

白皮松不定芽增殖和生长研究^{*}

李 林¹, 唐德瑞², 张海忠³, 李科友²

(1 中国科学院 华南植物园鼎湖山树木园, 广东 肇庆 526070;

2 西北农林科技大学 林学院, 陕西 杨凌 712100; 3 福建农林大学 林学院, 福建 福州 350002)

[摘 要] 研究了基本培养基、激素、活性炭和 GA₃ 在白皮松不定芽增殖和生长培养过程中的作用。结果表明, 采用MS培养基白皮松不定芽的增殖系数均超过5。培养基中加入0.05 mg/L 分裂素时不定芽的增殖系数最高达到67。培养基中添加活性炭对不定芽增殖的影响不大, 但对不定芽的生长, 特别是不定芽的伸长具有明显效果, 在3 g/L 活性炭的培养基中, 高度大于2 cm 的嫩梢达到42.3%, 大于4 cm 的嫩梢达到28.4%。在基本培养基中添加GA₃有助于白皮松不定芽的伸长, 但GA₃质量浓度过高又会抑制其伸长。

[关键词] 白皮松; 不定芽; 活性炭; GA₃

[中图分类号] S791.243.05

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2005)08-0107-04

白皮松为松科松属常绿乔木, 是我国特有的名贵树种, 也是我国北方分布最广泛的绿化树种^[1]。但采用有性繁殖成苗率低^[2,3], 限制了白皮松在生产中的推广。因此, 急需对白皮松的优良无性系进行快繁技术研究。

针叶树种无性繁殖的主要途径为扦插、嫁接和组织培养。有关针叶树无性繁殖的研究虽已取得初步成效, 但仍存在年龄效应、位置效应等诸多问题。松属树种组织培养中存在的主要问题是: 不定芽及嫩梢的诱导率低, 嫩梢生根困难, 外植体的污染率较高。松树的组织培养在国外已有成功的报道, 迄今为止^[4], 世界各国已对30多种松属树种通过胚、子叶、下胚轴、针叶和悬浮细胞培养出再生植株, 有的已用于实际生产。如美国已将花旗松制成人工种子并用于生产, 我国仅培养出了欧洲赤松、马尾松、火炬松、兴安落叶松试管苗。国内也有对油松、火炬松和樟子松等进行组织培养的研究报道^[5,6], 对白皮松的不定芽诱导虽有报道^[7,8], 但诱导分化率低。本研究以白皮松不定芽为材料, 研究了基本培养基、激素、活性炭和GA₃对不定芽增殖和生长的影响。

1 材料与方法

1.1 供试材料

以产自陕西蓝田的成熟饱满白皮松种子为试验

材料。

1.2 方 法

1.2.1 芽诱导 将白皮松种子成熟胚接种到不定芽诱导培养基MS+6-BA 3.5 mg/L + NAA 0.4 mg/L + BA 0.1 mg/L 中^[9], 置于(25±2) °C、每日光照12 h、光照强度1500~2000 lx的培养室中。

1.2.2 芽增殖培养基的选择 在供试的MS、WPM、1/2 MS和1/2 WPM 4种芽增殖培养基上, 设不加6-BA和加0.1 mg/L 6-BA 2种组合, 培养40 d后统计不定芽的增殖系数。

1.2.3 芽增殖激素质量浓度的筛选 在MS培养基中分别添加0, 0.05, 0.1 mg/L 6-BA, 然后分别配合0, 0.05, 0.1, 0.5 mg/L NAA, 培养40 d后统计不定芽的增殖系数。

1.2.4 活性炭在不定芽增殖和生长中的作用 采用MS培养基不加激素, 分别添加0, 1, 2, 3 g/L 活性炭, 培养40 d后, 统计不定芽的增殖系数和高度大于2.4 cm 嫩梢所占比例。

1.2.5 GA₃对白皮松不定芽伸长的影响 设0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 mg/L GA₃ 8个质量浓度梯度, 在MS培养基上不加任何其他生长调节剂, 每处理接种5瓶, 每瓶2个不定芽。培养40 d后统计不定芽的长度。

^{*} [收稿日期] 2004-11-08

[基金项目] 国家林业局948引进项目“美国黄松优良种源及快繁技术引进”(98-4-05); 国家林业局黄土高原林木培育实验室项目“美国黄松组织培养及快繁技术研究”(K02-06)

[作者简介] 李 林(1978-), 女, 陕西汉中, 博士, 主要从事苗木繁育和保护生物学研究。

[通讯作者] 唐德瑞(1961-), 男, 陕西周至, 研究员, 博士生导师, 主要从事生态学和森林培育学研究。

2 结果与分析

2.1 培养基对白皮松不定芽增殖的影响

4 种培养基上两种激素组合的不定芽增殖系数见图 1。由图 1 可知,MS 和 WPM 培养基上白皮松不定芽的增殖系数均超过 5, 1/2MS 培养基上不定

芽的增殖系数较低, 1/2WPM 培养基上最低。从子叶及下胚轴上分化出来的不定芽多数长度都在 5 mm 以下, 如果不选用合适的继代培养基就有可能使这些已分化的不定芽难以继续生长, 甚至死亡。所以白皮松不定芽的增殖宜采用 MS 培养基为基本培养基。

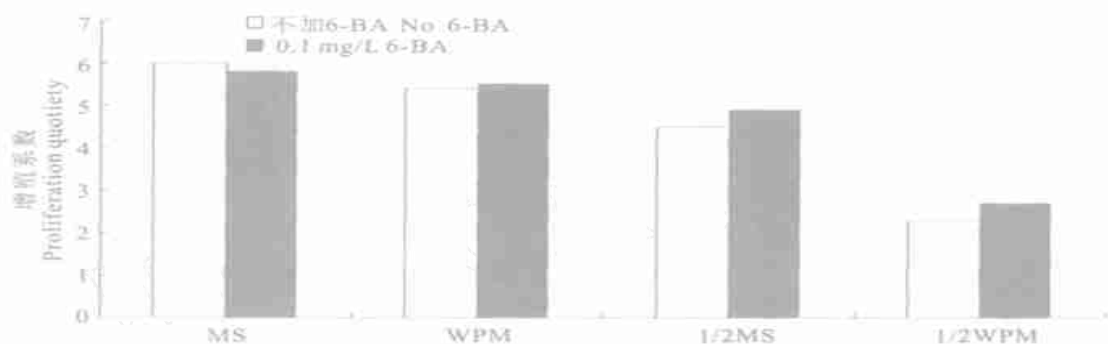


图 1 不同培养基对白皮松不定芽增殖的影响

Fig. 1 Proliferation quotiety of *Pinus bangeana* buds on different medium s

2.2 激素对白皮松不定芽增殖的影响

不同质量浓度激素组合对白皮松不定芽增殖的影响见表 1。

表 1 不同质量浓度激素组合对白皮松不定芽增殖的影响

Table 1 Influence of NAA and 6-BA concentration on the buds proliferation

6-BA / (mg · L ⁻¹)	NAA / (mg · L ⁻¹)	增殖系数 Proliferation coefficient
0	0	6.3
	0.05	6.7
	0.1	6.5
	0.5	5.0
	0	3.7
0.05	0.05	4.5
	0.1	4.3
	0.5	4.0
	0	1.0
0.1	0.05	1.2
	0.1	1.0
	0.5	1.0
	0	1.0

由表 1 可知,白皮松不定芽的增殖系数随 6-BA 质量浓度的增加而下降,所以在增殖培养基中添加 6-BA 不利于不定芽的增殖。对不定芽增殖系数的方差分析结果表明,生长素 NAA 对白皮松不定芽的增长作用极显著 ($F = 144.56$),而细胞分裂素

6-BA 的作用不显著 ($F = 1.99$)。0.05 mg/L NAA 与 6-BA 的各个质量浓度组合的增殖系数均大于 NAA 其他质量浓度。培养基中不加 6-BA 时 NAA 各个组合的增殖系数均高于 6-BA 其他质量浓度。因此,在白皮松不定芽增殖时,加入 0.05 mg/L NAA,不加分裂素时不定芽的增值系数最高,为 6.7。

将子叶直接分化产生的不定芽和愈伤组织上产生的不定芽接入 MS 培养基中,分化较好的不定芽继续生长成丛生芽,部分芽退化形成愈伤组织,愈伤组织继续诱导培养又会长出不定芽。将丛生芽切开接入增殖培养基中,已抽出的针叶会再分化成不定芽,由此往复可得到大量的不定芽,并进一步进行规模化组织培养和工厂化育苗(图 2)。

2.3 活性炭对白皮松不定芽增殖和伸长的影响

由表 2 可知,随培养基中活性炭含量增加不定芽的增殖系数有下降趋势,但活性炭对于不定芽的生长,特别是不定芽的伸长具有明显的促进作用。3 g/L 活性炭的培养基中,高度大于 2 cm 的嫩梢达到 42.3%,大于 4 cm 的嫩梢达到 28.4%。为此,在白皮松生长培养中为使不定芽能长到 2 cm 以上可供生根的有效嫩梢,添加适当的活性炭是非常必要的。对于密集生长的不定芽,在生长培养时,首先 3~4 小芽为一丛将其分割,然后置于含有活性炭的培养基中(图 3)。



图 2 M S 培养基上增殖的白皮松不定芽
Fig 2 Buds of *Pinus bangeana* on M S medium s



图 3 添加活性炭后白皮松不定芽的增殖
Fig 3 Buds proliferation of *Pinus bangeana* on medium s w ith activated charcoal

表 2 活性炭(AC)对白皮松继代培养体分化与生长的影响

活性炭/ (g · L ⁻¹) Active carbon content	增殖系数 Proliferation coefficient	嫩梢高度所占比例/% The rates of height	
		≥2 cm	
		≥4 cm	≥4 cm
0	6.4	15.7	10.5
1	6.7	19.9	9.8
2	5.4	36.5	15.2
3	3.9	42.3	28.4

2.4 GA₃ 对白皮松不定芽伸长的影响

由图 4 可以看出, 当 GA₃ 质量浓度小于 0.5 mg/L 时, 不定芽的平均长度变化不大, 在 1.5 cm

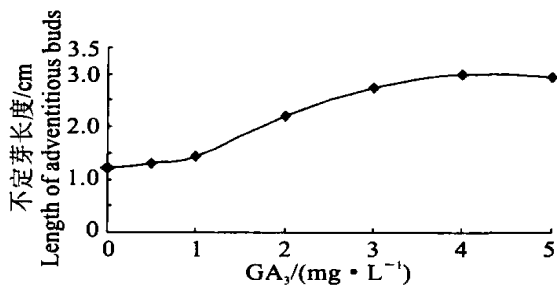


图 4 不同质量浓度 GA₃ 上的白皮松不定芽长度
Fig 4 Length of *Pinus bangeana* buds on different GA₃ concentration

3 讨 论

3.1 培养基

大量实验表明^[4], 基本培养基的成分及使用浓度对松属树种的分化至为关键, 而选择合适的基本培养基最为重要。目前, 在松树的器官分化中, 最常

以下。当 GA₃ 质量浓度从 0.5 mg/L 增加到 3.0 mg/L 时, 不定芽的平均长度增加较快, 从 1.3 cm 增加到 2.9 cm 以上。GA₃ 质量浓度达到 3.0 mg/L 以后, 不定芽的平均长度保持在 3.0 cm 左右, 变幅不大。GA₃ 质量浓度超过 4.0 mg/L 后, 不定芽的平均长度减小。嫩梢高度与 GA₃ 质量浓度的回归拟合方程为 $y = -0.0406x^3 + 0.2435x^2 + 0.1423x + 1.1846$, 相关系数 R 达到 0.9969。由此可见, 在基本培养基中添加 GA₃ 有助于白皮松不定芽的伸长, 但当 GA₃ 质量浓度过高时又会抑制其伸长。由图 5 可见, 添加 GA₃ 后, 白皮松嫩梢明显伸长。

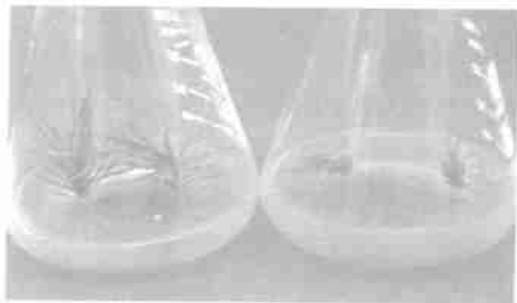


图 5 添加 GA₃ 后白皮松不定芽的伸长(左)
Fig 5 Length of *Pinus bangeana* buds on medium s w ith GA₃ (left)

用的基本培养基有 GD, SH, DCR, LP 和 LM 等, 此外还有 MS 及各种改良 MS 培养基, CD、WPM、MCM 以及 Rancillac 培养基。高盐的 MS 培养基对大多数松属树种的器官分化不利。通常把用于诱导嫩梢的矿质盐浓度降低至 1/2~1/3, 则有利于根的发育^[10]。本研究以 MS 为白皮松不定芽增殖的基本

培养基时,不定芽的增殖和生长状况较好。可见,高盐MS培养基对白皮松离体胚的培养是适宜的,不仅没有抑制不定芽的分化,还起到促进作用。

3.2 激素

在对松树离体胚培养时,除了营养物质以外,为了促进组织和器官的生长,通常还要在培养基中加入一种或一种以上的生长调节物质^[11]。高质量浓度的细胞分裂素虽然促进了芽的诱导和增殖,但对其伸长具有明显抑制作用。嫩梢形成和增殖培养时,必须把丛生芽转到无激素的培养基上。本研究在对白皮松不定芽增殖时,不加分裂素效果更好。在继代培养过程中,基本培养基中添加GA₃有助于白皮松不定芽的伸长,但当GA₃质量浓度过高时又抑制其不

定芽的伸长。

3.3 活性炭

活性炭在松属树种组织培养中的应用已很普遍,阙国宁等^[12]在火炬松、湿地松和晚松离体胚培养研究中证明,活性炭对嫩梢的生长具有良好的效果。本研究在培养基中添加活性炭对白皮松不定芽的增殖增益不大,随活性炭含量的增加增殖系数还有下降的趋势。但是,对不定芽的生长,特别是不定芽的伸长具有明显效果。活性炭含量在供试范围内增加,对白皮松不定芽的伸长有增益作用。继代培养基中加入1%的活性炭后,不定芽的生长加快,这可能是活性炭对不定芽生长过程中的有毒代谢物质有吸附,促进了不定芽的生长。

[参考文献]

- [1] 孔季庶,王章荣,王明麻,等. 针叶树种扦插繁殖研究进展[J]. 世界林业研究, 1996, (4): 17- 20.
- [2] 梁玉堂,龙庄如. 树木营养繁殖原理和技术[M]. 北京: 中国林业出版社, 1989.
- [3] 顾淑荣,陈振华,朱至清. 白皮松和油松雌配子体愈伤组织的诱导和分化[J]. 植物学报, 1995, 37(3): 217- 221.
- [4] 黄健秋,卫志明. 松属树种的组织培养和原生质体培养[J]. 植物学通报, 1994, 11(1): 34- 42.
- [5] 郑均宝,潘冬梅,陈正华. 油松离体胚子叶的组织分化和无根试管苗的形成[J]. 河北林学院学报, 1994, 9(2): 97- 101.
- [6] 康明,田建强. 樟子松成熟胚的离体培养与不定芽的形成[J]. 河北林学院学报, 1993, 8(4): 273- 276.
- [7] 桂耀林. 白皮松离体胚子叶组织分化和不定芽的形成[J]. 植物学集刊, 1983, (12): 91- 96.
- [8] 普晓兰,林萍,李乡旺. 五针白皮松离体胚培养初步研究[J]. 西南林学院学报, 1997, 17(1): 17- 20.
- [9] 李林,李科友,唐德瑞. 白皮松离体胚培养与不定芽的诱导[J]. 西北林学院学报, 2004, 19(2): 61- 64.
- [10] 龚峰. 松科树种的组织培养[J]. 广东林业科技, 1990, (6): 29- 33.
- [11] 奚元龄,颜昌敬,译. 植物组织培养手册[M]. 第1版. 北京: 农业出版社, 1990. 355.
- [12] 阙国宁,房建军,葛万川,等. 火炬松、湿地松、晚松组培繁殖研究[J]. 林业科学研究, 1997, 10(3): 227- 232.

Study on propagation and growth of adventitious buds of *Pinus bungeana*

LI Lian¹, TANG De-ru², ZHANG Hai-zhong³, LI Ke-you²

(1 Dingshushan Arboretum, South China Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Zhaoqing, Guangdong 526070, China;

2 College of Forestry, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;

3 Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, Fujian 350002, China)

Abstract: The thesis studied the use of mediums, hormone, activated charcoal and GA₃ in adventitious buds of *Pinus bungeana* proliferation and growth. The results showed MS was the optimal medium, the adventitious buds proliferation rate was above 5. Added 0.05 mg/L NAA, without 6-BA, the adventitious buds proliferation rate was 6.7. Added activated charcoal in medium was no use to adventitious buds proliferation. But it was helpful for adventitious buds growth, especially for buds elongation. Added 3 g/L activated charcoal in MS medium, the rates of height ≥ 2 cm shoot reached 42.3%, ≥ 4 cm shoot reached 28.4%. GA₃ was also helpful for buds elongation, while high concentration was restraining the buds growth.

Key words: *Pinus bungeana*; adventitious buds; activated charcoal; GA₃