

文章编号: 1000-1573(2007)05-0057-05

## 预培养在刺槐试管苗生根中的作用

杜娟<sup>1</sup>, 甄志先<sup>1</sup>, 王进茂<sup>1</sup>, 张世红<sup>1</sup>, 周春娜<sup>2</sup>

(1. 河北农业大学, 河北保定 071000; 2. 河北省文安县林业局, 河北文安 065800)

**摘要:** 为解决不同品种刺槐工厂化育苗中试管苗生根困难的问题, 研究了培养方式以及激素浓度、不同激素比对5个刺槐无性系试管苗生根的影响。结果表明: 不同的无性系之间试管苗生根率有显著差异, 且与在含有高浓度生长素的培养基上预培养的天数以及培养基中激素的种类与浓度有关, 其中在培养基 1/2MS + IBA 20~35 mg/L 上培养 4~7 d, 然后转入 1/2MS 培养基培养 Rcr、4N、2488 各无性系, 生根率均达 97% 以上, 移栽成活率大于 95%; 2428、2466 生根率为 90%~92%, 移栽成活率在 85% 以上; 1/2MS + IAA 2.0 mg/L 培养基可直接诱导刺槐无性系 Rcr、4N 试管苗生根, 生根率 100%、移栽成活率 90% 以上; 2428、2466 不适合直接诱导生根。

**关键词:** 刺槐; 组织培养; 生根; 预培养

**中图分类号:** S 722.3

**文献标识码:** A

## The role of preculture in rooting of *Robinia pseudoacaci* L. *in vitro*

DU Juan<sup>1</sup>, ZHEN Zhi-xian<sup>1</sup>, WANG Jin-mao<sup>1</sup>, ZHANG Shi-hong<sup>1</sup>, ZHOU Chun-na<sup>2</sup>

(1. Agricultural University of Hebei, Baoding 071000, China;

2. Forestry Bureau of Wenan County of Hebei, Wen'an 065800, China)

**Abstract:** Influences of the culture pattern and concentration of plant hormone and their combinations on the five *Robinia pseudoacaci* L. clones rooting *in vitro* were systematically studied. The results showed that the rate of rooting was significantly different between different clones. The days of precultured in medium which contains elevated concentration of auxin and categories of plant growth regulators in medium are important factors that influence the percentage of contains rooting. All clones were cultured 4~7 d in 1/2MS medium supplemented with 20~35 mg/L IBA, then transferred to 1/2MS0 medium. For the clones Rcr, 4N and 2488, rooting rate was up to 97% and transplant survival rate was up to 95%. Whereas for the clones 2428 and 2466, rooting rate could reach 90%~92%, and transplant survival rate was up to 85%. The medium supplemented with 2.0 mg/L IAA could induce 100% shoot of clones Rcr and 4N rooting, and transplant survival rate was as high as to 90%. Both of clones 2428 and 2466 *in vitro* were unsuitable for inducing rooting in the medium supplemented with low concentration of auxin between 0.5 to 2 mg/L.

**Key words:** *Robinia pseudoacaci* L.; tissue culture; rooting *in vitro*; precultured

刺槐 (*Robinia pseudoacacia* L.) 系豆科 (Leguminosae) 刺槐属 (*Robinia* L.) 落叶乔木, 是用于保持水土、防风固沙、改良土壤的重要树种, 也是良好的用材树种, 宜作矿柱材和桩材, 亦可作家具、农具、机械部件、水工和木工用材。国内外对刺槐离体培养

的研究, 已在形成层、茎尖、茎段、叶培养、胚培养以及原生质体分离和培养等方面取得了一些进展<sup>[1]</sup>, 近几年, 我们国家对刺槐组织培养的研究主要集中在四倍体刺槐的快速繁殖方面<sup>[2-6]</sup>。基因型是影响植物离体器官再生的主要因子, 不同刺槐品种的生

收稿日期: 2006-12-05

基金项目: 国家林业局 948 项目 (2005-4-41)

作者简介: 杜娟 (1979-), 女, 河北井陘人, 在读硕士研究生。

通讯作者: 王进茂 (1969-), 男, 河北深州市人, 副教授, 主要从事林业生物技术方面的研究。

根率相差较大<sup>[1,7]</sup>。而试管苗的生根是组织培养的关键环节,生根的好坏直接影响移栽成活率。用高浓度生长素诱导插穗不定根发生已经被普遍采用<sup>[8]</sup>,而这种方法在诱导试管苗生根中的应用还较少,本文通过先用含高浓度生长素培养基对试管苗进行预处理,然后转入不含激素的培养基诱导生根的预培养方式,研究了不同品种刺槐无性系试管苗的生根和移栽,为刺槐工厂化育苗及解决某些树种试管苗难生根的问题提供了理论依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

试验材料为饲料型四倍体刺槐 4N、德国引进的观赏型红花刺槐 Rcr 及速生用材刺槐无性系 2488、2466、2428 组织培养试管苗。

### 1.2 研究方 法

1.2.1 生根培养 在刺槐各品种与无性系的壮苗培养阶段,分别切取 4N、Rcr、2488、2466、2428 这 5 个无性系 1.5~2 cm 的嫩茎,进行如下两种处理,一是间接生根培养,即先将嫩茎接种于含有较高浓度生长素的 1/2MS 培养基中预培养 4~10 d,然后转入 1/2MSO 培养基诱导嫩茎生根;另一组直接接种于不同的生根培养基中诱导嫩茎生根,每种处理 40~50 个嫩茎。

培养条件,继代增殖培养基为:MCM + KT1.0

mg/L + 6-BA0.25 mg/L + 3% 糖;各种生根培养基中均添加蔗糖 1.5%,pH 5.8;培养室温度为(25 ± 3)℃,光照每日 16 h,光强 2 000 lx。

1.2.2 移栽 将已生根的试管苗(根长 1.5~2.0 cm)在不揭去封口材料的情况下日光下炼苗 2~3 d,然后去掉封口膜炼苗 1 d,再移栽到营养杯中,栽后扣上小拱棚,注意土壤和棚内杀菌,保持湿度在 90% 以上,温度 25~30℃,15 d 后开始通风炼苗。30 d 时统计移栽成活率,观察苗木生长状况。栽培基质成分配比:腐殖土 1:细沙 1:园土 1。

## 2 结果与分 析

### 2.1 直接诱导试管苗生根过程中激素对刺槐无性系生根的影响

将无性系 4N、Rcr、2428、2466、2488 的无根试管苗转入生根培养基中,10 d 时观察生根情况(见表 1),结果表明,随 IBA 浓度的增加,无性系 4N 生根率和移栽成活率逐渐增大最高可达 92%;无性系 Rcr 随着 IBA 浓度的增大生根率反而有降低的趋势,在 IBA 1.0 mg/L 时生根率和移栽成活率最高均达 100%;无性系 2428 生根率为 17~64%。IBA 浓度对 2428 生根的影响效果不明显,但添加 0.5 mg/L 的 NAA 可提高 2428 的生根率。2488 在含有 IAA 2.0 mg/L 的培养基上生根率可达 95%,移栽成活率也较高。

表 1 不同激素配比对无性系 4N、Rcr、2428 试管苗生根的影响  
Table 1 Effects of the concentration and kinds of plant hormone on rooting of *Robinia pseudoacaci* L. clones(4N、Rcr、2428) in vitro

编号 Number	培养基 Medium	无性系 Clones	生根率/% Rooting rate	根条数/条 Rooting number	根长/cm Rooting length	移栽成活率/% Transplant survival rate
①	1/2MS + IBA 0.5 mg/L	4N	54.2	1~3	0.5~1.2	91.7
		Rcr	100	1~3	0.5~2.5	91.7
		2428	50	1~2	—	—
②	1/2MS + IBA 1.0 mg/L	4N	92	1~3	0.4~1.2	92
		Rcr	100	2~3	0.5~2.0	100
		2428	56	1~2	—	—
③	1/2MS + IBA 2.0 mg/L	4N	92	2~4	0.5~1.5	95.8
		Rcr	87.5	1~4	0.1~2.5	95.8
		2428	50	1~2	—	—
		2466	73	1~3	—	—
④	1/2MS + IAA 2.0 mg/L	4N	100	2~6	1.0~2.5	100
		Rcr	100	2~6	0.5~3.0	100
		2428	17	1~2	—	—
		2488	95	2~4	0.4~3	92
⑤	1/2MS + IBA 2.0 mg/L + NAA 0.5 mg/L	4N	84	3~5	0.2~0.5	92
		Rcr	29.4	1~2	0.1	92
		2428	64	1~2	—	—

对无性系 4N、Rcr 来说,外源激素浓度同为 2.0 mg/L,IAA 的诱导效果明显好于 IBA,生根率和移栽成活率均达到 100%;而 IAA 诱导无性系 2428 试管苗生根,效果却远不如 IBA;在③号培养基的基础上加入 NAA 0.5 mg/L,无性系 4N、Rcr 的生根率均呈下降的趋势,Rcr 由原来的 100% 下降到 29.4%,而 2428 的生根率却上升了 14%,说明不同的激素配比对 Rcr 的生根有较大的影响,实验同时表明 Rcr 对外源激素的适应能力较强,IBA 0.5~1.0 mg/L、IAA 2.0 mg/L 诱导 Rcr 试管苗生根,生根率均达 100%。

由表中数据还可以看出,无性系 4N、Rcr 可以

采用直接生根培养,但形成的不定根条数较少;而无性系 2428、2466 在直接生根培养时生根率较低,所以采用预培养的方式对刺槐各无性系试管苗的生根进一步研究。

## 2.2 预培养对刺槐各无性系生根的影响

2.2.1 预培养过程中 IBA 浓度的对刺槐各无性系生根的影响 将刺槐各无性系无根试管苗转入预培养培养基⑥、⑦、⑧中,2d 后试管苗基部脱分化开始出现愈伤组织,6 d 时基部愈伤组织直径达 0.3~0.5 cm 左右。6 d 后将其转入培养基 1/2MS0 中,5 d 后调查各无性系生根情况(见表 2)。

表 2 预培养过程中不同浓度的 IBA 对刺槐无性系生根的影响

Table 2 Effects of the concentration of IBA in precultured on rooting of *Robinia pseudoacaci* L. clones shoot in vitro

编号 Number	培养基 Medium	无性系 Clones	生根率/% Rooting rate	根条数/条 Rooting number	根长/cm Rooting length	根直径 Diamete of Rooting	移栽成活率/% Transplant survival rate	备注 Remark
⑥	1/2MS+ IBA 20 mg/L	4N	100	3-6	1.5	细	97	叶片绿,生长较快
		Rcr	100	4-6	1.7	细	97	叶片绿,生长较快
		2466	83	1-4	1.0	细	83	叶片略黄,生长一般
⑦	1/2MS+ IBA 35 mg/L	4N	97	2-5	1.1	略粗	97	叶片绿,生长较快
		Rcr	100	4-6	1.7	细	96	叶片绿,生长较快
		2488	100	3-6	1.5	略粗	95	叶片绿,生长较快
		2428	90	2-5	1.2	细	85	叶片绿,生长正常
		2466	92	2-4	1.4	细	86	叶片绿,生长正常
⑧	1/2MS+ IBA 50 mg/L	4N	83	1-5	0.7	粗	87	基部叶片黄化,生长略慢
		Rcr	95	2-6	1.0	略粗	90	生长正常
		2466	80	1-4	0.5	略粗	70	基部叶片脱落,移栽成活后易出现生长停滞现象

从表中数据可看出,20~35 mg/L 的 IBA 均可诱导刺槐无性系 4N、Rcr、2488 试管苗生根,且生根率达 97% 以上,移栽成活率高,且苗生长快。无性系 2428、2466 通过预培养方式生根率比直接诱导该无性系试管苗生根(见表 1)有明显提高,生根率可达 90% 左右,移栽后成活率与 4N、Rcr、2488 相比较,最多只有 86%。当 IBA 为 50 mg/L 时,各无性系生根率和平均根数均减少,平均根长也减少,根粗度增加明显;试管苗叶片发黄,生长不佳,诱导形成的根短而粗,似鸡爪状,移栽成活率也低于 20 mg/L 和 35 mg/L 的 IBA 处理。这可能与高浓度的 IBA 处理诱导外殖体形成较大的愈伤组织有关。

2.2.2 预培养天数对刺槐无性系生根的影响 将无性系 4N、2488、2428 分别在预培养培养基⑦中培养 4、7、10 d,然后转入培养基 1/2MS0 中,2 d 后试

管苗基部开始长出根,4 d 后调查其生根情况见表 3,可以看出,无性系 4N、2488、2428 经预培养后试管苗基部脱分化形成的愈伤组织随处理时间的延长而增大,对于 4N、2488 来说,预培养 4 d 和 7 d 均达 97% 以上,且移栽成活率为 97% 且根条数和根长无太大差别,叶片绿,生长较快,预培养 10 d 不仅使两个无性系生根率降低,更重要的是影响生根试管苗的移栽成活率,同时试管苗生长缓慢,叶片发黄。2428 预培养 7 d 时生根率最高达 92%,移栽成活率 88%;预培养 4 d 和 10 d 时生根率均在 85% 左右。同样预培养 10 d 也会引起 2428 试管苗基部叶片黄化生长缓慢的现象。这主要是由于随着预培养时间的延长,试管苗基部形成大量的愈伤组织,消耗了大量营养,从而引起了试管苗生长的衰退,生根率也随之降低。

表3 预培养天数对无性系4N、2488、2428生根的影响  
Table 3 Effects of the precultured days on rooting of *Robinia pseudoacaci* L. clones(4N、2488、2428)shoot *in vitro*

编号 Number	培养基 Medium	无性系 Clones	预培养天数 Precultured days	愈伤直径/cm Diamete of callus	生根率/% Rooting rate	根条数/条 Rooting number	根长/cm Rooting length	移栽成活率/% Transplant survival rate	备注 Remark
		4N	4	膨大	97	2-6	0.8	96	叶片绿,生长较快
			7	0.3-0.5	100	4-6	1.0	97	叶片绿,生长较快
			10	0.5-1.0	80	1-4	0.8	85	叶片黄化脱落, 生长缓慢
⑦	1/2MS+ IBA 35 mg/L	2488	4	膨大	100	2-6	1.2	97	叶片绿,生长较快
			7	0.3-0.5	100	2-6	1.0	97	叶片绿,生长较快
			10	0.5-1.0	98	4-6	0.8	90	叶片略黄,生长一般
		2428	4	略膨大	85	1-4	0.7	83	叶片绿,生长较快
			7	膨大	92	2-5	0.9	88	叶片绿,生长较快
			10	0.3-0.5	86	2-5	0.9	90	基部叶片黄化, 生长较慢
⑨	1/2MS+ IAA 35 mg/L	4N	7	0.4-0.7	88	2-5	1.1	97	叶片绿,生长较快
		2488	7	0.5-0.7	90	3-6	0.9	95	叶片绿,生长较快
		2428	7	0.3-0.5	85	2-5	0.8	90	叶片绿,生长正常
⑩	1/2MS+ NAA 35 mg/L	4N	7	0.5-1.0	100	1-6	1.0	80	叶片绿,生长较快
		2488	7	0.5-1.0	100	2-6	1.0	85	叶片绿,生长较快
		2428	7	0.5-0.8	80	1-4	0.5	70	叶片绿,生长正常

2.2.3 生长素种类对刺槐生根的影响 用含相同浓度的 IBA、IAA、NAA 的培养基对刺槐无性系 4N、2488、2428 进行预培养,表 3 结果表明,用 IBA、NAA 预培养,无性系 4N、2488 生根率均为 100%,且根系生长较好,侧根较多,IAA 处理的生根率下降 10% 以上。同为预培养 7 d,无性系 2428 用 IBA 诱导生根效果要好于 IAA 和 NAA。调查发现根量和根长对无性系生根试管苗移栽成活影响不大,只是 NAA 处理过的试管苗基部愈伤组织较大,移栽成活率降低到 80~85%。调查中发现,NAA 处理过的试管苗所生不定根有部分从愈伤组织起源,与试管苗的木质部或韧皮部并不直接贯通,移栽时易脱落,从而使得试管苗移栽成活率降低。

### 3 结论与讨论

植物生长素处理是促进难生根树种插穗生根的重要技术手段,不仅有利于根原始体的诱导,而且能够促进不定根的发育和生长<sup>[8]</sup>。扦插过程中外源激素的使用方式多种多样,可以高浓度短时间(一般少于 1 分钟)浸泡,也可以低浓度长时间(5 min 至数小时)浸泡处理<sup>[8,9]</sup>。试管苗生根培养可以看作无根试管苗的扦插,可以在试管内,也可以在试管外<sup>[10]</sup>。由于试管苗与扦插繁殖所用插穗相比极为幼嫩,因此诱导试管苗生根一般采用含有低浓度生长素的培养基,但对于不易生根树种,可以用高浓度生长素浸泡预处理来提高试管苗生根率<sup>[11,12]</sup>。本

文以不同刺槐无性系试管苗为材料系统的研究了先在含高浓度生长素培养基预培养,然后转入 1/2MS0 培养基诱导试管苗生根的培养方式。结果表明,刺槐各无性系试管苗在培养基 1/2MS+IBA 20~35 mg/L 上培养 5~7 d,然后转入 1/2MS0 培养基上培养,Rcr、4N、2488 各无性系生根率均达 97% 以上,移栽成活率大于 95%,2428、2466 生根率为 90~92%,移栽成活率在 85% 以上。同时还表明,预培养培养基中生长素的种类与浓度影响刺槐试管苗的生根,相同浓度的 IBA、IAA 和 NAA 处理,预培养 7 d 时,对于无性系 2428,最大生根率由高到低依次为 IBA>IAA>NAA。对于无性系 4N、2488,IBA 与 NAA 效果好于 IAA,可见不同的无性系对生长素的适应性也不一样。预培养过程中 NAA 处理的生根率虽高,但生根试管苗基部愈伤组织过大,移栽成活率低,且生长衰弱。这是因为愈伤组织的发生并不总是伴随根原基的形成,过多的愈伤组织反而会消耗过多的营养,进而影响根的正常发育和试管苗的生长<sup>[2-5]</sup>。扁桃砧木<sup>[11]</sup>和核桃<sup>[12]</sup>试管苗的生根时也有类似发现。

外源生长素是通过调节植物体内 IAA、ABA 等与生根有关的物质来促进生根的,当外源生长素超过生根的最适浓度时会影响根的形成<sup>[12]</sup>。本文也得到类似的研究结果,即在预培养天数相同的情况下,当 IBA 的浓度增加到 50 mg/L 时,4N、Rcr、2466 的生根率下降 5~17%。预培养的时间过长(10 d)

不仅使得试管苗生根率降低,基部愈伤组织增大,从而影响生根试管苗的移栽成活率,同时试管苗生长缓慢,叶片发黄。因此在预培养过程中,应注意在不同的生长素浓度下,选择合适的处理时间。

根据上面的实验结果,可以将刺槐各无性系分为较易生根(Rcr、4N、2488)与较难生根(2428、2466)两类,其中 Rcr、4N、2488 在培养基 1/2MS + IBA 20~35 mg/L 上培养 4 d,然后转入 1/2MS<sub>0</sub>,生根率、和移栽成活率均在 95% 以上,而且该 3 个无性系均可在生根培养基上直接诱导试管苗生根,生根率在 95% 以上。红花刺槐 Rcr 对外源激素的适应能力较强,IBA 0.5~1.0 mg/L、IAA 2.0 mg/L 诱导 Rcr 试管苗生根,生根率均达 100%,IBA 与 NAA 同时添加生根率迅速下降,这与其它学者关于红花刺槐试管苗生根的实验结果有差异<sup>[7,13]</sup>。四倍体刺槐组织培养的研究已经很多,在生根培养中以 IBA、NAA 诱导生根为主<sup>[2-6,14]</sup>。我们在实验中再次证实 1.0~2.0 mg/L 的 IBA 单独使用或与 0.5 mg/L 的 NAA 混合使用可诱导 84~92% 的四倍体刺槐 4N 试管苗生根,同时发现 2.0 mg/L 的 IAA 可 100% 诱导 4N 试管苗生根,且移栽成活率也达 100%。这是在四倍体刺槐组织培养研究中获得最高生根率。用材型刺槐无性系 2428、2466 直接诱导试管苗生根,生根率只有 50~77%,较好的方式是用高浓度生长素预培养的方式。该研究也进一步说明基因型是影响木本植物试管苗生根的关键因子<sup>[7,15]</sup>。同时也可以说明用含高浓度生长素的培养基预培养,是解决某些树种试管苗生根困难的有效办法之一。

#### 参考文献:

[1] 王树芝,田砚亭,罗晓芳.刺槐的离体培养研究进展

(编辑:祁振声)

(上接第 56 页)

- [8] 何小弟,孙传余,李晓储,等.扬州城市绿地树种配置关联分析[J].扬州大学学报,2002,23(4):84-87.
- [9] KIELBASO J J. Trends in Urban Forestry management. Baseline Data Report number 1 [M]. DC: ICMA, 1988:30.
- [10] 陈爽,詹志勇.南京城市森林结构特征与管理对策[J].林业科学,2004,40(6):158-164.
- [11] NOWAK D J, CRANE D E, STEVENS J C, et al. Brooklyn's urban forest [M]. Northeastern Forest Experiment Station, General Technical Report NE-290DC:USDA,2002:107-219.
- [12] NOWAK D J. Atmospheric carbon dioxide reduction by

[J].河北林果研究.1999,14(4):368-371.

- [2] 李云,田砚亭,钱永强,等. NAA 和 IBA 对四倍体刺槐试管苗生根影响及不定根发育过程解剖观察[J].林业科学 2004,40(5):75-80.
- [3] 王树芝,田砚亭,李云.四倍体刺槐无性系组织培养技术的研究[J].核农学报,2002,16(1):40-44.
- [4] 孙满芝,王庆玲,乔元伟.四倍体刺槐组培中生长调节物质应用的研究[J].山东林业科技,2001,(5):17-19.
- [5] 陈桂芳,娄利华.四倍体刺槐组织培养快速繁殖试验[J].四川林业科技,2005,26(3):68-70.
- [6] 黄茶英,刘青林.激素、通气和 pH 值对四倍体刺槐和二乔刺槐离体生长的影响[J].中南林学院学报,2003,23(5):38-41.
- [7] 王关林,刘秀梅,方宏筠,等.蝶形花亚科 8 种槐树的组织培养及再生能力的基因型效应[J].园艺学报,2005,32(5):844-848.
- [8] 郭素娟.林木扦插生根的解剖学及生理学研究进展[J].北京林业大学学报,1997,19(4):64-69.
- [9] 沈海龙,赵霞,邢朝斌,等.水曲柳扦插繁殖影响因子的分析[J].东北林业大学学报,2005,33(3):5-6.
- [10] 郝砚英,吴国智,王芝学,等.美国红栎茎段的离体培养与快速繁殖[J].天津农业科学,2005,11(1):32-33.
- [11] 杨宁,李胜,张永军,等.扁桃砧木试管苗的生根及移栽[J].甘肃农业大学学报,2005,40(2):161-166.
- [12] 裴东,袁丽钗,奚声珂,等.核桃品种试管嫩茎生根的研究[J].林业科学,2002,38(2):32-37.
- [13] LUAN Qing-shu, LUO Feng-xia. Shoot tissue culture of Robinia pseudoacacia f. decaisneana [J]. Journal of Forestry Research, 2002,13(1):51-55.
- [14] 张新叶,蔡晟,胡兴宜.四倍体刺槐的组织培养研究[J].湖北林业科技,2002,(4):4-6.
- [15] 王进茂,杨敏生,杜克久,等.欧洲白桦优良无性系试管苗生根与移栽的研究[J].西北林学院学报,2005,20(4):61-71.

Chicago's urban forest [M]. Northeastern Forest Experiment Station, General Technical Report NE2181DC:USDA,1994b:95-114.

- [13] 粟娟,廖绍波,梁家强,等.珠海市城市森林的总体布局与植物组成[J].林业科学研究,2002,15(3):310-316.
- [14] YANG J, JOE MCBRIDE, ZHOU J X, et al. The urban forest in Beijing and its role in air pollution reduction [J]. Urban Forestry & Urban Greening, 2005(3):65-78.

(编辑:祁振声)