

钻天柳腋芽组培快繁技术的研究

王向军¹,陶晶²,张士俊²,陈士刚²

(1.吉林省林业厅,吉林长春 130022;2.吉林省林业科学研究院,吉林长春 130033)

摘要:钻天柳是杨柳科钻天柳属唯一的一个种,是亚洲东北部的珍稀树种,已被列为国家重点保护植物。钻天柳的种子非常小、非常轻,天然下种更新非常困难,而且扦插繁殖的生根能力很差,因此,研究钻天柳优树的组织培养技术是非常必要的。本文详细介绍了钻天柳幼枝的腋芽再生完整植株的组织培养技术:基本培养基为MS培养基,初始培养基附加BA0.20+NAA0.20,芽形成培养基附加BA0.50+NAA0.20,枝形成增殖培养基为1/2MS+BA0.30+NAA0.05,生根培养基为1/2MS+IBA0.50+pvp20.00。该优化的培养系统繁殖系数达10~30,生根率达90%以上。

关键词:钻天柳;快繁;组织培养;培养基优化

Rapid - propagation of *Chosenia arbutifolia* by axillary buds

Wang Xiang - jun¹, Tao Jing², Zhang Shi - jun², Chen Shi - gang²

(1. Forestry Department of Jilin Province, Changchun 130022, China; 2. Jilin Provincial Academy of Forestry Sciences, Changchun 130033, China)

Abstract: *Chosenia arbutifolia* is the only species of *Chosenia* genus, Salicaceae. It is a rare and useful tree in the northeast of Asia. Now this tree species has been listed China National Priority Protection Plant. Its seeds are very smaller and lighter, natural regeneration by seed shedding is very difficulty. In addition, the root - forming ability in the vegetative propagation is inferior. Therefore, it is worthwhile to develop a tissue culture technique for the rapid propagation of selected plus trees. This paper introduces the culture procedure to the plantlets which were successfully regeneration from axillary buds of *Chosenia arbutifolia* excised from young seedlings. Murashige and Skong's medium was used as the basic culture medium. Growth was initiated on MS medium containing 0.2mg/LBA and 0.2mg/LNAA. Bud formation was induced using MS medium supplemented with 0.5mg/L BA and 0.2mg/L NAA. Development of shoots was achieved on a 1/2 MS medium containing 0.3mg/L BA and 0.05mg/L NAA. The medium used for inducing root formation was the same as the above, but with 0.5mg/L IBA and 20 mg/L PVP. The multiplication coefficient of the optimization medium system is 10 - 30, and root - forming rate is above 90% .

Key words: *Chosenia arbutifolia*, rapid - propagation, tissue culture, medium optimization

1 引言

钻天柳(*Chosenia arbutifolia* Pall.)又名红毛柳、朝鲜柳等,是杨柳科钻天柳属唯一的一个种,也是亚洲东北部的珍稀树种。钻天柳树高

收稿日期:2005-10-15

作者简介:王向军(1962-),男,吉林长春人,工程师,主要从事林业科技管理工作。

可达 30 m,直径可达 1 m。树干通直,速生,材质轻软,纤维长,少反翘,木材适用于纤维工业、造纸箱板、农具等。在吉林省钻天柳主要分布在东部长白山区的河流两岸和低谷地。由于钻天柳天然更新困难,而且采伐后未进行人工更新,现存的钻天柳天然林已寥寥无几。目前,该树种已被列为国家重点保护植物。钻天柳的种子非常小、非常轻,天然下种更新非常困难,而且钻天柳扦插繁殖的生根能力很差,因此,研究钻天柳优树快繁的组织培养技术是非常必要的。

近年来,组织培养技术日臻完善,并应用于园林植物、经济植物和木本植物上^[1-5],有关钻天柳组织培养的报道很少^[6,7],且繁殖系数不高。本文重点介绍了钻天柳腋芽诱导,形成丛生枝及完整植株的组织培养系统。

2 材料和方法

生长期结束后,在吉林省松江河林业局采集钻天柳优树的幼枝,在 4℃ 条件下贮藏。流水冲洗,切割成 0.5~1.0 cm 长带 1 个腋芽的节段,浸入 70% 乙醇中灭菌 30 S,再用 10% (w/v) 次氯酸钙灭菌 20 min,无菌水冲洗 3 次,转入初始培养基。

灭菌前所用培养基的 pH 值调至 5.8。外植体在 24±2℃ 的控温培养室内培养 28 d,16 h/8 h 光暗周期。每处理 20 个外植体,5 次重复。

初始培养:经过表面灭菌处理的节段,转入初始培养基中进行无菌苗培养。初始培养基为 MS + BA 0.20 + NAA 0, 0.02, 0.20, 0.50 或

MS + BA 0.20 + 2.4-D 0, 0.20, 0.50。这一阶段的目的是获得无菌苗,为下一阶段的培养提供无菌材料。

芽诱导培养:28 d 后,初始培养基上的茎节形成无菌苗,取其顶芽和腋芽转入诱导培养基。诱导培养基为两种不同的培养基:

(1) MS + BA 0, 0.20, 0.50 + NAA 0, 0.02, 0.05, 0.10, 0.20, 0.50 或 MS + BA 0, 0.20, 0.50 + 2.4-D 0, 0.20, 0.40, 0.60, 0.80, 1.00。

(2) WPM + BA 0.50 + NAA 0, 0.03, 0.05, 0.10, 0.20。

增殖壮苗培养:形成的芽原基整块或分割成数块转入增殖培养基中,增殖培养基为 1/2MS (大量元素减半) + BA 0.30 + NAA 0.05。芽原基培养一个月,丛生枝的高度可达 2~3 cm 时,切下丛生枝,转入生根培养基,基部剩余的芽原基再次分割转入新鲜的增殖壮苗培养基中,不断形成新的丛生枝。

生根培养:生根培养基同增殖壮苗培养基,为 1/2MS,同时附加 IBA 0, 0.20, 0.50, 1.00 mg·L⁻¹ + pvp 20.00 mg·L⁻¹。

3 实验结果与讨论

在初始培养中,MS 培养基附加 BA 0.20 mg·L⁻¹、NAA 0.20 mg·L⁻¹ 的激素条件下,钻天柳的腋芽生长最好,能形成 3~5 cm 的单枝。BA 和 NAA 的其它组合,仅形成 1~2 个叶的短枝,详见表 1。

表 1 不同激素组合腋芽初始培养的生长状况

BA/mg·L ⁻¹	NAA /mg·L ⁻¹	2,4-D/mg·L ⁻¹	腋芽的生长状况
	0		生长一般,1~2 cm 的单枝,仅 1 个叶
	0.02		生长较好,2~3 cm 的单枝,1~2 个叶
	0.20		生长最好,3~5 cm 的单枝,4~5 个叶
0.20	0.50		生长较好,2~3 cm 的单枝,1~2 个叶
		0	生长一般,1~2 cm 的单枝,仅 1 个叶
		0.20	生长良好,2~3 cm 的单枝,1~2 个叶
		0.50	生长一般,1~2 cm 的单枝,仅 1 个叶

表 2

不同激素组合芽原基的诱导情况

培养基	BA/mg·L ⁻¹	NAA /mg·L ⁻¹	2,4 - D/mg·L ⁻¹	外植体 总数	分化时间 (d)	分化外 植体总数	不定芽 总数
MS	0	0		20	20	0	0
	0	0.02		20	20	1	0
	0	0.05		20	19	4	0
	0	0.10		20	18	6	0
	0	0.20		20	18	9	1
	0	0.50		20	18	10	1
MS	0.20	0		20	17	8	0
	0.20	0.02		20	18	10	8
	0.20	0.05		20	18	12	13
	0.20	0.10		20	18	12	18
	0.20	0.20		20	18	14	23
	0.20	0.50		20	18	14	26
MS	0.50	0		20	18	14	20
	0.50	0.02		20	14	15	63
	0.50	0.05		20	16	17	58
	0.50	0.10		20	16	18	75
	0.50	0.20		20	13	19	118
	0.50	0.50		20	15	17	64
MS	0		0	20	20	0	0
	0		0.20	20	18	9	18
	0		0.40	20	18	10	30
	0		0.60	20	18	12	32
	0		0.80	20	18	10	8
	0		1.00	20	18	10	4
MS	0.20		0	20	18	33	30
	0.20		0.20	20	18	13	36
	0.20		0.40	20	18	7	40
	0.20		0.60	20	18	23	45
	0.20		0.80	20	18	19	7
	0.20		1.00	20	18	13	2

培养基	BA/mg·L ⁻¹	NAA /mg·L ⁻¹	2,4 - D/mg·L ⁻¹	外植体 总数	分化时间 (d)	分化外 植体总数	不定芽 总数
MS	0.50		0	20	17	12	11
	0.50		0.20	20	13	19	118
	0.50		0.40	20	17	18	98
	0.50		0.60	20	15	17	83
	0.50		0.80	20	14	17	6
	0.50		1.00	20	12	12	1
WPM	0.50	0		20	19	4	0
	0.50	0.03		20	17	7	2
	0.50	0.05		20	15	11	8
	0.50	0.10		20	15	12	12
	0.50	0.20		20	14	5	12

在两种芽诱导培养基上,MS + BA 0.50 + NAA 0.20 上外植体形成的芽原基的数量最多。在实验中发现 BA 和 2,4 - D 的组合能促进愈伤组织的形成,并且 2,4 - D 超过 0.6 mg·L⁻¹ 时,愈伤组织的体积呈下降趋势,且不形成芽原基。而 BA 和 NAA 的组合促进芽原基的形成。

同 WPM 培养基相比,MS 培养基上可见大量芽原基。并且 NAA0.2 mg·L⁻¹ 时,培养基体积最大。

分割后转入增殖培养基,每个外植体形成的不定枝数目达 10 ~ 30 个。切下 2 ~ 3 cm 的嫩枝,转入生根培养基中。当 IBA0.50 mg·L⁻¹、pvp20.00 mg·L⁻¹ 时,生根率最高,10 d 即可看到细小的根尖,15 d 时根粗壮,根长可达 1 ~ 2 mm。

当根长达 2 ~ 3 mm 时,移去琼脂,生根植株移栽到沙土(1:1)混合基质中,花盆在培养室里放 4 周。前两周湿度保持在 80% ~ 90%,并覆盖塑料布防止水分蒸发,后两周撤掉塑料布,并适当喷水。4 周后,花盆移入温室,进行正常的温室管理。移栽成活率可达 90%。

4 结论

钻天柳腋芽再生完整植株的组织培养程序如下:

初始培养基为 MS + BA0.20 + NAA0.20

芽形成培养基为 MS + BA0.50 + NAA0.20

枝形成增殖培养基为 1/2MS + BA0.30 + NAA0.05

生根培养基为 1/2 MS + IBA 0.50 + pvp 20.00

该优化的培养系统繁殖系数达 10 ~ 30,移栽的生根率可达 90% 以上。

参考文献

- [1]Chaleff R.S. Genetics of higher plants: application of cell culture[M]. Cambridge University Press, 1981.
- [2]Chalupa, V. In vitro propagation of some broadleaved forest trees. Commun[J]. Inst. For. Czechosl. 1979,11:159 ~ 170.
- [3]Conger B.V. ed. Cloning agricultural plants via in vitro techniques[M].Chemical Rubber Company Press, Inc. Boca Raton, Florida, USA 1981.
- [4]Miller, C.O. and Skoog, F., Chemical control of bud formation in tobacco stem segments[J]. Am. J.Bot., 1953, 40:768.
- [5]Murashige, T., Plant propagation through tissue culture [J]. Annu. Rev. Plant Physiol., 1974,25:135.
- [6]林静芳,董钦才,董茂山. 钻天柳组织培养[J]. 植物生理学通讯,1984,6: 39 - 41.
- [7]于启滨,张含国,王乃西,等. 钻天柳快速无性繁殖及商业化生产技术的研究[J]. 林业科技,1994,19(6): 17 - 19.

(责任编辑 孙锐明)