

目前,关于刺槐的组织培养<sup>[1]</sup>及影响培养的因素<sup>[2]</sup>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<sup>[3-5]</sup>。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6a生长时间中树高达10m以上,树径达15cm,达到速生树种的要求<sup>[6]</sup>。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,叉上刺密,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<sup>1</sup>, 陈彦云<sup>2</sup>, 高艳明<sup>2</sup>

(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%活性炭,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Zewland,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 Huanghuai, 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  $\mu$ mol/L primer in a total of 25  $\mu$ 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<br>代号 | 品种<br>编号 | 接种外植<br>体数/个 | 分化芽<br>数/个 | 分化<br>率/% | 总芽<br>数/个 | 每瓶芽<br>数/个 | 平均芽<br>高/cm | 生长情况<br>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<br>代号 | 品种<br>编号 | 继代芽<br>数/个 | 增殖芽<br>数/个 | 繁殖<br>系数 | 苗高<br>/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<sup>[1]</sup>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<br>编号 | 接种<br>数/棵 | 生根<br>数/棵 | 生根<br>率/% | 练苗成活<br>数/棵 | 练苗成活<br>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<sup>[5]</sup>,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.