6	8	粉红色,短,略粗
3	0.3	0	7~8	3.1	9	粉红色,短粗
4	0	0.1	10~12	3	11	白色细长
5	0	0.2	8~10	3.6	14	黄白色略细长
6	0	0.3	6~8	5	18	黄白色长,略粗

2.4 试管苗移栽

试验表明,移栽于经过除菌剂代森锌(80%可湿性粉剂,沈阳农药有限公司生产,使用浓度 4 g/L)处理 3 d 后的草炭土与沙子按 2:1 混合的基质中。苗木放入塑料大棚中遮荫培养,10 d 内保湿淋水,相对湿度 90%左右,约 2 周后新根长出即可成活,移栽成活率可达 86%。

3 结论

激素是影响植物组织培养成功与否的一个关键因素。丛生芽是快繁的重要途径,不产生变异,可以保持原有的优良性状。在山新杨的组织培养中,以山新杨叶片为外植体,1/2MS 培养基为基本培养基,NAA 和 6-BA 的配比不同,培养 25 d,观察统计芽的诱导倍数,得出芽分化倍数随着 6-BA 附加量的增加有先呈增高而后呈下降的明显趋势,综合以上因素,由此得出诱导丛生芽的最佳培养基为:1/2MS+NAA 0.05 mg/L+6-BA 0.5 mg/L+琼脂 5.0 g/L+蔗糖 25 g/L。在抽茎培养时,当 6-BA 浓度较高时,尽管提高芽的增值倍数,但抑制茎芽的伸长生长。当 NAA 浓度高时,植株虽然很高,但抑制了芽的增值倍数。考虑到诱导抽茎培养基既能使丛生芽数量增加同时又使不定芽长高,确定最佳抽茎培养基为:1/2MS+NAA 0.08 mg/L+6-BA 0.1 mg/L+琼脂 5.0 g/L+蔗糖 25 g/L;从生根天数的早晚、生根数量及根的状态来确定生根诱导最佳培养基为:1/2MS+IBA 0.3 mg/L+琼脂 5.5 g/L+蔗糖 25 g/L,以上培养基 pH 均为 5.8。

参考文献

[1] 李晓,王学德,王振华.几种陆地棉腋芽快速繁殖的研究[J].棉花学报,2002,14(4):215-218.

Establishment of Efficient Tissue Culture Regeneration System of Populus

WANG Hong-lei^{1,2}

(1. Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences Harbin, Heilongjiang 150086; 2. Northeast Agricultural University, Harbin, Heilongjiang 150030)
Abstract: With Populus(*Populus davidiana*× *P. bolleana*)leaves as explants, 1/2MS as the basic medium, this experiment's aim was to study the growth regulator 6-BA and NAA which fitted the leaf regeneration. The results showed that the most appropriate medium for Populus leaf differentiation was 1/2MS with NAA 0.05 mg/L and 6-BA 0.5mg/L, and the most appropriate subculture medium was 1/2MS with NAA 0.08 mg/L and 6-BA 0.1 mg/L, and the best rooting medium was 1/2MS with IBA 0.3 mg/L.
Key words: populus; tissue culture; differentiation; root