

# 绒毛白蜡茎段的组织培养及植株再生

陈之群<sup>1</sup>, 刘志敏<sup>2</sup> (1. 临沂师范学院农林学院, 山东临沂 276003; 2. 河南农业大学林学院园艺学院, 河南郑州 450002)

**摘要** 以绒毛白蜡幼嫩茎段为材料, 研究了其组织培养和植株再生技术。结果表明: 绒毛白蜡组织培养适宜的基本培养基为 WPM, 幼嫩茎段芽诱导的适宜培养基为 WPM + TDZ 1.0 mg/L + NAA 4.0 mg/L, 幼芽形成根的适宜培养基为 WPM + IBA 1.0 mg/L + NAA 0.5 mg/L。该研究结果为绒毛白蜡的细胞工程和基因工程及新品种的快速繁殖奠定了基础。

**关键词** 绒毛白蜡; 组织培养; 培养基; 植株再生

中图分类号 Q 949.776.2 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2006)03-0472-02

## Technique of Tissue Culture and Plantlet Regeneration of *Fraxinus velutina*

CHEN Zhi-qun et al (College of Agro-forestry Sciences, Linyi Teacher's University, Linyi, Shandong 276003)

**Abstract** A study on the technique of tissue culture and plantlet regeneration of *Fraxinus velutina* stem was conducted. The results showed that WPM medium was its basic one and that media for the bud induction from stem segments and the rooting from shooting were WPM + TDZ 1.0 mg/L + NAA 4.0 mg/L and WPM + IBA 1.0 mg/L + NAA 0.5 mg/L respectively. These results might provide references to the cell engineering and gene engineering of *Fraxinus velutina*.

**Key words** *Fraxinus velutina*; Tissue culture; Medium; Plantlet regeneration

绒毛白蜡为木犀科白蜡属落叶乔木, 山东省普遍栽培, 多见于河滩、地堰及平原沙地。其对气候、土壤要求不严, 耐寒, 耐干旱, 耐水湿, 耐盐碱。深根树种, 侧根发达, 生长较迅速, 病虫害少, 抗风、抗烟尘, 材质优良。长期以来白蜡以种子繁殖为主, 由于其幼龄期长, 且具明显的结实间隔期, 严重影响种子的生产与繁殖。因此, 无性繁殖和生物技术在白蜡上的应用具有很大潜力。同时, 对那些经选择、品种改良和遗传操作的个体进行无性繁殖, 可加速白蜡的良种繁育进程。但绒毛白蜡的组织培养技术至今尚未见报道。笔者以绒毛白蜡幼嫩茎段为材料, 研究了其组织培养和植株再生技术, 旨在为绒毛白蜡的细胞工程和基因工程及新品种的快速繁殖提供理论依据。

## 1 材料与与方法

**1.1 供试材料** 为 2004 年采集于山东省临沂市河东区林木花卉绿化种苗繁育基地的 10 年生绒毛白蜡幼嫩茎段。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 外植体的消毒及培养。** 取幼嫩茎段, 剪去叶片, 先在自来水下用毛刷洗去表面尘土, 再切成 2.0~2.5 cm 长的茎段, 每个茎段带 1~2 个腋芽。然后用流水冲洗 2~3 h, 放在超净工作台上待用。以浓度 75% 酒精溶液消毒 1 min, 无菌水冲洗 2 次, 再用浓度 0.1% HgCl<sub>2</sub> 溶液消毒 6 min, 无菌水冲洗 6~8 次后, 用无菌纸吸干材料表面的水分, 切成 1.0~1.5 cm 的茎段接种在不同的培养基上。培养基中附加蔗糖 30 g/L, 琼脂 10 g/L, 培养室温度为 (25 ± 1) °C, 光照强度为 2 000 lx, 光照时间为 12 h/d (7:00~19:00)。

#### 1.2.2 培养基选择。

**1.2.2.1 基本培养基。** 将绒毛白蜡幼嫩茎段接种于 MS、1/2 MS、WPM 和改良 WPM (添加 1 g/L 的 NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>) 等 8 种培养基上 (表 1), 进行芽的诱导。每处理接种 10 瓶, 10 d 后统计结果。

**1.2.2.2 芽诱导培养基。** 将绒毛白蜡幼嫩茎段接种在含有噻重氮苯基脲 (TDZ) 和生长素 α- 萘乙酸 (NAA) 组成的 9 种浓度组合基本培养基上 (表 2), 每种组合接种 10 瓶, 每瓶

接种 1 个外植体。在室内培养 20 d 后, 统计诱导结果。

表 1 不同组合的基本培养基

处理号	基本培养基	生长调节物质 // mg/L	
		TDZ	NAA
a	MS	0.005	1.0
b	MS	0.01	1.0
c	1/2MS	0.005	1.0
d	1/2MS	0.01	1.0
e	WPM	0.005	1.0
f	WPM	0.01	1.0
g	改良 WPM	0.005	1.0
h	改良 WPM	0.01	1.0

表 2 不同组合的芽诱导培养基

处理号	生长调节物质 // mg/L	
	TDZ	NAA
1	0.05	1
2	0.05	2
3	0.05	4
4	0.10	1
5	0.10	2
6	0.10	4
7	0.20	1
8	0.20	2
9	0.20	4

**1.2.2.3 根诱导培养基。** 待诱导芽在培养基上长到 3 cm 左右时, 从茎基部切下, 接种于 MS 和 WPM 培养基上, 附加不同浓度生长素 IBA 和 NAA, 具体处理组合见表 3。每处理接种 10 瓶, 每瓶接 1 棵苗。分别于培养后 10、15、25 d, 统计生根率, 并统计培养后 25 d 的根长 (统计 0.5 cm 以上所有根的长度, 取 10 瓶苗根长的平均值)。

## 2 结果与分析

**2.1 不同基本培养基对绒毛白蜡茎段芽诱导的影响** 绒毛白蜡幼嫩茎段在 4 种基本培养基上均有芽形成, 但芽诱导率差异较大 (表 4)。由表 4 可知, 在 WPM + TDZ 0.01 mg/L + NAA 1.0 mg/L 培养基上, 芽诱导率最高, 达到了 70%, 而在 1/2MS + TDZ 0.05 mg/L + NAA 4.0 mg/L 培养基上芽诱导率只有 10%。其原因可能是因为在生长物质浓度相

**作者简介** 陈之群 (1970 - ), 男, 山东临沂人, 讲师, 从事设施园艺及组织培养研究。

**收稿日期** 2005-10-31

同的情况下, WPM 培养基中所含的成分更能满足绒毛白蜡茎段组织培养对营养成分的需求。故绒毛白蜡幼嫩茎段芽诱导的基本培养基以 WPM 最佳。

表 3 不同组合的根诱导培养基

处理编号	基本培养基	生长调节物质//mg/L	
		IBA	NAA
I	MS	0.5	0.5
II	MS	0.5	1
III	MS	0.5	2
IV	MS	1	0.5
V	MS	1	1
VI	MS	1	2
VII	WPM	0.5	0.5
VIII	WPM	0.5	2
IX	WPM	0.5	2
X	WPM	1	0.5
XI	WPM	1	1
XII	WPM	1	2

表 4 不同基本培养基对绒毛白蜡茎段芽诱导的影响

处理组合	芽诱导块数	芽诱导率//%
a	2	20
b	4	40
c	1	10
d	3	30
e	5	50
f	7	70
g	5	50
h	6	60

2.2 不同生长调节物质的浓度组合对绒毛白蜡茎段芽诱导的影响 由表 5 可以看出, 绒毛白蜡的芽诱导率因生长调节物质浓度的不同而存在很大的差异。当 TDZ 浓度一定时, 芽诱导率随 NAA 浓度的升高而升高, 且都在 NAA 浓度达最大时, 芽的诱导率也达到最大值。WPM + TDZ 0.05 mg/L + NAA 2.0 mg/L 和 WPM + TDZ 0.01 mg/L + NAA 4.0 mg/L 培养基上 NAA 和 TDZ 浓度的比值均为 40, 但芽的诱导率不同, 分别为 50% 和 90%。芽的诱导是生长素和细胞分裂素共同作用的结果, 它既取决于两者的相对浓度, 又取决于其绝对浓度, 这可能就是导致不同生长调节物质浓度组合芽诱导率不同的原因。从诱导率的高低看, WPM + TDZ 0.01 mg/L + NAA 4.0 mg/L 的诱导率高达 90%, 为绒毛白蜡茎段芽诱导的最佳培养基。

表 5 不同处理对绒毛白蜡茎段芽诱导的影响

处理组合	芽诱导块数	芽诱导率//%
1	3	30
2	5	50
3	8	80
4	4	40
5	7	70
6	9	90
7	2	20
8	5	50
9	8	80

2.3 不同培养基组合对幼芽生根的影响 由表 6 可以看

出, MS 和 WPM 培养基根诱导率差异较大。在生长调节物质浓度相同的情况下, 接种后 10 d WPM 生根率最高, 说明绒毛白蜡幼芽在不同培养基上生根速度不同; 接种后 15 d, 以 WPM 为基本培养基, 除了 VII 号培养基生根率为 80% 外, 其他培养基的生根率都达到 100%, 而 MS 培养基上根诱导率也有很大提高; 接种后 25 d, 除前 3 种培养基外, 其余培养基上根诱导率都达 100%。接种后 25 d 统计根长发现, 在根诱导率相同的情况下根长不同, WPM 培养基上根长大于相应浓度 MS 培养基上的根长, 这与接种后 10 d 统计生根率时, WPM 培养基的生根率较高相一致。以上结果表明, 对绒毛白蜡无根苗根的诱导, 生根速度与根长存在明显的正相关。早期生根率高的, 在相同的时间内根长值也相应较大。从 WPM 和 MS 培养基上的生根情况看, 接种后 25 d, WPM 培养基上根诱导率均达到 100%, 说明 WPM 培养基作为绒毛白蜡根诱导的基本培养基是适宜的, 考虑到根长因素, 绒毛白蜡无根组织培养苗根诱导的最适培养基为 WPM + IBA 1.0 mg/L + NAA 0.5 mg/L。

表 6 不同培养基对绒毛白蜡生根的影响

处理组合	幼芽的生根率//%			培养后 25 d 的根长 cm
	培养后 10 d	培养后 15 d	培养后 25 d	
I	10	50	80	2.0
II	20	60	80	2.5
III	20	40	70	3.3
IV	30	50	100	2.8
V	40	70	100	3.0
VI	30	60	100	2.7
VII	40	80	100	3.5
VIII	40	100	100	2.9
IX	60	100	100	3.6
X	80	100	100	3.9
XI	80	100	100	4.3
XII	80	100	100	2.2

### 3 结论

绒毛白蜡茎段组织培养的适宜培养基为 WPM, 幼嫩茎段诱导芽的适宜培养基为 WPM + TDZ 0.01 mg/L + NAA 4.0 mg/L, 幼芽形成根的适宜培养基为 WPM + IBA 1.0 mg/L + NAA 0.5 mg/L。该研究结果为绒毛白蜡的细胞工程和基因工程操作及新品种的快速繁殖奠定了基础。

### 参考文献

- 1 王关林, 方宏筠. 植物基因工程的原理与技术[M]. 北京: 科学出版社, 1998.
- 2 单雪艳. 植物细胞培养与遗传操作[M]. 北京: 科学出版社, 1992.
- 3 陈正华. 木本植物组织培养及其应用[M]. 北京: 高等教育出版社, 1986.
- 4 吴丽君. 木本植物组织培养技术在林业科研与生产中的应用与局限[J]. 福建林业科技, 2003, 30(1): 67-69.
- 5 张红晓, 经剑颖. 木本植物组织培养技术研究进展[J]. 河南科技大学学报, 2003, 23(3): 66-69.
- 6 王彩云, 白吉刚, 杨玉萍, 等. 对节白蜡的组织培养及植株再生[J]. 植物生理学通讯, 1999, 35(4): 299.
- 7 孔冬梅, 谭燕双, 沈海龙. 白蜡树属植物的组织培养和植株再生[J]. 植物生理学通讯, 2003, 39(6): 677-680.
- 8 刘权. 果树试验设计及统计[M]. 北京: 中国农业出版社, 1997.
- 9 Hammatt N, Ridout M S. Micropropagation of common ash (*Fraxinus excelsior*) [J]. *Plant Cell Tiss Org Cult*, 1992, 13: 67-74.
- 10 Pan M J, Van Staden J. The use of charcoal in vitro culture-A Review[J]. *Plant Growth Regul*, 1998, 18: 181-189.