

毛白杨无性系组培芽分化效应 与离体选种的研究*

袁巧平 董茂山 黄钦才 刘 颂 顾万春

(中国林业科学研究院林业研究所)

关键词 毛白杨; 组织培养; 离体选种

毛白杨(*Populus tomentosa*)是我国华北地区的重要用材和绿化树种^[1]。从70年代开始,采用常规方法经无性系大田多点对比试验,已选出一些优良无性系^[2],并进行了组培繁殖^[3]。离体培养条件下毛白杨不同无性系的器官分化能力存在着明显差异。本文采用8个毛白杨无性系为材料,在分析离体组织的生长分化特性与植株大田生长特性的关系的基础上,探索毛白杨生长性状的试管微型选择的可能性,并找出各无性系的最佳分化培养基,提高组培繁殖效率。

一、材料与方 法

1. 试验材料 5个优良无性系(39、38、90、001、50号)和3个对照无性系(302、60、43号)取自河北省漳河林场118个毛白杨无性系参试的8年生对比林。早春采1年生休眠条,经室内水培,取萌生幼嫩腋芽为组培材料。

2. 组织培养 将试材进行表面消毒后,切取约0.5 cm长并具相同粗细的小茎段为外植体,接种在芽分化诱导培养基上。采用MS^[4]、1/2MS、1/4MS基本培养基,附加几种生长调节剂,以因素交叉分组设计方法配成21种培养基(表1)。每一种培养基上接种各无性系外植体

表1 各种培养基组分

编 号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
基本培养基 ^①	MS					1/2MS					1/4MS										
细胞分裂素种类 ^②	BA		ZEA			BA、ZEA		BA			ZEA		BA、ZEA		BA		ZEA		BA、ZEA		
浓度(mg/L)	0.1	0.3	0.5	0.3	0.5	0.7	各0.15	0.1	0.3	0.5	0.3	0.5	0.7	各0.15	0.1	0.3	0.5	0.3	0.5	0.7	各0.15

① 各种培养基均加NAA 0.02 mg/L、蔗糖3%、琼脂0.55%, pH值调至6.0。

② BA为6-苄基腺嘌呤; ZEA为玉米素; NAA为萘乙酸。

本文于1989年7月30日收到。

* 承蒙本院分析中心王文芝等同志测定氨基酸、内源激素含量,林静芳先生审阅文稿,在此一并致谢。

5~6块。培养温度为 27 ± 2 °C, 每日光照14 h (光照强度为2 000~3 000 lx)。培养30天后用肉眼统计各无性系在每一种培养基上的不定芽(大于0.2 cm长)数目及不定芽分化率(即分化出不定芽的外植体数和所接种外植体总数的比率), 并记录不定芽的质量。在进行组培芽诱导的同时, 采取相同发育状况的幼嫩腋芽, 以HSLC方法进行内源生长激素、氨基酸、黄酮类物质含量的测定。

3. 分析方法 通过无性系相对效应值 $\hat{\delta}_i'$ 和环境相对效应值 $\hat{\rho}_j'$ 来评价无性系和环境, 计算公式: $\hat{\delta}_i' = (\bar{x}_{i.} - \bar{x}_{..})/\bar{x}_{..}$;

$$\hat{\rho}_j' = (\bar{x}_{.j} - \bar{x}_{..})/\bar{x}_{..}$$

式中 $\bar{x}_{i.}$ 和 $\bar{x}_{.j}$ 分别为第*i*个无性系和第*j*地点的平均值; $\bar{x}_{..}$ 为总平均值。

二、结果与讨论

(一) 无性系不定芽分化效应值与植株田间生长性状的相关

在21种培养基上的不定芽诱导试验表明, 试验的8个无性系在不定芽分化率和单位外植体上的平均芽数都存在极显著的差异($\alpha = 0.01$)。从表2可以看出39、38、90这3个优良无性系具有很高的不定芽分化能力, 而对照60和43两个无性系却很低。这与它们在田间的生长表现相一致^[2]。相关分析表明无性系不定芽分化的效应值和无性系的田间生长性状效应值具有极显著的正相关($\alpha = 0.01$)(表3)。这种相关性初步表明了组培条件下的生长分化能力作

表2 无性系生长及不定芽分化状况

无性系号	39	38	90	001	50	302	60	43
树高 $\hat{\delta}_i'$ 值 ^①	0.230	0.181	0.201	0.065	0.152	-0.025	-0.018	-0.005
平均分化率(%)	54.1	64.5	50.4	17.5	20.0	18.0	5.2	5.5
平均芽数(个)	2.06	1.64	1.61	0.28	0.40	0.43	0.10	0.09
平均分化率 $\hat{\delta}_i'$ 值	0.85	1.20	0.72	-0.40	-0.32	-0.39	-0.82	-0.81
平均芽数 $\hat{\delta}_i'$ 值	1.49	0.98	0.94	-0.66	-0.52	-0.48	-0.88	-0.89

①引自顾万春等(1988)“毛白杨优良无性系品种鉴定会资料”。

表3 无性系的不定芽分化能力效应值与田间性状及内源物质含量的相关系数

(内源物质含量单位: mg/3g鲜重)

分化能力	8年生 树高 效应 值 $\hat{\delta}_i'$	1年生 苗高 (m)	扦插 成活 率 (%)	插条 生根 数 (条)	15种 氨基 酸总 含量	15种氨基酸中						杨酶 酮 含量	赤霉 素 含量	吡啶 乙酸 含量	
						甘 氨酸	谷 氨酸	精 氨酸	组 氨酸	苯 丙 氨酸	苏 氨酸				赖 氨酸
不定芽分化率 $\hat{\delta}_i'$ 值	0.86**	-0.87*	-0.48	-0.63	0.39	0.53	0.45	-0.37	-0.21	0.21	0.66	0.62	0.06	-0.12	0.76*
不定芽平均数 $\hat{\delta}_i'$ 值	0.86**	-0.92**	-0.45	-0.67	0.56	0.71*	0.62	-0.24	-0.02	0.31	0.71*	0.76*	-0.11	-0.25	0.72*

*表示在0.05水平上相关显著; **表示在0.01水平上相关显著。

为一种组织水平上的生理生态效应与植株水平上的生态适应能力及生长特性是一致的。树木生长实际上是树木体内分生细胞不断分裂的结果。遗传基础和母体相同的离体组织的细胞分裂、生长速率和分化特性, 必然会反映母体的生长特性。不定芽是来源于组织中原初分生

细胞团，当它启动并向不定芽方向发育时，其细胞分裂和生长的方式是与植株的顶端分生组织的细胞分裂和生长方式相似，而有别于非结构化的松散愈伤组织细胞的分裂。因此，不定芽的分化能力能够很好地反映品种的生长表现。根据这种特性，并通过多种微环境条件下的测试，就可以用离体组织进行无性系品种生长特性的试管微型选择。

表3还反映出毛白杨离体培养条件下不定芽分化能力与母体植株的许多其它性状具有相关性。例如，不定芽分化能力与无性系田间扦插成活率及插条生根数呈负相关。这表明不定芽与不定根的形成在内在生理机制上存在相互抑制作用。

虽然8年生树高与不定芽分化能力存在显著正相关，但1年生苗高与不定芽分化能力却存在显著负相关，可能是1年生扦插苗根系发育的差异所致，因为1年生苗高主要决定于早期根系发育优劣，往往不反映无性系的生长效应值，而扦插生根能力与不定芽分化能力刚好呈负相关。

通过相关分析还发现，不定芽分化能力与无性系的某些生理活性物质的含量具有相关性。例如：与15种氨基酸总含量呈正相关，其中与甘氨酸、苏氨酸、赖氨酸含量呈显著的正相关，但与精氨酸和组氨酸却呈负相关。在培养基中适当增加这些与分化能力具有正相关的物质，可以补充内源促分化物质的不足，从而提高分化效率。

(二) 培养基对不定芽分化的影响

在3种不同无机盐浓度的基本培养基中，不定芽分化率以MS最高，1/2MS次之，1/4MS最低，三者分别为44.0%、31.0%、20.8%(图1左)。MS培养基的适用范围也最大，可使8个无性系都分化出不定芽，而1/2MS和1/4MS培养基只能使其中7个分化。这表明在不定芽诱导阶段，较高浓度的无机盐有利于不定芽分化。

在3种不同组合的生长调节剂处理中，以玉米素(ZEA)对毛白杨不定芽的诱导效果最好，不定芽分化率达40.0%；6-BA与ZEA混合施用效果中等，不定芽分化率为34.6%；6-BA单独施用效果最差，不定芽分化率仅23.9%。玉米素可使8个无性系全分化出不定芽，而6-BA处理只能使其中6个产生不定芽。同一种细胞分裂素处理时，随着浓度的变化，不定芽诱导效果也有变化(图1右)。但玉米素和6-BA的浓度作用规律有明显差异。在0.1

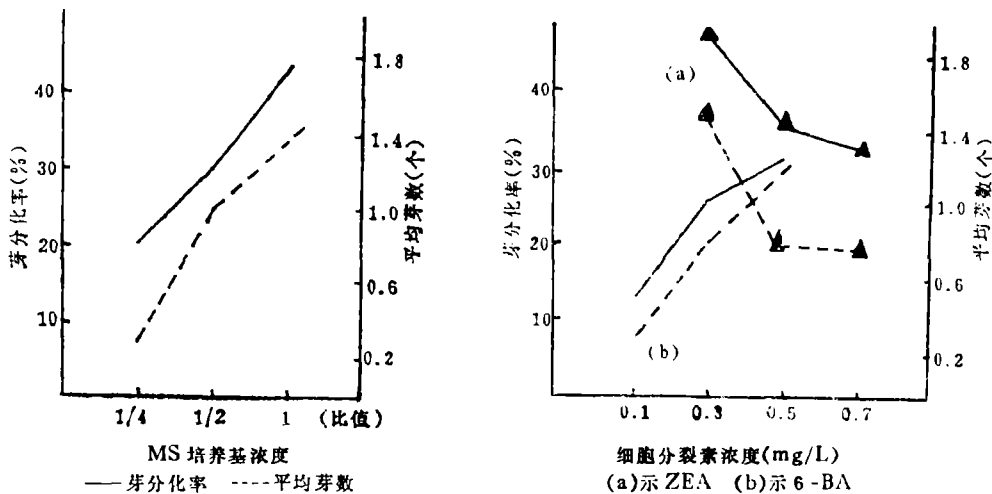


图1 培养基组成对不定芽分化的影响

~0.7 mg/L 范围内, 随着浓度的增加, 玉米素的不定芽诱导效果逐渐下降, 而 6-BA 的诱导效果逐渐增加。当玉米素浓度达到 0.7 mg/L 时, 还出现较大比率的玻璃化苗, 降低了芽苗的质量。

虽然 21 种培养基中生长素处理相同, 但不定芽分化能力与内源吲哚乙酸含量的显著正相关(表 3)表明: 在不定芽分化培养基中适当提高生长素含量, 可能有利于毛白杨不定芽的分化。

表 4 表明毛白杨不定芽分化的最佳培养基为 4、5、7、11 号培养基, 它们在不定芽分化率及单位外植体平均芽数两个指标上都超过总平均值约一倍以上。这 4 种培养基都加有玉米素; 除 11 号的基本培养基为 1/2 MS 外, 其它 3 种都是 MS。

表 4 21 种培养基上毛白杨不定芽分化状况

培 养 基	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
分化率平均数(%)	2.9	31.4	26.8	53.8	67.3	34.7	58.1	31.9	20.9	33.4	57.5
不定芽平均数(个)	0.06	0.98	1.13	1.79	1.76	1.17	1.70	0.91	0.69	1.56	1.85
分化率 \hat{P}_j' 值	-0.90	0.07	-0.09	0.83	1.30	0.18	0.98	0.09	-0.29	0.14	0.96
不定芽数 \hat{P}_j' 值	-0.93	0.18	0.36	1.16	1.12	0.41	1.05	0.09	-0.17	0.89	1.23
培 养 基	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	
分化率平均数(%)	12.5	28.8	20.4	5.0	10.0	10.0	32.5	32.9	22.3	14.9	
不定芽平均数(个)	0.13	0.60	0.90	0.10	0.10	0.31	0.46	0.54	0.31	0.36	
分化率 \hat{P}_j' 值	-0.57	-0.02	-0.30	-0.83	-0.67	-0.67	0.11	0.12	-0.24	-0.49	
不定芽数 \hat{P}_j' 值	-0.85	-0.28	0.09	-0.89	-0.89	-0.62	-0.44	-0.35	-0.62	-0.56	

芽苗在转入 1/2 MS + NAA 0.02 mg/L + 15% 蔗糖 + 0.58% 琼脂生根后, 经短期室内练苗可移栽到苗圃内, 成活率达 90%。毛白杨组培苗后期生长表现、组培苗生长与母体无性系生长的关系等问题, 尚待进一步观测研究。

三、结 论

1. 毛白杨不同无性系在不定芽分化能力上存在显著差异。不定芽分化能力和无性系的生长效应值呈极显著正相关($r = 0.86^{**}$), 这为实验室内利用离体培养下组织的生长分化特性, 进行无性系评价与选择提供了有意义的依据。

2. 毛白杨的不定芽分化能力和外植体材料所含生长素及某些氨基酸浓度呈显著正相关($r = 0.70 \sim 0.76$)。适当增加外源生长素及氨基酸可能促进不定芽分化。

3. 不定芽分化能力与扦插生根能力呈负相关($r = -0.45 \sim -0.67$)。这表明不定芽与不定根的形成具有相互抑制性。

4. 较高浓度的无机盐培养基有利于毛白杨不定芽诱导。玉米素的诱导效果好于 6-BA。玉米素以较低浓度(0.3 mg/L)为好; 而 6-BA 在施用时可适当提高些浓度(至 0.5 mg/L)。

参 考 文 献

- [1] 徐锦英主编, 1988, 杨树, 黑龙江人民出版社, 32~33。
- [2] 顾万春等, 1990, 毛白杨优良无性系生产力、遗传稳定性和适应性评价, 林业科学研究, 3(3):222~228。
- [3] 林静芳等, 1980, 白杨派树种的组织培养, 林业科学, 16(增刊):58~64。
- [4] Murashige, T. et al., 1962, A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture, *Physiol. Plant*, 15, 473~497.

RESPONSE OF ADVENTITIOUS BUDS FORMATION AND CLONE SELECTION IN VITRO FOR *POPULUS TOMENTOSA*

Yuan Qiaoping Dong Maoshan Huang Qincai Liu Song Gu Wanchun

(The Research Institute of Forestry CAF)

Abstract Adventitious buds formation was tested in 21 media with shoot segments of 8 clones of *Populus tomentosa*. Considerable variation was found in the response of adventitious buds formation among clones. Regression analysis showed a highly significant correlation existed between clonal response of adventitious buds formation and clonal growth response ($r=0.86^{**}$, $\alpha=0.01$). This suggests clone selection in vitro for growth is possible. Clonal response of adventitious buds formation was also significantly correlated with the contents of some endogenous hormones and amino acids ($r=0.70\sim 0.76^*$, $\alpha=0.02$). While negative correlation occurred between clonal response of adventitious buds formation and clonal rooting ability of cuttings in fields. Composition of medium strongly affected the behavior of cultures.

Key words *Populus tomentosa*; tissue culture; in vitro selection