

不同无性系毛白杨离体植株再生能力比较研究*

张存旭¹, 张瑞娥², 赵 忠¹

(1 西北农林科技大学 林学院, 陕西 杨凌 712100; 2 阜阳师范学院 生物系, 安徽 阜阳 236041)

[摘要] 以毛白杨无菌苗的嫩茎为外植体, 对5个毛白杨无性系的植株再生能力进行了比较。结果表明, 5个无性系通过器官培养途径均能再生植株, 但不同无性系在植株再生能力上有很大差异, 茎芽数最多的4号无性系是总平均的122.7%, 而最少的1号无性系仅为总平均的78.4%; 2号无性系生根率可达60%, 3号仅28.7%, 说明茎芽分化及生根能力受遗传的控制。0.5 mg/L 6-BA 适合大多数无性系的茎芽增殖和生长, 平均茎芽增殖达到8.8个, 但生根率仅为49.5%。1/2 MS 基本培养基适合各无性系生根培养, 在培养基中添加低质量浓度的生长素可以增强生根能力。毛白杨在植株再生能力方面存在明显的培养基×无性系交互作用。

[关键词] 毛白杨; 无性系; 植株再生; 组织培养

[中图分类号] S792.117

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2004)08-0071-04

毛白杨(*Populus tomentosa*)是我国重要的用材树种, 具有生长速度快、轮伐期短、蓄积量大和抗病虫能力强等优良性状^[1], 通常采用嫁接、根繁、扦插等繁殖方法进行育苗, 但这些方法普遍存在繁殖速度慢、成活率低等缺点。利用组织培养可以加快苗木的繁殖速度, 短期内获得大量苗木。毛白杨组织培养始于20世纪80年代初, 相关报道很多^[2-6], 但多侧重于某一优良无性系培养基的筛选研究。本试验旨在研究不同无性系离体植株再生能力及基因型×环境的交互作用, 以揭示不同无性系的诱导表现规律和特点, 为建立不同优良无性系快繁及遗传转化体系提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

在西安现代化苗圃毛白杨基因库中, 选取编号分别为130, 100, 133, 99和122的5个优良无性系, 均为22年生。在试验中为方便叙述, 分别以1号无性系(130)、2号无性系(100)、3号无性系(133)、4号无性系(99)、5号无性系(122)代替。

1.2 试验方法

将采回的枝条在室内水培, 待顶芽长至3~4 cm时, 切取1.0~1.5 cm茎段, 作为起始外植体建立无菌培养材料。接种前流水冲洗30 min, 体积分数70%酒精消毒30~50 s, 再用体积分数0.1%的

HgCl₂ 消毒5~8 min, 无菌水冲洗5次。然后接种在附加0.2 mg/L 6-BA的MS培养基中。待茎段腋芽萌发生长叶后, 切取0.5 cm小段, 以MS为基本培养基, 同时添加0.01 mg/L NAA和0.3, 0.5, 0.7, 1.0 mg/L 6-BA进行分化培养。诱导生根处理包括: (1) 分别以MS, 1/2 MS, White为基本培养基, 不加任何激素; (2) 以1/2 MS为基本培养基有5种处理, 即分别单独添加0.01, 0.02 mg/L NAA和0.2, 0.4 mg/L BA, 以及同时添加0.01 mg/L NAA和0.2 mg/L BA, 依次用R1, R2, R3, R4和R5表示。

培养基中含蔗糖30 g/L, 琼脂6 g/L, pH=5.8。培养室温度(25±3)℃, 光照时间16 h/d, 光照强度为1500~2000 lx。每处理3次重复, 每重复10个培养物。30 d后统计结果, 采用SAS软件对数据进行统计处理。

2 结果与分析

2.1 不同无性系茎芽分化和生长的差异

由表1可以看出, 茎芽数最多的4号无性系为10.8个, 超过总平均的22.7%; 而最少的1号无性系仅为总平均的78.4%; 茎芽长最大的是3号无性系, 达2.9 cm。方差分析结果(表2)表明, 不同无性系间茎芽数及茎芽长差异均达极显著水平。这说明毛白杨不同无性系在茎芽分化和生长上有明显的遗传差异。由多重比较可知(表1), 4号无性系的茎芽

* [收稿日期] 2003-07-18

[基金项目] 陕西省科技攻关项目(2001 K01-G7-01)

[作者简介] 张存旭(1961-), 男, 陕西澄城人, 副教授, 在职博士, 主要从事林木遗传及生物技术研究。

数和 3 号无性系的茎芽长与其他无性系间差异显著。

表 1 不同无性系的茎芽数和茎芽长特征值及邓肯氏新复极差测验

Table 1 Mean value of shoot number and shoot length and Duncan's multiple range test for different clones

无性系 Clones	茎芽数 Axillary shoot number		茎芽长/cm Axillary shoot length	
	平均 A verage	变异幅度 Range	平均 A verage	变异幅度 Range
1	6.9 c	1.7~14.2	1.8 b	0.7~2.5
2	8.3 b	5.3~14.2	1.9 b	1.0~2.9
3	9.4 b	2.8~15.3	2.9 a	1.2~4.5
4	10.8 a	3.7~15.7	1.9 b	1.2~3.3
5	8.5 b	4.7~12.3	1.7 b	0.5~2.7
平均 A verage	8.8		2.0	

注: 同列数据后标相同字母者表示差异不显著 ($\alpha=0.05$), 表 4 同。

Note: Data with same letters in the same column indicate no significant difference. This is the same in table 4.

表 2 不同无性系在不同激素组合培养基上茎芽数及茎芽长的方差分析

Table 2 The variance analysis of shoot number and shoot length in different hormone combination medium for clones

变异来源 Source	自由度 df	茎芽数 Axillary shoots number		茎芽长 Axillary shoot length	
		均方 Mean square	F	均方 Mean square	F
无性系 Clones	4	50.60	10.08**	5.26	18.82**
培养基 Media	7	62.59	12.47**	2.34	8.38**
无性系 × 培养基 Clone × medium	28	43.74	8.72**	3.09	11.05**
误差 Error	78	5.02		0.28	

2.2 不同激素配比对同一无性系茎芽分化和生长的影响

由图 1 可以看出, 1, 3, 4 号无性系茎芽增殖最大时的 6-BA 均为 0.5 mg/L ; 2 号无性系是 0.3 mg/L ; 5 号无性系在 1 mg/L 6-BA 时茎芽数最多。

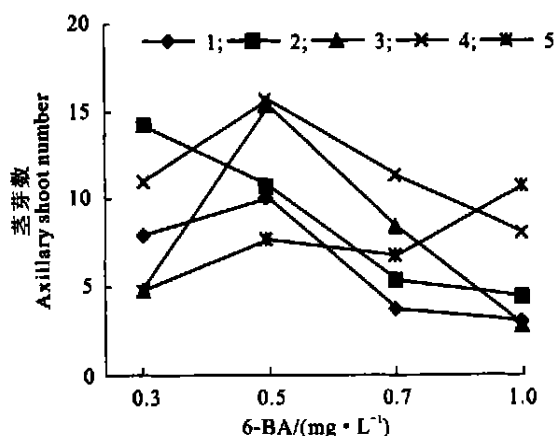


图 1 6-BA 质量浓度对不同无性系茎芽数的影响
Fig. 1 Effect of 6-BA concentration on shoot number for clones

由图 2 可以看出, 1 号和 2 号无性系茎芽长有基本相同的趋势, 随 6-BA 质量浓度增加而减少; 4 号和 5 号无性系基本相同, 在 6-BA 为 0.5 mg/L 时达到最大, 然后随质量浓度增加而减少; 3 号无性系则表现出截然不同的趋势, 在 6-BA 为 0.3 mg/L 时最大, 然后很快减少, 在 6-BA 为 1 mg/L 时又有所

随 6-BA 质量浓度增加, 3 号和 4 号无性系的茎芽数变化表现出基本相同的趋势, 在 6-BA 为 0.5 mg/L 时达到最大, 然后随质量浓度增加茎芽数减少; 1 号茎芽数有减少的趋势, 5 号则正好相反; 而 2 号无性系的茎芽数逐渐减少。

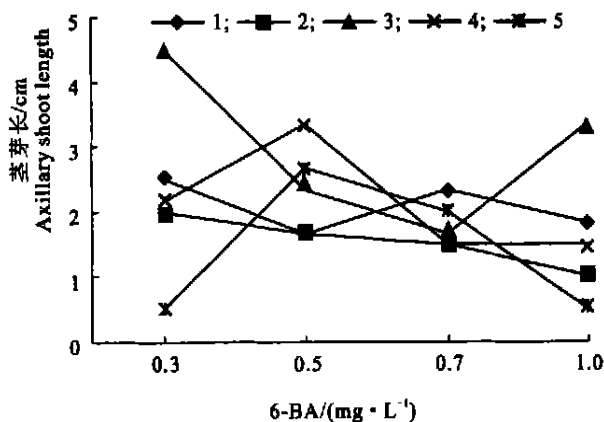


图 2 6-BA 质量浓度对不同无性系茎芽长的影响
Fig. 2 Effect of 6-BA concentration on shoot length for clones

增加。同一无性系在不同激素配比培养基上表现出明显的差异, 说明基因型与培养环境之间有一定的交互作用。由方差分析可知(表 2), 茎芽数和茎芽伸长生长在培养基间、培养基与无性系交互作用间均存在极显著差异。

2.3 基本培养基对生根诱导的影响

当茎芽长 3~4 cm 时, 将其剪下进行生根培养。从表 3 可以看出, 在不加任何激素的 3 种基本培养基上, 同一无性系的生根能力表现出相当大的差异。1 号无性系在 MS 培养基上没有根产生, 而在 1/2

MS 和 White 培养基上生根率分别达到 40.0% 和 37.5%。不同无性系在同一培养基上生根率也明显不同。在 1/2MS 培养基上, 1 号无性系的生根率为 40.0%, 2 号 62.5%, 3 号 50.0%, 4 号 40.0%。在 3 种培养基上, 5 号无性系均未诱导出根。

表 3 不同无性系在不同培养基上的生根情况
Table 3 Rooting of different clones in different medium

无性系 Clone	培养基 Media	不定枝数 Axillary shoots	出根天数 Rooting days	生根率/% Rooting rate	根数 Root number	根长/cm Root length	生根特点及植株生长 Rooting character and plantlet growth
1	MS	30	0	0	0	0	苗健壮, 无根 Plantlet is strong, and has no roots
	1/2MS	30	12	40.0	2	8.0	苗健壮 Plantlet is strong
	White	28	12	37.5	1	12.0	苗细弱 Plantlet is weak
2	MS	27	0	0	0	0	苗壮, 无根 Plantlet is strong, has no roots
	1/2MS	24	8	62.5	3	10.0	少量有须根 Few is with hair roots
	White	24	9	25.0	3	8.0	苗细弱, 根细、短 Plantlet is weak, root is fine and short
3	MS	30	18	10.0	1	11.7	苗壮, 青白色, 无须根, 根粗 Plantlet is strong, root is white and thick, and has no hair root
	1/2MS	30	14	50.0	1	16.7	苗壮, 根青色, 无须根 Plantlet is strong, root is cyan and has no hair root
	White	28	14	40.0	2	9.0	根细 Root is fine
4	MS	30	12	30.0	1	21.0	苗壮, 根青绿泛白, 粗、脆 Plantlet strong, root cyan with a little white, thick and fragile
	1/2MS	25	10	40.0	2	13.0	苗壮, 根绿, 有少量须根 Plantlet strong, root green and a few fair roots
	White	30	10	20.0	4	8.0	苗弱, 根细 Plantlet weak, root fine
5	MS	30	-	0	0	0	苗健壮 Plantlet strong
	1/2MS	30	-	0	0	0	苗健壮 Plantlet strong
	White	30	-	0	0	0	苗弱 Plantlet weak

2.4 不同无性系生根诱导的差异

由表 4 可以看出, 2 号无性系生根能力最强, 生根率达 60.0%; 3 号最差, 仅 28.7%。2 号无性系平

均根数最多, 为 4.3 条。4 号无性系根最长, 为 19.3 cm。方差分析结果(表 5)表明, 不同无性系间生根率、根数及根长差异均达极显著水平。

表 4 不同无性系生根变量特征值及邓肯氏新复极差测验

Table 4 Mean value of rooting variables and Duncan's multiple range test for different clones

无性系 Clone	生根率/% Rooting rate		生根数 Root number		根长/cm Root length	
	平均 Average	变异幅度 Range	平均 Average	变异幅度 Range	平均 Average	变异幅度 Range
1	50.7 b	30.0~96.7	1.8 b	1.8~5.0	13.1 b	6~21
2	60.0 a	33.3~93.3	4.3 a	1.0~2.7	12.9 b	6~11
3	28.7 c	10.0~96.7	2.0 b	1.0~2.7	5.9 c	7~13
4	48.7 b	40.0~96.7	2.4 b	2.0~5.0	19.3 a	14.5~25.5
5	59.3 a	33.3~93.3	1.7 b	2.0~3.0	11.8 b	12~18.5
平均 Average	49.5		2.4		12.6	

表 5 不同无性系在不同生长素及其组合培养基上生根情况的方差分析

Table 5 The variance analysis of rooting of clones in different hormone medium

变异来源 Source	自由度 df	生根率 Rooting rate		生根数 Rooting number		根长 Root length	
		均方 Mean square	F	均方 Mean square	F	均方 Mean square	F
无性系 Clone	4	2 411.33	52.17**	17.65	14.31**	340.41	56.60**
培养基 Media	4	2 851.33	61.69**	4.35	3.53*	11.71	1.95
培养基 × 无性系 Media × clone	16	924.67	20.00**	1.54	1.25	34.83	5.79**
误差 Error	48	46.22		1.23		6.01	

2.5 生长素对不同无性系生根诱导的影响

以 1/2MS 为基本培养基, 添加不同质量浓度的 NAA 或 BA, 5 个无性系都能诱导生根, 但不同无性系所需的最佳激素及其质量浓度各不相同(图 3)。除 5 号无性系外, 其余 4 个无性系在 NAA 和 BA 配合使用时的生根率均高于单独使用。由表 5 可知, 无性系在不同激素培养基间、培养基与无性系的交互作用间生根率差异均极显著; 根数在培养基间差异显著; 根长在培养基 × 无性系交互作用间差异极显著。

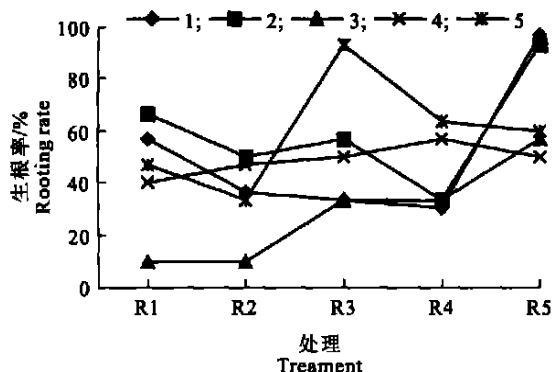


图 3 生长素对不同无性系生根率的影响

Fig 3 Effect of auxin treatment on rooting rate for clones

3 结论与讨论

本研究结果表明, 毛白杨 5 个不同优良无性系通过器官培养途径均能再生植株, 但不同无性系在植株再生能力上有很大差异。其中 4 号无性系茎芽

分化和增殖能力较强, 1 号最差, 而 2 号和 5 号的分化能力较好。这种差异说明, 茎芽分化及生根能力受遗传的控制。总的来看, 平均茎芽增殖达到 8.8 个, 但生根率仅为 49.5%, 要想达到工厂化快繁的要求还需要进一步的试验研究。

合适的激素配比质量浓度是植物组织培养成功与否的关键, 而且前人的很多组织培养工作都是对某一植物进行培养基的选择和对激素配比进行筛选。较高质量浓度水平的细胞分裂素会促进芽的分化, 但不同植物适宜其芽分化的细胞分裂素质量浓度有其特定的范围, 且细胞分裂素与生长素的合适配比亦能更好地促进芽的增殖生长和伸长生长。本研究结果表明, 6-BA 在 0.3~1.0 mg/L 能诱导毛白杨无性系的分化和增殖, 其中 0.5 mg/L 6-BA 最适合大多数无性系的茎芽增殖和生长, 说明毛白杨无性系茎芽分化需要较低质量浓度的 6-BA。同时, 6-BA 与低质量浓度的 NAA 配合使用对茎芽分化有促进作用。这一结果与前人对毛白杨其他无性系的研究结果是一致的^[4,5]。

通过对培养基的筛选, 1/2MS 基本培养基较适合各无性系的生根培养。在培养基中添加生长素, 不同无性系的生根能力明显增强。因此, 生长素对促进毛白杨生根具有非常重要的作用。

同一无性系在不同培养基及其激素组合上的表现各不相同, 培养基与无性系间有明显的交互作用。因此, 离体再生植株能力不仅取决于基因型, 而且受环境的影响。类似研究在美洲黑杨上也有报道^[7]。

[参考文献]

- [1] 徐纬英 杨树[M]. 哈尔滨: 黑龙江人民出版社, 1988: 32-33
- [2] 吴耀辉, 马彩萍 截叶毛白杨叶组织培养成苗的研究[J]. 西北植物研究, 1983, 3(1): 65-69
- [3] 陈耀华 利用胚培养方法获得毛白杨实生苗[J]. 北京林学院学报, 1983, (3): 85-88
- [4] 孙学新, 邓煜 毛白杨优树快速繁殖的研究[J]. 甘肃农业大学学报, 1989, (2): 21-23
- [5] 高金润, 朱之悌 毛白杨组培茎段扦插研究[J]. 北京林业大学学报, 1988, 10(4): 80-84
- [6] 鲁善发 三倍体毛白杨组织培养技术体系研究[J]. 植物学报, 2001, 43(4): 435-437
- [7] Coleman GD, Ernst S G. *In vitro* shoot regeneration of *Populus deltoides*: effect of cytokinin and genotype[J]. Plant Cell Rep, 1989, 8: 459-462

(下转第 80 页)

was used to monitor the growth of bacteria. The results showed that marked PAEs were found even in the subinhibitory concentration (sub-MIC) when ampicillin was used against *S. aureus* C₂₆₁₁₂ and *S. aureus* obtained from veterinary clinic, and PAEs was 1.14 ± 3.05 , 1.62 ± 2.11 , 1.87 ± 1.70 , 2.45 ± 1.31 h and 1.05 ± 1.84 , 1.38 ± 1.25 , 1.56 ± 1.35 , 2.29 ± 2.04 h, respectively. When *S. aureus* was exposed to ampicillin for 1 h, the PAEs could be got after successively exposing to 1/8, 1/4, 1/2 \times MIC ampicillin and the values were 3.61 ± 1.38 , 4.75 ± 2.18 , 6.8 ± 1.51 h (for *S. aureus* C₂₆₁₁₂) and 3.01 ± 2.5 , 4.2 ± 1.21 , 5.9 ± 1.23 h (for *S. aureus* from veterinary clinic). The duration of PAEs and PAEs was enhanced with increasing concentration, showing strongly a concentration-dependent dependence, especially at 4 \times MIC, the PAE was obviously prolonged ($P < 0.05$). Negative PAEs were defined, however, when the drug was used against *E. coli* at the same concentration. Taken together, our data indicate that the phenomenon of PAE and PAEs may help in the design of efficient control strategies for some infections in animals, for example, longer dosing interval should be recommended when the two drugs are against *S. aureus*, however, successive dosing or shorted dosing interval should be taken when they are used against sensitive *E. coli*.

Key words: colony counting method; postantibiotic effect; postantibiotic sub-MIC effect; ampicillin; dosing interval

(上接第 74 页)

Plantlet regeneration capacity of selected *Populus tomentosa* clones *in vitro*

ZHANG Cun-xu¹, ZHANG Rui-e², ZHAO Zhong¹

(1 College of Forestry, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2 Department of Biology, Fuyang Normal College, Fuyang, Anhui 236041, China)

Abstract: Five excellent clones of *Populus tomentosa* were used in this study. Sterile shoots were used as explants to induce bud differentiation and growth, as well as rooting in different medium. The potential of plantlet regeneration was compared with different clones. The results showed that all five clones of *P. tomentosa* could obtain regeneration plantlets by organogenesis *in vitro*. But a marked difference was observed in axillary shoots number and rooting rate, in which No. 4 clone axillary shoot number is 122.7% of the average and No. 1 only averages 78.4%. No. 2 rooting rate reaches 60% and No. 3 only 28.7%. It indicated that capacity of shoot proliferation and rooting was genetically controlled. The 0.5 mg/L 6-BA concentration may be the optimal value for induction and proliferation of shoot for most clones *in vitro*. Although average shoot number reached 8.8, rooting percentage was only 49.5%. 1/2 MS basal medium was suitable to rooting for clones. The rooting capacity could be improved by supplementing low concentration auxin. At the same time there existed a visible media \times clone interaction in plantlet regeneration capacity for *P. tomentosa*.

Key words: *Populus tomentosa*; clones; plantlet regeneration; tissue culture