

西藏砂生槐丛生芽的诱导*

杨爽¹, 方江平¹, 唐佳¹, 王勇²

1. 西藏农牧学院生物技术中心, 林芝 860000; 2. 西藏林芝地区农牧局, 林芝 860000

摘要: 以西藏砂生槐无菌实生苗为材料, 研究了不同外植体、基本培养基、细胞分裂素种类及浓度、pH 对其丛生芽诱导效果的影响。结果表明: 以子叶节作为外植体, 接种于 pH 值为 6.0~6.5 的 MS+6-BA 2.0 mg/L +NAA 0.2 mg/L 培养基上, 丛生芽的诱导效果最好。

关键词: 西藏砂生槐; 丛生芽; 诱导率

中图分类号: S723.139; S792.26

文献标识码: A

文章编号: 1000-5684(2011)

DOI: CNKI:22-1100/S.20110511.1651.002

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/22.1100.s.20110511.1651.002.html>

Induction of Adventitious Bud on *Sophora moorcroftiana* in Tibet

YANG Shuang¹, FANG Jiang-ping¹, TANG Jia¹, WANG Yong²

1. College of Agriculture and Animal Husbandry, Tibet University, Linzhi, 860000, China; 2. Linzhi Agricultural and Animal Bureau of Tibet, Linzhi, 860000, China

Abstract: Hypocotyl explants induced adventitious buds from *Sophora moorcroftiana* seedling by adopting shoot tips, stems and cotyledon nodes. Different explants, basal substrates, kinds and concentrations of cytokinin and pH value were involved. The results showed that the induction effects of Multiple Shoots were the best in the basic medium at the conditions of pH 6.5 with MS+6-BA 2.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L.

Key words: *Sophora moorcroftiana*; adventitious bud; induction frequency

西藏砂生槐 (*Sophora moorcroftiana*), 又名“西藏狼牙刺”、“金雀花”、“刺柴”^[1], 藏语名为吉瓦, 系豆科槐属植物, 多年生矮灌木^[2], 广泛分布于西藏雅鲁藏布江河谷、山坡、沙地上^[3], 为西藏特有植物种^[4]。砂生槐具有极强的抗旱、耐瘠薄、抗风沙等生态适应性和很好的防风固沙、保持水土的功能, 并在饲、药等方面极具开发利用价值^[5-9]。自然条件下, 砂生槐种子发芽率低, 约为 10%^[10], 导致实生苗更新较差, 严重地制约了砂生槐植株的繁殖。利用组织培养快速繁殖技术可在短时间内提供大量的砂生槐幼苗, 对于加快其种群繁衍速度具有重要意义。但是, 对于砂生槐组织培养的研究至今未见报道。本试验研究了砂生槐经器官发生途径诱导丛生芽的几个重要影响因素——外植体、基本培养基、pH、细胞分裂素种类和浓度, 以期建立高效稳定的砂生槐再生体系提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

20 d 苗龄的砂生槐无菌实生苗: 选取饱满无病虫害的砂生槐种子, 自来水冲洗干净后温水浸泡 24 h, 先用天体积分数 75% 的酒精处理 1 min, 无菌水冲洗两次, 再用 0.1% 的升汞处理 8 min, 无菌水冲洗 6 次后接种于 MS 培养基上。培养 20 d 后获得苗龄 20 d 的砂生槐无菌实生苗(图 1-A)。

1.2 方法

各影响因素采用单因子多水平设计法。

1.2.1 外植体对砂生槐丛生芽的诱导试验 分别剪取砂生槐无菌实生苗的顶芽、茎段、子叶节(带有约 4 mm 下胚轴和 2 片子叶)为外植体, 接种于 pH 为 6.0 的丛生芽诱导培养基 MS+6-BA 2.0 mg/L +NAA

* 基金项目: 国家林业局林业科技推广示范项目(XZ2009001), 国家农业科技成果转化资金项目(2009GB2F400356)

作者简介: 杨爽, 女, 实验员, 研究方向: 西藏当地濒危植物组织培养研究。

收稿日期: 2010-08-05

网络出版时间: 2011-5-11 16:51

0.2 mg/L 培养基上 (保持外植体形态学下端朝下)。

1.2.2 基本培养基对砂生槐丛生芽的诱导试验 分别以MS、1/2 MS、B₅为基本培养基, 附加 6-BA 2.0 mg/L+ NAA 0.2 mg/L, pH 6.0, 以砂生槐无菌实生苗的子叶节为外植体, 接种培养。

1.2.3 不同细胞分裂素种类和浓度对砂生槐丛生芽的诱导试验 以砂生槐无菌实生苗的子叶节为外植体, 以 MS 为基本培养基, 6-BA、KT 和 ZT 的添加量各设 1.0, 2.0, 3.0 mg/L 3 个质量浓度, NAA 的质量浓度均为 0.2 mg/L, 共 9 个处理组合 (pH= 6.0)。

1.2.4 pH 对砂生槐丛生芽的诱导试验 将砂生槐无菌实生苗的子叶节接种于 MS+ 6-BA 2.0 mg/L +NAA 0.2 mg/L 培养基上, 将 pH 分别调至 5.5,6.0,6.5,7.0。

以上各试验中, 每个处理分别接种 10 瓶,每瓶 2 株外植体, 重复 3 次。培养基的琼脂用量为 5.5 g/L, 蔗糖用量 30 g/L。培养条件:光照强度 2 000 lx, 14 h/d,(25±2) °C。

外植体接种 60 d 后, 统计和记录砂生槐丛生芽诱导率、平均丛生芽数和丛生芽长势。数据处理采用 DPS7.05 统计软件进行。

丛生芽诱导率=(形成丛生芽的外植体数/接种外植体数) ×100%;

平均丛生芽数=丛生芽的总数/丛生芽的外植体数。

2 结果与分析

2.1 外植体对砂生槐丛生芽诱导的影响

剪取砂生槐无菌实生苗的顶芽、茎段、子叶节分别进行丛生芽的诱导, 结果 (表 1) 表明, 对于不同的外植体, 丛生芽诱导率和形成平均丛生芽数均不同。顶芽和茎段形成丛生芽的能力较低, 而子叶节丛生芽诱导率最高,形成平均丛生芽数最多,且丛生芽长势最好。因此,最适宜砂生槐丛生芽诱导的外植体是子叶节。

在前期摸索试验中,选取自然条件下健壮的当年生枝条 (通过根蘖芽萌生) 茎段作为外植体, 接种于 MS+6-BA 2.0 mg/L +NAA 0.2 mg/L 培养基上, 丛生芽诱导率为 0, 并且几乎无生长迹象,这可能与砂生槐成龄植株高度分化有关。而选取实生种子苗的顶芽、茎段、子叶节作为外植体, 都能诱导出丛生芽, 但丛生芽的诱导率、长势和平均丛生芽数都有很大差异,这可能是由不同外植体在内源激素和养分含量上的差异造成的。

表 1 外植体对砂生槐丛生芽诱导的影响

Table 1. Effects of different explants on induction of adventitious buds of *Sophora moorcroftiana*

外植体 Explant	丛生芽诱导率/% Induction rate	平均丛生芽数 Average number of buds per explant	丛生芽长势 Growth condition of adventitious buds
顶芽 Top bud	30 ^{Bb}	4.9 ^{Bc}	++
茎段 Stem-segment explant	29 ^{Bb}	5.1 ^{Bb}	++
子叶节 Cotyledonary node	75 ^{Aa}	7.0 ^{Aa}	++++

注: (1)丛生芽的生长状况以“+”表示,“+”越多表示长势越好, 下同

Note: “+” indicates growth condition of adventitious buds, the more “+” is, the better the growth is. The same below

(2) 同列不同大小字母表示在 0.05 和 0.01 水平上差异显著,下同

Different small and capital letters in the same column indicate significant difference at the 0.05 and 0.01 levels. The same below

2.2 基本培养基对砂生槐丛生芽诱导的影响

基本培养基是植物组织培养的重要基质, 由于各种植物的遗传背景、生物学特征不同, 因而对营养成分的需求也不同, 选择合适的培养基对于组织培养成败至关重要^[1]。试验结果 (表 2) 表明, 在所试的MS、1/2 MS、B₅ 3 种培养基上, 均能诱导出丛生芽; 在 3

种培养基上, 丛生芽诱导率和平均丛生芽数的差异性均达到极显著水平; MS和B₅培养基上的丛生芽长势相当, 且明显好于 1/2 MS; MS培养基丛生芽诱导率最高, 平均丛生芽数最多。因此, 在以后的试验里, 均使用MS作为基本培养基。

表 2 基本培养基对砂生槐丛生芽诱导的影响

Table 2. Effects of different basal substrates on induction of adventitious buds of *Sophora moorcroftiana*

基本培养基 Basal substrate	丛生芽诱导率/% Induction rate	平均丛生芽数 Average number of buds per explant	丛生芽长势 Growth condition of adventitious buds
MS	75 ^{Aa}	7.0 ^{Aa}	++++
1/2 MS	66 ^{Cc}	5.5 ^{Cc}	++
B ₅	71 ^{Bb}	5.9 ^{Bb}	++++

2.3 不同细胞分裂素种类和浓度对砂生槐丛生芽诱导的影响

由表 3 可知,附加 3 种细胞分裂素的培养基均可以诱导出丛生芽,但就丛生芽诱导率而言,6-BA、KT 和 ZT 对丛生芽诱导的影响差异极显著($P < 0.01$),附加 6-BA 的培养基丛生芽长势总体好于附加 KT 和 ZT 的培养基。6-BA 与生长素的质量浓度比值为 10:1 时,丛生芽诱导率最高;KT 同样如此;而 ZT 与生长素的质量浓度比值为 5:1 时,丛生芽诱导率为 9%,在外植体基部形成大量愈伤组织,并从愈伤组织表面分化出少量的畸形芽,随着 ZT 浓度的升高,丛生芽诱导率 $< 5%$ 。因此,对砂生槐丛生芽诱导的作用,6-BA>KT>ZT。不同浓度的 6-BA 对丛生芽

诱导的效果也有所不同,当 6-BA 的质量浓度为 2.0 mg/L 时,丛生芽诱导率最高,为 75%,形成平均丛生芽数最多,且丛生芽长势最好,新芽粗壮叶大,颜色深绿,叶片舒展,平均苗高 > 2 cm (图 1-B、图 1-C)。从理论上讲,在诱导分化阶段 6-BA 的浓度越高,丛生芽的诱导率越高,诱导的丛生芽数量越多。但当 6-BA 的质量浓度升至 3.0 mg/L 时,丛生芽的诱导率稍有降低,而且丛生芽长势明显变差。高浓度的 6-BA 会使细胞分裂过于迅速,但可能并未促进幼芽及芽原基分生组织的分化,所以高浓度的 6-BA 反而不利于丛生芽的产生。由此筛选出砂生槐丛生芽诱导的最适细胞分裂素种类是 6-BA,其质量浓度为 2.0 mg/L。

表 3 不同细胞分裂素的种类与浓度对砂生槐丛生芽诱导的影响

Table 3. Effects of different kinds and concentrations of cytokinin on induction of adventitious buds of *Sophora moorcroftiana*

培养基 Basal substrate	丛生芽诱导率/% Induction rate	平均丛生芽数 Average number of buds per explant	丛生芽长势 Growth condition of adventitious buds
MS+6-BA1.0 mg/L+NAA0.2 mg/L	69 ^{Bc}	2.0 ^{Ec}	++++
MS+6-BA2.0 mg/L+NAA0.2 mg/L	75 ^{Aa}	7.0 ^{Aa}	++++
MS+6-BA3.0 mg/L+NAA0.2 mg/L	73 ^{Ab}	5.2 ^{Bb}	++
MS+KT1.0 mg/L+NAA0.2 mg/L	21 ^{De}	1.4 ^{Fg}	++
MS+KT2.0 mg/L+NAA0.2 mg/L	27 ^{Cd}	4.1 ^{Cc}	++
MS+KT3.0 mg/L+NAA0.2 mg/L	26 ^{Cd}	3.3 ^{Dd}	+
MS+ZT1.0 mg/L+NAA0.2 mg/L	9 ^{Ef}	1.8 ^{Ef}	+
MS+ZT2.0 mg/L+NAA0.2 mg/L	4 ^{Fg}	1.3 ^{Fg}	+
MS+ZT3.0 mg/L+NAA0.2 mg/L	4 ^{Fg}	1.0 ^{Gh}	+

2.4 pH 对砂生槐丛生芽诱导的影响

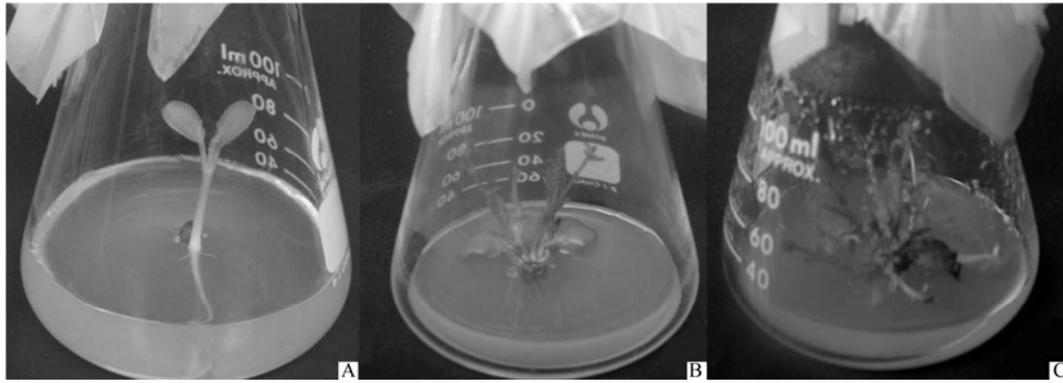
pH 因直接影响植物对离子的吸收,因此对砂生槐组培苗的生长有显著影响。由表 4 可知,pH 值在 6.0 和 6.5 两水平上对丛生芽诱导的影响差异不显著,只是在 pH 低至为 5.5 时或高到 7.0 时,才表现出较为明显的差异。pH 为 7.0 时,砂生槐子叶节丛生芽诱导率最低,形成平均丛生芽数最少,丛生芽生长减缓,

叶片出现黄化或颜色呈褐色,丛生芽长势最差。这有可能是 pH 值过高,导致培养基硬度过大,进而影响到试管苗对营养物质及生长调节剂的吸收。pH 为 5.5 时,丛生芽诱导率和平均丛生芽数均较低,试管苗玻璃化比例升高,丛生芽长势较差,这可能与西藏砂生槐的生长土壤环境 pH 偏中性有关。因此,砂生槐丛生芽诱导培养基的适宜 pH 为 6.0~6.5。

表 4 pH 对砂生槐丛生芽诱导的影响

Table 4. Effect of pH on induction of adventitious buds of *Sophora moorcroftiana*

pH	丛生芽诱导率/% Induction rate	平均丛生芽数 Average number of buds per explant	丛生芽长势 Growth condition of adventitious buds
5.5	34 ^{Bb}	3.5 ^{Bb}	++
6.0	75 ^{Aa}	7.0 ^{Aa}	++++
6.5	74 ^{Aa}	7.1 ^{Aa}	++++
7.0	19 ^{Cc}	2.8 ^{Cc}	+



A. 20 d 苗龄的砂生槐无菌实生苗 Seedlings germinated in vitro for 20 days; B,C. 丛生芽在最佳培养基中的诱导 Bud inducing in the optimal initial media.

图 1 从砂生槐实生苗子叶节诱导出丛生芽

Fig.1. Induction of multiple shoots from seedling explants of *Sophora moorcroftiana*

3 结 论

本试验以西藏砂生槐无菌实生苗为材料,研究了不同外植体、基本培养基、细胞分裂素种类及浓度、pH 对其丛生芽诱导效果的影响。结果表明:以子叶节作为外植体,接种于 pH 为 6.0~6.5 的 MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L 培养基上,丛生芽诱导率达到 75%,形成平均丛生芽数多达 7 个,丛生芽长势最好。

参考文献:

- [1] 吴征镒.西藏植物志(第二卷)[M].北京:科学出版社,1983:716-717.
- [2] 张胜,赵垦田,向瑞.西藏砂生槐研究综述[J].内蒙古林业科技,2009,35(1):57-59.
- [3] 张经炜.西藏中部植被[M].北京:科学出版社,1966:26-27.
- [4] 沈渭寿.西藏雅鲁藏布江中游河谷沙地植被区系特征[J].植物分类学报,1996,34(3):276-281.
- [5] 赵文智.砂生槐沙生适应性初步研究[J].植物生态学报,1998,22(4):379-384.
- [6] 陈怀顺,刘志民.砂生槐种群特点及其在河谷植被中的作用[J].资源生态环境网络研究动态,1997,8(3):18-22.
- [7] 彭跃明.西藏雅鲁藏布江中部流域砂生槐固沙作用研究[J].林业科技,1997,22(6):6-8.
- [8] 赵文智,刘志民.西藏特有灌木砂生槐繁殖生长对海拔和沙埋的响应[J].生态学报,2002,22(1):134-138.
- [9] 马兴铭,李红玉,尹少甫,等.藏药砂生槐子生物碱抗炎抑菌活性的研究[J].中药研究,2004,32(5):23-27.
- [10] 林少敏.西藏砂生槐种子萌发特性研究[J].草业科学,2002,19(5):30-32.
- [11] 陈正华.木本植物组织培养及其应用[M].北京:高等教育出版社,1986:456-465.