

# 不同激素浓度对柠条茎段组织培养及植株再生的影响

牛西午<sup>1</sup>,詹海仙<sup>2</sup>,畅志坚<sup>2</sup>,杨慧珍<sup>2</sup>,郭秀荣<sup>2</sup>,张晓军<sup>2</sup>

(1.山西省农业科学院,山西 太原 030006;2.山西省农业科学院作物遗传研究所,山西 太原 030031)

**摘要:**以小叶锦鸡儿茎段为外植体,MS为基本培养基,设计不同浓度的6-BA,IAA,NAA,IBA,KT等单因子和不同比例的细胞生长素和细胞分裂素组合试验。结果表明:在芽的诱导增殖过程中,添加有6-BA 0.5 mg/L,IAA 0.01 mg/L的MS培养基效果最好,诱导率为90%。在生根培养过程中,添加有IAA 0.5 mg/L的1/2MS培养基效果较好,生根率为86%。

**关键词:**柠条;组织培养;植株再生;激素

**中图分类号:**S541.01 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-7091(2005)01-0035-03

## Effects of Different Plant Hormone Concentrations on Tissue Culture and Plantlet Regeneration of *Caragan microphylla*

NIU Xi-wu<sup>1</sup>, ZHAN Hai-xian<sup>2</sup>, CHANG Zhi-jian<sup>2</sup>,  
YANG Hui-zhen<sup>2</sup>, GUO Xiu-rong<sup>2</sup>, ZHANG Xiao-jun<sup>2</sup>

(1. Shanxi Academy of Agricultural Sciences, Taiyuan 030006, China; 2. Institute of Crop Genetics, Shanxi Academy of Agricultural Sciences, Taiyuan 030031, China)

**Abstract:** Stalk segments of *Caragan microphylla* Lam were cultured as explants on medium supplemented with plant hormone in different concentrations. The results showed that Murashige and Skoog (MS) medium supplemented with 6-BA 0.5 mg/L, IAA 0.01 mg/L was the most effective medium for the differentiation and multiplication of the shoots. The optimum rooting medium was 1/2MS + IAA 0.5 mg/L.

**Key words:** *Caragana microphylla* Lam; Tissue culture; Plantlet regeneration; Plant hormone

柠条(*Caragana* Fabr)是豆科灌木类植物,根系发达且有根瘤,对防风固沙、保持水土、改良土壤有良好的作用,具有较高的生态经济价值。柠条枝条表面具有蜡质层,是火力较强的燃料。柠条纤维比较长,可用以造纸和加工纤维板,还可用于编织。柠条枝叶富含氮、磷、钾等元素,是良好的灌木绿肥,又是很好的牧田灌木<sup>[1,2]</sup>。我国人工栽培柠条的历史较短,生产上一般以种子繁殖苗木,速度比较慢,后代长势参差不齐,直接影响了苗木的产量和质量。

组织培养是提高柠条优良基因型的选择效率、加速优良基因型纯合过程的有效手段和途径。利用

组织培养进行柠条无性繁殖,速度快,质量好,短期内可提供大量苗木。但目前对于柠条组培快速繁殖与育种方面的研究还比较滞后,所见报道甚少,仅在无菌苗为外植体进行柠条组织培养方面有少数人进行过研究<sup>[3,4]</sup>。对于离体柠条茎段培养还未见报道。本研究着重探讨利用植物组织培养方法快速繁殖柠条苗木,以期尽快将这一技术应用于生产实践。

## 1 材料和方法

### 1.1 供试材料

外植体取自山西省农科院土肥所试验田。

收稿日期:2004-06-08

基金项目:国家863项目(2002AA241019)部分内容

作者简介:牛西午(1947-),男,山西兴县人,研究员,博士生导师,主要从事植物资源开发、利用及遗传育种研究;畅志坚为通讯作者。

## 1.2 试验方法

1.2.1 外植体的消毒方法及培养条件 选取柠条幼嫩茎段,流水冲洗30 min,无菌条件下 $\text{HgCl}_2$ 处理3 min,无菌水冲洗3次,70%乙醇处理30 s,无菌水冲洗1次,安替福明(体积比为4%)处理3~4 min,无菌水冲洗6次。将染有消毒液的组织剪去,置于滤纸上,最后将茎段剪成带1对腋芽的小段(外植体),接种于8种分化培养基上。培养温度为20~23℃,光照强度为2 000~3 000 lx,光照时间为12 h/d。芽和根的诱导培养条件相同。

芽诱导培养基采用MS培养基,其中:蔗糖1.5%,琼脂0.6%,铁盐加至正常MS培养基的3/2,外源激素成分列于表1,pH值为5.8,常规方法灭菌。生根培养基采用1/2MS(MS大量元素减半),蔗糖1.5%,琼脂0.6%,外源激素成分列于表2,pH值为5.8,常规方法灭菌。

### 1.2.2 培养基的选择

1.2.2.1 芽诱导培养基 将柠条幼嫩茎段接种在生长素IAA(吲哚乙酸)、NAA(萘乙酸)和细胞分裂素6-BA(6-苄基嘌呤)、KT(激动素)组成的8种浓度组合的MS培养基上,每个组合接种10~15瓶,每瓶2~3个外植体,在培养室培养20 d后统计诱导结果。

1.2.2.2 根诱导培养基 当诱导芽在培养基上生长到3~5 cm时,形成的无菌苗从茎基部切下,放入外源激素为IAA,NAA,IBA 8种浓度处理的培养基中。每种培养基接种10瓶,每瓶有2~3株苗,在培养20,40 d时,观察并统计生根率。

表1 芽诱导培养基不同处理组合

Tab.1 Different media treatments of the bud induction

生长调节物质 (mg/L) Plant growth regulators	培养基编号 No. of treatment							
	1	2	3	4	5	6	7	8
6-BA	0.2	0.5	0.3	0.5	0.5		1.5	2
IAA		0.01					0.01	0.01
KT						0.3		
NAA			0.2	0.2	0.5	0.2		

表2 根诱导培养基不同处理组合(1/2MS培养基)

Tab.2 Different media treatments of the root induction

生长调节物质 (mg/L) Plant growth regulators	培养基编号 No. of treatment							
	1	2	3	4	5	6	7	8
IAA		0.5	1	1.5				
IBA								0.5
NAA					0.5	0.2	0.5	

1.2.3 再生苗的移栽 培养30 d的柠条幼苗,打开瓶盖,在培养室炼苗3 d,取出小苗,洗去琼脂,植于沙子:蛭石=2:1的育苗钵中,盖塑料薄膜或小烧杯保湿,定期浇水,3~5 d后将苗移入营养基质中,

表3 不同培养基对外植体诱导的影响

Tab.3 The effects of different media on the bud induction of leaflets

培养基编号 No. of medium	接种外植体个数 No. of plantlets inoculated	诱导芽块数 Explants induce buds	诱导率(%) Induction rate	芽生长状态 Status of bud
2	30	27	90.0 A	生长快,健壮
1	30	25	83.3 AB	生长快,健壮
7	30	22	73.3 B	生长较快
8	30	16	53.3 C	生长较快,个别有玻璃化现象
3	30	13	43.3 CD	生长较慢,切面褐化严重
6	30	12	40.0 DE	生长缓慢
4	30	11	36.7 DE	生长缓慢
5	30	9	30.0 E	玻璃化严重

注:A,B,C,D,E表示处理间 $P=0.01$ 水平极显著差异 Note: A,B,C,D,E indicate significant difference level at 0.01 level

## 2 结果与分析

### 2.1 芽诱导培养基的选择

从表3可以看出,柠条幼嫩茎段植于8种培养基中,因其生长调节物质不同而存在较大差异。在1,2号培养基中,对芽的分化增殖最为有效,茎段生长快,幼苗健壮,15~20 d即可长至3~5 cm。其次是7号培养基,能在切口生长出较多的愈伤组织,并能促使腋芽萌动形成丛生芽。而8号培养基上的茎段长出玻璃化丛生苗,这可能与培养基中细胞分

裂素水平过高有关。第3代无菌苗切面长出膨大愈伤。将培养出的幼苗切段(带腋芽),重新接种于1,2,7号培养基,20 d长成健壮幼苗。在同样培养条件下,反复剪取茎段进行繁殖,建立无性系。添加有NAA的培养基,切口褐化,愈伤化明显,不利于茎段生长。

### 2.2 柠条生根培养基的选择

表4表明,分化形成的无菌苗在1/2MS不添加任何激素的1号培养基中,能够长出4~5条根,最长根为6.2 cm,生根率能达到50%左右。在2号培

培养基中,根系生长良好,主根非常发达,侧根生长良好,后期移栽表明,此培养基为柠条培养生根的最适培养基。无菌苗在 3,4 号培养基中,切面褐化、膨大,无生根迹象。无菌苗在 5,6,7 号培养基中,切面愈伤化明显,长出的根粗短,不易移栽成活。无菌苗在 8 号培养基中无任何变化。由此可判断柠条生根的最适培养基为 1/2MS 或 1/2MS 添加有 IAA 0.5 mg/L。IAA 对柠条生根的作用要好于 NAA,IBA。

表 4 不同培养基对柠条生根的影响

Tab.4 The effects of different media on shoot induction

培养基编号 No. of medium	生根率(%) Rooting rate	根的生长情况 Rooting growth
2	86.1 A	生长良好,主根非常发达,并有侧根生长
1	50.3 B	生长良好,有 4~5 条根
5	25.7 C	粗、短,切面愈伤化明显
6	30.6 C	粗、短,切面愈伤化明显
7	35.8 C	粗、短,切面愈伤化明显
3	0 D	无生根迹象,切面褐化、膨大
4	0 D	无生根迹象,切面有轻微愈伤化
8	0 D	无根长出

注:A,B,C,D 表示处理间  $P=0.01$  水平极显著差异

Note: A,B,C,D indicate significant difference level at 0.01 level

### 3 讨论

在培养基中加入细胞分裂素的目的,主要是为促进细胞分裂和不定芽的形成,打破顶端优势,有利于形成丛生芽并增殖<sup>[5]</sup>。植物体内同时存在数种植物激素,它们之间可相互促进增效,也可以相互拮抗抵消。在植物生长发育过程中,任何一种生理过程往往不是培养基中某一激素的单独作用,而是培养基中多种激素相互作用的结果。例如,IAA 促进细胞核的分裂,而 CTK(嘌呤型细胞分裂素)促进细胞质的分裂,由于这类化合物有助于使腋芽由顶端优势的抑制下解放出来,也用于茎的增殖<sup>[6]</sup>。二者共同作用,从而完成细胞核与细胞质的分裂。生长

素抑制侧芽萌发,维持植株的顶端优势,而细胞分裂素却可消除顶端优势,促进侧芽生长,使腋芽由顶端优势的抑制下解放出来,这就是一个很好的激素间的增效作用与拮抗作用的例子。在组织培养中 IAA 常用于器官与组织分化,但它的作用还决定于植物中细胞分裂素浓度的高低。因为,当 CTK/IAA 的比例高时,有利于茎芽的发生,比例低时,有利于根的形成<sup>[5]</sup>。

本试验培养基中所用的激素是:生长素 IAA, NAA 和细胞分裂素 6-BA,KT。试验得出:培养基中激素浓度组合 6-BA 0.5 mg/L + IAA 0.01 mg/L 表现为有利于促进芽生长,培养基中激素浓度 IAA 0.5 mg/L 表现为有利于促进发根和根的生长,与上述激素对植物的生长调节理论相符合。综合以上的研究结果,并不是激素浓度越高越好,而是只有当激素 CTK 与 IAA 的比例适中时,才能达到促进柠条芽生长、增殖、发根及促根生长的最佳效果。从而为柠条的无性快速繁殖和突变体筛选提供了有效的方法。

### 参考文献:

- [1] 牛西午. 柠条研究[M]. 北京:北京科学出版社,2003. 103-123.
- [2] 牛西午. 柠条生物学特性研究[J]. 华北农学报,1998, 13(4):122-129.
- [3] 慈忠玲. 柠条锦鸡儿愈伤组织的培养与分化[J]. 内蒙古林学院学报,1998,20(4):15-18.
- [4] 李凤霞,罗希明,张根发,等. 中间锦鸡儿和骆驼刺组织培养一次诱导再生植株[J]. 中国草地, 1992,(4):37-39.
- [5] 熊丽,吴丽芳. 观赏花卉的组织培养与大规模生产[M]. 北京:化学工业出版社,2002.49-50,74-76.
- [6] 李浚明. 植物组织培养教程[M]. 北京:中国农业大学出版社,2001.32-35.