

文章编号: 1001-9499 (2006) 06-0001-03

盐桦芽器官离体培养与快繁技术的研究

江晓珩¹ 李 刚² 阿里木¹ 布早拉木¹

(1. 新疆林科院, 乌鲁木齐 830000; 2. 克拉玛依准噶尔生态公司, 新疆 克拉玛依 834000)

摘要: 研究了以盐桦的带芽茎段为外植体诱导丛生芽及植株再生的过程, 并筛选出其最佳分化增殖培养基为 MS + 6-BA 0.5 mg·L⁻¹ + NAA 0.02 mg·L⁻¹ + 蔗糖 3.0% + 琼脂 0.6%。经过 4~6 周的培养, 其增殖系数为 5.8; 最佳生根培养基为 1/2MS + IBA 0.3 mg·L⁻¹ + 蔗糖 0.15% + 琼脂 0.6%, 生根率为 100%, 平均根数 5.7 条。

关键词: 盐桦; 芽器官; 试管育苗; 快繁技术

中图分类号: S792.159, S723.1+32

文献标识码: A

盐桦 (*Betula halophila*) 系桦木科植物, 仅产于新疆阿勒泰县境内克朗河下游巴里巴盖。原分布在海拔 1 500 m 处的潮湿盐碱滩上, 分布范围狭小, 属国家 1 级保护物种, 可以订性描述为珍贵濒危植物。盐桦系落叶小乔木或直立大灌木, 高 3~4 m, 属于中性树种, 喜光、喜土壤潮湿、耐盐碱、耐寒、耐大气干旱, 是西北干旱、半干旱地区盐碱地造林的好树种, 同时也是生物工程上提取耐盐碱基因的好材料。该树一般用种子繁殖, 为湿地的指示灌木, 但由于种源稀少, 扦插成活率低, 不能大量育苗。因此, 运用组培技术进行快繁育苗, 对于保护和扩繁盐桦这一濒危物种具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 材料

将盐桦从其原产地移植到新疆林科院采穗圃, 待根系恢复, 枝条充分发育后, 选取长势旺盛的半木质化枝条, 去掉叶片, 留少许叶柄, 剪成 5~10 cm 节段作为外植体。

1.2 实验方法

基本培养基 实验采用 MS 培养基, 其中附加不同的细胞分裂素 (6-BA) 和生长素 (NAA、IBA), 所有培养基中激素单位均为 mg/L, pH 值 5.8~6.0, 琼脂 0.6%。

外植体处理 将外植体用自来水冲洗 2~3 h, 然后在超净工作台上剪成 1.5~2.0 cm 的带芽茎

段, 采用 2 次灭菌法, 即先用 70% 的酒精灭菌 30~40 s, 再用 0.1% 升汞溶液消毒 8 min, 然后用无菌水冲洗 5 次, 接种于诱导培养基上。

培养条件 培养室温度为 22±2℃, 以日光灯为主光源, 光照时间 14 h/d, 光照强度为 2 500~3 000 lx。

最佳诱导和生根培养基的筛选 通过添加不同的生长调节物质 (6-BA、NAA 和 IBA), 比较其各个阶段芽萌发、增殖系数、生根率等数据, 筛选出它们的最佳组合。

2 结果与分析

2.1 丛生芽诱导

2.1.1 芽器官的诱导

这一阶段主要是诱导芽, 在外植体初代培养 8~10 天后, 部分外植体芽开始膨大, 14 天左右相继出现新芽; 培养 24 天后新芽可长至 2.0~3.8 cm, 生长情况见表 1。

表 1 芽萌发诱导情况

处理	培养基 (mg/L)	接种 (个)	萌发 (个)	生长量 (cm)	萌发率 (%)
I	无激素 MS	20	18	2.1	90
II	MS+6-BA0.5+NAA0.02	20	19	3.5	95
III	MS+6-BA1.0+NAA0.05	20	17	2.5	85
IV	1/2MS+6-BA0.3+NAA0.02	20	19	2.7	95

从表 1 可以看出, I、II、IV 这三个处理均有较高的出芽率, 其中以处理 II 即 6-BA 0.5 和 NAA 0.02 中芽萌发情况最好, 芽粗壮, 叶大且舒

展, 平均伸长 3.5 cm; 处理 I 不添加生长调节物质, 长势较整齐, 但芽萌发较慢, 新芽叶片小且卷缩, 平均伸长 1.5 cm; 处理 III 芽萌发情况不好, 玻璃化情况严重。处理 IV 芽萌发情况亦可, 平均伸长 2.7 cm, 但叶片小, 不舒展, 长势较弱。因此, I、IV 虽有较高的出芽率, 但新芽长势不好, 不适宜作为继代材料使用。处理 II 既有较高的出芽率且新芽长势又好, 是较适宜的初代培养基。

2.1.2 芽分化诱导培养

芽分化增殖过程是盐桦离体快繁培养过程中一个非常重要的环节。获得无菌培养材料后是否能顺利地进入快繁培养循环, 分化诱导过程是关键。对于离体快繁最终是否能应用于生产实践, 受两个关键因素制约: (1) 芽的增殖率, 芽的增殖速度是离体快繁中的关键环节^[5], 直接关系到实验的成败; (2) 有效芽所占比例, 指可作为继代材料或生根材料的芽占全部芽的百分率。此时芽的质量决定了芽的利用率的高低, 所以选择一个增殖率高且有效芽多的增殖培养基是离体快繁的关键。

表 2 不同浓度 6-BA、NAA、IBA
对盐桦增殖系数的影响

6-BA	NAA (mg/L)					IBA (mg/L)				
	0.01	0.02	0.03	0.04	0.05	0.01	0.02	0.03	0.04	0.05
0.1	3.8	4.1	4.0	3.4	3.6	3.3	2.9	3.1	3.2	2.7
0.2	4.7	4.9	5.3	4.3	4.5	4.5	4.8	4.6	5.0	3.9
0.3	5.3	5.8	5.8	5.4	5.7	4.5	4.3	4.6	4.6	4.5
0.4	6.8	6.5	7.0	7.2	6.9	5.3	6.4	6.9	6.9	6.3
0.5	7.2	7.5	7.1	6.9	7.2	6.5	6.9	6.7	6.5	7.0

将第一阶段培养成功的芽切下, 接种于分化培养基上, 分化培养基以 MS 为基本培养基, 6-BA、NAA、IBA 分别设 5 个浓度梯度, 共 50 个处理, 培养 25 天。对生长情况 (表 2) 分析可知, 芽增殖用 6-BA 和 NAA 组合效果比用 6-BA 和 IBA 好; 当 6-BA0.5、NAA0.02 时, 芽增殖倍数为 7.5, 但芽苗明显细弱, 节间过长, 这一现象在增殖系数达到 6.5 以上时表现明显, 所以确定选取增殖倍数在 5~6 的分化培养基。由表 2 可知, 既符合增殖效果又符合得到健壮有效苗双重标准的处理为 6-BA0.2~0.3, NAA0.02~0.03, 最终确定盐桦最佳丛生芽诱导培养基中激素量为 6-BA0.3, NAA0.02。

2.2 生根培养

从继代材料中选取丛生芽 3.0 cm 左右的有效苗, 切成 1.0~1.5 cm 的苗段, 转入以 1/2MS + 0.15% 蔗糖 + 0.6% 琼脂为基本培养基, 在附加不同浓度 IBA 情况下进行生根实验。这里需注意的是一定要去除基部的叶片, 因为基部的叶片一经接触培养基就会逐渐变硬、拱起和卷缩, 且极易发根, 从而影响植株的正常生根和生长。

表 3 不同浓度 IBA 对盐桦生根的影响

IBA (mg/L)	调查株 数 (株)	始生根 (d)	生根株 数 (条)	生根 总数 (条)	生根率 (%)
0.1	20	12	15	64	75
0.2	20	10	17	67	85
0.3	20	7	20	114	100
0.4	20	7	20	102	100
0.5	20	8	18	82	90

由表 3 分析可知, 经过 30 天的生根培养, 不同浓度 IBA 对盐桦生根率、生根数均有不同程度的影响, 其中以 IBA0.3 时生根情况最好: 生根率高, 发根早, 有 4~5 条侧生根。当 IBA0.5 时发现, 有些根生长在植株基部愈伤组织上, 根粗壮, 侧根多, 但从苗瓶中取出移栽时根容易脱落, 成活率不高。实验还表明, 盐桦生根快慢与生根质量不仅受培养基的影响, 而且与生根材料的健壮程度与木质化程度有密切关系。粗壮、半木质化的材料生根快, 主根与侧生根发育好。

2.3 炼苗与移栽

生根培养 4 周后, 当瓶苗长到 5 cm 左右时, 将生根的瓶苗移入自然光下光培炼苗 7 天后揭膜, 为减少取苗时对苗根的伤害, 可适当在苗瓶中加入一些自来水浸泡半天, 然后用自来水冲去附着在根部的琼脂, 移栽到用蒸汽消毒过的细煤渣或细沙上, 成活率可达 92% 以上。在炼苗床上培养 15~20 天后移入大田或容器中。

3 结 论

3.1 MS+6-BA0.5+NAA0.02+蔗糖 3.0%+琼脂 0.6% 是盐桦较为理想的诱导芽萌发的培养基, 芽增殖培养基为 MS+6-BA0.3+NAA0.02+蔗糖 3%+琼脂 0.6%, 继代培养 4~5 周增殖系数可达 5.8, 且生长健壮。

3.2 在 1/2MS+IBA0.3+蔗糖 0.15%+琼脂

0.6%的培养基上,盐桦生根效果较好,生根率达100%,平均根数为5.7条。

3.3 在盐桦移栽炼苗的过程中要严格控制空气相对湿度,实验过程中发现盐桦瓶苗极易失水皱缩,炼苗前10天空气相对湿度都应保持在80%以上,最好是通过扣玻璃杯或塑料薄膜来保持湿度。

参 考 文 献

- [1] 陶玲等.中国珍稀濒危荒漠植物保护等级定量研究[J].林业科学,2001,1(37):52~57

- [2] 李沛琼.植物分类学报[M].北京:科学出版社,1979
[3] 侯文虎.中国植物红皮书[M].北京:科学出版社,1992
[4] 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
[5] 沈惠娟.木本植物组织培养技术[M].北京:中国农业科技出版社,1992

第1作者简介:江晓珩(1980-),女,助理工程师,毕业于新疆林业科学研究院,主要从事植物生理、生态方面的研究。

收稿日期:2006-03-06

Research of *Betula halophila* Organism's Excised Culture and Quick Reproduce Technology

JIANG Xiaoheng

(Xinjiang Academy of Forestry Sciences, Wulumuqi 830000)

Abstract In this article *Betula halophila*'s stem with buds part for explants lead to bunch buds and plant regeneration process were researched, and among them the best increment culture medium that it was MS + 6-BA 0.5mg/L + NAA 0.02mg/L + sugar 3.0% + agar 0.6% were selected out, through culture 4~6 weeks, the best increment multiple was 5.8, the best rooting culture medium was 1/2 MS + IBA 0.3mg/L + sugar 0.15% + agar 0.6%, the rooting rate was 100%, and the single stem's roots were 5.7.

Key words *Betula halophila*; Organism; Test tube seedlings; Quick reproduce technology

(上接第4页)

根长度为1~2 cm、有2~3条主根且苗木已木质化时,为移栽炼苗的最佳时期,炼苗成活率可达80%。

3 组培苗管理

日常管理时,除特别稀少的无性系,发现杂菌感染或畸形、生长不良的苗木应及时剔除,以保证苗木的品质。在无菌条件下生长不良的苗木,在田间也不会有上乘的表现。大量扩繁时,应选择生长健壮的苗木,以达到保质保量的目的。

尽管培养室设置了必需的照明设备,但每层格架受日光照射的程度也不同,接受一定的日光照射有利于苗木的木质化,但长时间被强日光照射又会抑制苗木生长。因此,要定期调整组培苗

在培养架上的位置,使苗木正常生长。

4 结 语

冬季采回的休眠枝条,用水培后萌发的新芽作外植体进行诱导。继代培养用 WPM + 6BA (0.3~0.5 mg/L) + NAA (0.05~0.1 mg/L) + 蔗糖 20 g/L + 琼脂 8 g/L,生根培养用 WPM + IBA 0.5 mg/L + 6BA (0.01~0.05 mg/L) 或 WPM + NAA 0.5 mg/L + 6BA (0.01~0.05 mg/L) 效果理想。继代培养以优胜劣汰为原则,日常管理注意位置效应,定时接受及避开日照。

第1作者简介:陆斐(1971-),女,1995年毕业于吉林林学院,现为吉林省吉林市林业科学研究院工程师,主要从事林木遗传育种工作,发表论文10余篇。

收稿日期:2006-02-20