

四倍体刺槐组织培养技术研究*

蒋祥娥 蔡 桁 汪建亚 户田 忠雄(日)

(中日合作湖北省林木育种科学技术中心 武汉 430079)

摘 要:四倍体刺槐 *Robinia pseudoacacia* 是我国引种驯化历史较久的外来树种,为人工诱变植株,分速生型和饲料型。与普通刺槐相比具有更强的适生能力,对土质要求不严格,耐干旱瘠薄,在海拔 2 000 m 以下、降水量不低于 200 mm、年平均气温不低于 3 ℃ 的地区均能生长。本实验对速生型四倍体刺槐进行了组织培养及健化技术的研究,在不定芽的诱导中,以 MS、1/2(N)MS、LS、1/2(N)LS 为基本培养基,在各培养基中,以 MS+BAP0.2 mg/L+NAA0.05 mg/L 的组合生长情况最好,但随着继代次数的增加,其细胞分裂素要逐步降低。在生根培养中,以 1/2MS+NAA0.05 mg/L+IBA0.01 mg/L 生根最好。在苗木健化中,其成活率达 73.4%。

关键词:速生型;四倍体刺槐;组织培养

Study on Tissue Culture Technique for Tetraploid *Robinia Pseudoacacia*

Jiang Xiang'e Cai Heng Wang Jianya Tao Da(Japan)

(Sino-Japan Cooperation Scientific and Technical Center for Forest Tree

Breeding of Hubei Province Wuhan 430079)

Abstract: *Robinia pseudoacacia*, a domesticated exotic species with a long history, is an artificially induced variation divided into fast growing and fodder types. Compared with ordinary *Robinia pseudoacacia*, it is drought and sterile resistant, not restrictive to soil quality, and more adaptable, which can survive below altitude of 2 000 m, rainfall not below 200 mm and average temperature per year not below 3 ℃. This test has studied the tissue culture and exuberance technique for *Robinia pseudoacacia* of the fast growing type. In inducement test of adventitious bud, MS, 1/2(N)MS, LS, 1/2(N)LS were taken as basic culture medium, among which the MS+BAP0.2 mg/L+NAA0.05 mg/L combination turned the best growing condition. But with the increase of filial generation, their cell division would turn down step by step. Among the root raining test, 1/2MS+NAA0.05 mg/L+IBA0.01 mg/L turned the best condition. In the seedling exuberance test, its survival rate was 73.4%.

Key words: fast growing type; tetraploid *Robinia pseudoacacia*; tissue culture

1 目的和意义

四倍体刺槐 *Robinia pseudoacacia* 是我国引种驯化历史较久的外来树种,为人工诱变植株,属温带树种,分速生型和饲料型。具有速生、叶大、条

粗、枝密的特点,与普通刺槐相比具有更强的适生能力,在海拔 2 000 m 以下,降水量不低于 200 mm,年平均气温不低于 3 ℃,坡度在 50°以下地区均能生长。对土质要求不严格,耐干旱瘠薄,在沙土、壤土、粘土上均能生长,甚至在矿渣滩、石砾土

* 收稿日期:2005-10-20

上也能生长。推广四倍体刺槐可使生态效益、社会效益、经济效益同步发展。但是,近年来由于老品种不断退化,新品种缺乏,致使刺槐的推广受到一定的限制。由于四倍体刺槐花粉育性很低,限制了该良种的有性繁殖,采用扦插、嫁接等无性繁殖方法,其繁殖速度慢、育苗效率低。在种质有限的条件下不能在生产中大量推广,而采用组织培养技术繁殖,不仅可以加速良种繁育,而且在离体培养条件下个体小、群体大,实验条件易控制,不受时间和季节的限制,大大提高繁殖系数和工作效率,而且能在一定程度上保持母本的优良性状。本实验对速生型刺槐进行了组织培养及健化技术的研究。

2 材料和方法

2.1 材料的处理

剪取四倍体刺槐无性系 1 a 生苗健壮的休眠枝,用清水反复冲洗后放在恒温室里进行水培,并适当加入激素。约 20 d 左右,从腋芽处萌发出嫩枝,剪取嫩枝用 70% 的酒精消毒 30 s, 0.1% HgCl_2 消毒 15 min, 然后用无菌水反复冲洗 5 次左右,浸入无菌水中备用,消毒后切去材料与药液接触的伤口,切长为 1.2 cm 带腋芽的茎段和茎尖,接种于所配制的培养基中^[1]。

2.2 试验方法

2.2.1 培养条件

培养室温度为 24~26 ℃ 左右,光照强度 2 000 lx,光照时间 12 h/d。

2.2.2 不定芽的诱导

在不定芽的诱导中,以 MS、1/2(N)MS、LS、1/2(N)LS 为基本培养基,分别添加细胞分裂素 6-苄基腺嘌呤 BAP 0.1、0.2、0.5 mg/L 以及与细胞生长素奈乙酸 NAA 0.05 mg/L、吲哚丁酸 IBA 0.1 mg/L 的组合^[2]。

2.2.3 生根培养

以 1/2MS 为基本培养,分别添加细胞生长素奈乙酸 NAA 0.05、0.10、0.50 mg/L,与作为基质的琼脂、黄沙、蛭石的组合。以及 IBA 0.01、0.05、0.10 mg/L 和 NAA 0.05、0.10、0.50 mg/L 相组

合的琼脂培养基的实验^[3]。

2.2.4 试管苗的健化

在 24~26 ℃ 的培养室中,进行生根培养 7 d 左右后,将其移于用于健化的培养室中,放置于向阳的培养架上。放置 10 d 左右后,将瓶盖稍稍松开,2~3 d 后,将瓶盖揭开^[4]。让其湿度逐渐降低,并逐渐增强光照,使新叶逐渐形成蜡质,产生皮毛,降低气孔开张度,减少水分散失。揭盖时选择空气湿度开始升高的傍晚,让其逐步适应外界环境。放 1~2 d 后,将试管苗取出进行移栽。

2.2.5 试管苗的移栽及根插

四倍体刺槐试管苗炼苗后,将进行移栽。移栽的基质是黄沙,移栽前将黄沙进行消毒处理。移栽时试管苗用 IBA 溶液浸泡 15 min 后再栽。1 周后,用消毒液进行 1 次杀菌。2 周喷 1 次营养液。1 d 浇 2~3 次水。1 个月后可以栽入苗圃地中。生长 1 a 后,将其根挖起,将 1 cm 粗左右的根剪成约 20 cm 长,进行根插繁殖。

3 结果和分析

3.1 培养基、激素对不定芽诱导的影响

在 MS、1/2(N)MS、LS、1/2(N)LS 为基本培养基中,经过培养 20 d 左右后观察,在 1/2(N)MS、1/2(N)LS 各组合中,其苗分化多,但均生长较细,在 LS 培养基中,与 1/2(N)MS、1/2(N)LS 情况一样。MS 培养基中,以 6-苄基腺嘌呤 BAP 0.20 mg/L、细胞生长素奈乙酸 NAA 0.05 mg/L 的组合生长情况最好,分化不定芽多、苗生长绿又粗。但随着继代次数的增加,其细胞分裂素要逐步降低。

3.2 激素、基质对生根的影响

将在分化培养基中诱导得到的 3~5 cm 长的不定芽分别接于以下生根培养基中,各培养基中分别接 45 株。接种后放在温度为 24~26 ℃、光照 2 000 lx 左右的培养室里培养。1 个星期左右,分别露出根原基。3 个星期其生根调查情况见图 1 和表 1。

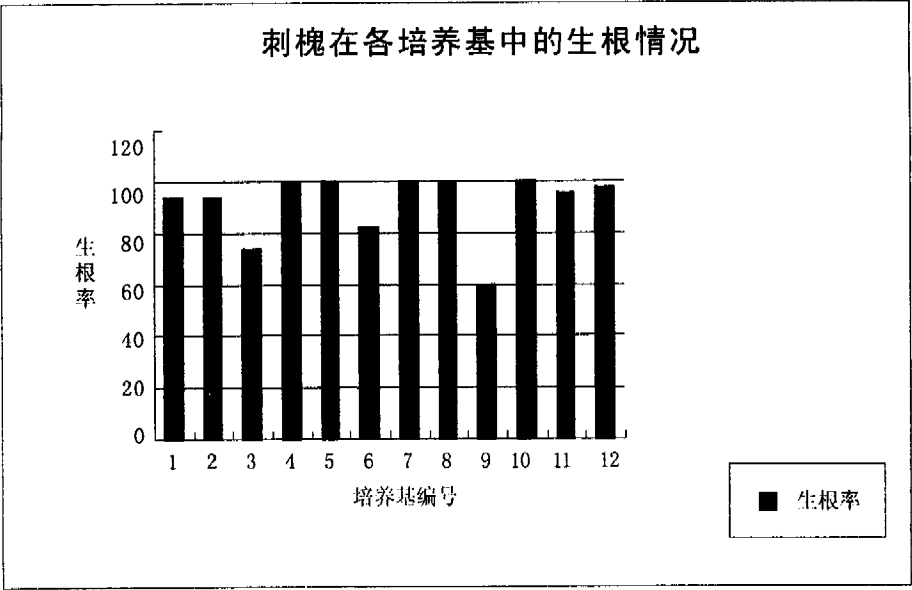


图 1 刺槐在各培养基中的生根情况

表 1 激素、基质对生根的影响

编号	培养基	激素浓度(mg · L ⁻¹)		基质	接种数	生根数	生根率/%	综合评价
		NAA	IBA					
1	1/2MS	0.05	0.00	琼脂	45	42	93.3	一般
2	1/2MS	0.05	0.00	黄沙	45	42	93.3	很好
3	1/2MS	0.05	0.00	蛭石	45	33	73.3	不太好
4	1/2MS	0.10	0.00	琼脂	45	45	100.0	一般
5	1/2MS	0.10	0.00	黄沙	45	45	100.0	好
6	1/2MS	0.10	0.00	蛭石	45	37	82.2	不太好
7	1/2MS	0.50	0.00	琼脂	45	45	100.0	一般
8	1/2MS	0.50	0.00	黄沙	45	45	100.0	一般
9	1/2MS	0.50	0.00	蛭石	45	27	60.0	不好
10	1/2MS	0.05	0.01	琼脂	45	45	100.0	很好
11	1/2MS	0.10	0.05	琼脂	45	43	95.6	一般
12	1/2MS	0.50	0.10	琼脂	45	44	97.8	一般

在仅添加细胞生长素奈乙酸 NAA 时,其根是通过愈伤组织形成的,且部分苗发黄。在黄沙、蛭石中进行生根培养,其根是从茎段的基部发生的,且具有根毛。但在蛭石中,生根率均较低,且苗生长状况较差。在黄沙中以 NAA0.10 mg/L 中苗和根生长最好,在 NAA0.05 mg/L 中生长也可以,但生根率稍低。在 NAA0.50 mg/L 中,根生长较短,且苗的叶子有卷曲现象。在添加 2 种细胞生长素奈乙酸 NAA、吲哚丁酸 IBA 时都还可以,但以 NAA 0.05 mg/L、IBA0.01 mg/L 生根最好,其愈伤组织形成较少,根呈辐射状,苗生长状况也好。由于 IBA 对生根作用强烈,其不定根长而细,与 NAA 混合使用效果较好。而 NAA 使用浓度不可随意加大,否则会对作物生长起抑制作用。

3.3 试管苗移栽成活情况

为了调查移栽成活情况,进行了 6 次移栽试验,总共移栽株数是 526 株,成活株数为 386 株,平均成活率达 73.4%。具体见表 2。

表 2 试管苗移栽成活情况统计表

移栽次数	移栽数/株	成活数/株	成活率/%
1	120	49	40.8
2	104	104	100.0
3	37	33	89.2
4	19	16	84.2
5	83	76	91.2
6	163	108	66.3
总计	526	386	73.4

在移栽中,如果苗生长的壮、根系好则易成活。但如果浇水过多,其基质通气不良,影响长根,且小苗易烂死。

4 问题讨论

(1)在不定芽分化过程中,不能只追求其繁殖系数。在提高其繁殖系数的同时,要考虑苗木的质量,这样有利于苗木的健化。在继代培养时,部分苗上附有白色结晶物,另外基部易形成淡黄色的呈浓状的分泌物,其原因有待于进一步观察。

(2)在生根培养时,如果根是通过愈伤组织形成,那么其运输能力相对较差,而且这样的次生根容易从愈伤组织连接处折断。其次是没有根毛或根毛较少,这样根系的吸收能力极低,根系吸收的水分难以满足苗蒸腾作用的消耗,小苗体内的水分难于达到平衡。因此,要避免根从愈伤组织发生。

(3)在高湿、弱光和异养条件下分化和生长的叶,叶保护组织不发达,光和作用能力极低,易失水萎蔫。另外,其组织幼嫩、结构较松散,机械组织上不发达,容易发生机械损伤,对病菌、虫害较敏感,容易发生茎叶和植株腐烂。为了让试管苗从“异

养”到“自养”的转变,需要有1个逐步适应的过程。因此,在移栽之前必须要进行炼苗,使试管苗慢慢适应外界的环境。

(4)植物组织培养获得的试管苗能否用于生产,是否产生效益,取决于最后一步,试管苗的移栽。移栽时,一般人都注重了高湿度,而忽略了基质的通气性,在保证空气湿度的同时,要尽量保持基质的透气性。如基质水分过多,将通气不良,影响长根,且小苗易烂死。这是试管苗移栽不成活的主要原因。

参考文献

- [1]郭军战.四倍体刺槐组织培养中的外植体选择和消毒研究.西北林学院学报,2002,17(1):15~18.
- [2]王树芝,王砚亭.四倍体刺槐无性系组织培养技术的研究.核农学报,2002,16(1):40~44.
- [3]戸田 忠雄.木本植物的繁殖和育种.日本:农业图书出版社,1989.
- [4]李 云.林果花菜组织培养快速育苗技术.北京:中国林业出版社,2001.

中国石竹和美国石竹的区别

中国石竹和美国石竹均属石竹科。前者原产我国,后者原产欧洲,在美国栽培最多,两者的区别主要有以下几个方面:

(1)生态习性不同。中国石竹为多年生草本植物,耐寒性强,可露地越冬,以排水良好的石灰质土壤为佳;美国石竹为多年生宿根草本植物,耐寒性一般,对土壤适应性强。

(2)茎不同。中国石竹的茎丛生、直立、光滑;美国石竹茎直立、具四棱、比中国石竹节间长,较粗壮。

(3)叶不同。中国石竹叶对生,线状披针形,先端渐尖,基部抱茎;美国石竹叶对生,阔披针形至长圆状披针形或狭椭圆形。

(4)花不同。中国石竹的花单生、对生或簇生于枝顶,花茎约2~3 cm,花期在4~5月;美国石竹花小而多,有短梗,密集成头状,聚伞花序,花期5~7月。

《湖北林业科技》编辑部摘编