

裂叶垂枝桦组织培养与植株再生

张丽杰¹, 和敬渊², 孙昕淼¹, 宋佳兴¹, 孙晓梅¹, 朱明¹

(1. 沈阳农业大学林学院, 辽宁 沈阳 110866; 2 北京林业大学林学院, 北京 100083)

摘要: [目的] 建立裂叶垂枝桦组织培养离体繁殖再生体系。 [方法] 以裂叶垂枝桦带腋芽或顶芽的茎段为试材, 经过外植体消毒、初代培养、继代培养、增殖培养、生根培养, 最后获得再生植株, 并对裂叶垂枝桦组培快繁影响因素进行分析。 [结果] 表明: 裂叶垂枝桦幼嫩茎段离体培养最适培养基和激素组合为: MS + 0.5 mg · L⁻¹ 6-BA + 0.05 mg · L⁻¹ NAA + 0.2 mg · L⁻¹ GA₃ + 20 g · L⁻¹ 蔗糖 + 6 g · L⁻¹ 琼脂; 最适生根培养基为: 1/2MS + 0.1 mg · L⁻¹ NAA + 20 g · L⁻¹ 蔗糖 + 6 g · L⁻¹ 琼脂。将生根的无菌苗移植至草炭土和细沙比例 3:1 的已灭菌的基质中, 15 d 后, 组培苗生长健壮, 成活率达到 80% 以上。 [结论] 采用组织培养技术对裂叶垂枝桦进行离体快繁, 建立了离体快繁再生体系, 为裂叶垂枝桦良种选育奠定了研究基础。

关键词: 裂叶垂枝桦; 组织培养; 植株再生

中图分类号: S723

文献标识码: A

文章编号: 1001-1498(2018)04-0135-07

Tissue Culture and Plantlet Regeneration of *Betula pendula* Roth 'Dalecarlica'

ZHANG Li-jie¹, HE Jing-yuan², SUN Xin-miao¹, SONG Jia-xing¹, SUN Xiao-mei¹, ZHU Ming¹

(1. College Forestry, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866, Liaoning, China;

2. College Forestry, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China)

Abstract: [Objective] To establish the tissue culture of *in vitro* propagation regeneration system of *Betula pendula* Roth 'Dalecarlica'. [Method] Young stems of *Betula pendula* Roth. 'Dalecarlica' with axillary and apical bud were used as experimental materials to obtain regenerated plants by explants disinfection, original culture, successive transfer culture, multiplication culture and rooting culture. The factors influencing the rapid growth of the tissue culture were also analyzed. [Result] The results shows that: the young stem segments *in vitro* culture for optimum medium and hormone combination was MS + 1.0 mg · L⁻¹ 6-BA + 0.1 mg · L⁻¹ NAA + 0.2 mg · L⁻¹ GA₃ + 20 g · L⁻¹ Sucrose + 6 g · L⁻¹ Agar. The optimum rooting medium was 1/2MS + 0.1 mg · L⁻¹ NAA + 20 g · L⁻¹ Sucrose + 6 g · L⁻¹ Agar. The rooted seedlings were transplanted to the sterilized matrixes with peat soil and sand in the ratio of 3:1. The tissue-cultured seedlings grew strongly and the survival rate was over 80% after 15 days. [Conclusion] Using tissue culture technique to rapid propagation *in vitro* for *Betula pendula* Roth 'Dalecarlica', a rapid propagation *in vitro* regeneration system was established. It could lay a research foundation for *Betula pendula* Roth 'Dalecarlica' elite breeding.

Keyword: *Betula pendula* Roth 'Dalecarlica'; tissue culture; plantlet regeneration

裂叶垂枝桦(*Betula pendula* Roth 'Dalecarlica')是桦木科桦木属乔木树种欧洲垂枝桦的一个变异种。20世纪80年代初,辽宁省实验林场从德国引种至辽宁东部山区进行栽植,经过多年试验观察,其主要生长性状指标均很稳定^[1],裂叶垂枝桦具有较强的遗传稳定性和一致性。

2015年已通过辽宁省林木良种审定委员会审定,确定裂叶垂枝桦为良种。由于其白色树皮,优雅的垂枝,成为园林绿化优选树种^[2],同时也是良好的造林树种^[1]、防风固沙树种^[3]、农田防护林树种^[4]、水土保持树种^[5]以及经济用材树种,因此,市场需求量很大^[6];但因其种子成熟度很差,采种困难,种子发芽率低,育苗有一定的难度,限制了该树种的大面积推广^[7]。为了解决上述问题,满足园林、绿化、造林生产用苗需求,利用组织培养技术实现离体快繁,来达到获得大量苗木的目的。因此,本研究通过选取裂叶垂枝桦幼嫩茎段进行离体培养,建立裂叶垂枝桦组培快繁再生技术体系。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

于2016年3月中旬在沈阳农业大学林学院科研基地大棚内选取当年的裂叶垂枝桦带顶芽或腋芽的幼嫩茎段和木质化茎段作为试验材料。

1.2 试验方法

1.2.1 外植体消毒 幼嫩茎段:将剪成1~2 cm至少带1个芽的茎段置于烧杯中,洗去茎段表面附着的灰尘,然后用流水冲洗1~2 h。置于超净工作台在无菌操作下,用75%酒精消毒30 s,再用0.1% HgCl₂二次消毒时间分别为:2、3、4 min,最后用无菌水冲洗5~7次,用解剖刀或剪刀切去茎段两端少许,接种备用。

木质化茎段:在室温20℃条件下水培5~7 d后,用毛刷清洗整个枝条,流水下冲洗1~2 h,然后将其剪成1~2 cm带1个芽的茎段置于烧杯中,加入少量洗衣粉充分振荡,用流水冲洗1~2 h。在无菌操作下,用75%酒精消毒30 s(轻轻振荡),再加1~2滴20%吐温,再用0.1% HgCl₂消毒,消毒时间分别设为:6、8、10 min,无菌水冲洗5~8次,置于灭过菌的滤纸上备用。

1.2.2 初代培养

1.2.2.1 不同激素组合的筛选 试验采用双因子全试验方法,以MS为基本培养基,分别添加不同浓

度的6-BA(0.2、0.5、1.0 mg·L⁻¹),NAA(0.05、0.2、0.5 mg·L⁻¹)和0.2 mg·L⁻¹GA₃,共9个处理,每个处理接种10瓶,每瓶2个外植体,重复3次。30 d后观察裂叶垂枝桦嫩茎的萌发情况,并对数据进行分析。

1.2.2.2 培养基类型的筛选 采用1/2MS、MS、WPM三种培养基作为初代培养基,分别加入0.5 mg·L⁻¹6-BA、0.05 mg·L⁻¹NAA、0.2 mg·L⁻¹GA₃、20 g·L⁻¹蔗糖和6 g·L⁻¹琼脂,pH值为5.8。共3个处理,每个处理接种10瓶,每瓶2个外植体,重复3次。培养室温度(25±2)℃,光强1 000~2 000 Lx,每天12/12 h光照培养,湿度60%~70%。30 d后观察裂叶垂枝桦外植体诱导及萌发情况。

1.2.2.3 GA₃浓度的筛选 在MS培养基中附加6-BA 1.0 mg·L⁻¹、NAA 0.1 mg·L⁻¹、GA₃(0.1、0.2、0.5、1.0 mg·L⁻¹),共3个处理,每个处理接种10瓶,每瓶2个外植体,重复3次。30 d后观察裂叶垂枝桦茎段的萌发情况。

1.2.3 增殖培养 裂叶垂枝桦茎段萌发生长高度达到3~5 cm时,剪切成长约1.5~2 cm,转接到增殖培养基中,20 d后观察芽的增殖情况。

1.2.4 生根培养 待增殖的芽长到3~5 cm高时,进行生根培养。生根培养基采用无机盐成分降低的1/2MS培养基,分别添加质量浓度为NAA(0.05、0.1、0.5 mg·L⁻¹)和IBA(0.05、0.1、0.5 mg·L⁻¹)的生长素,蔗糖20 g·L⁻¹,琼脂6 g·L⁻¹,pH5.8,2周后开始注意观察裂叶垂枝桦无菌苗生根情况,记录生根条数。

1.2.5 移植与驯化 将生根状态理想的组培苗放置在自然光照下,逐渐打开瓶口适应外界环境1~2 d,用流水冲洗净组培苗根部的培养基,将无菌苗移植至装有草炭土和细沙比例3:1的已灭菌基质的营养杯中,使根系充分伸展,压实土壤,喷水后用保鲜膜将苗覆盖,用镊子尖在保鲜膜上戳几个小孔,以便植物呼吸和保持土壤湿度,之后每天喷水1~2次,5~7 d后撤去保鲜膜进行常规管理。移植后注意后期水分、光照、营养等条件的管理。15 d后观察成活情况。

1.2.6 数据统计 实验数据采用Excel及SPSS软件进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 消毒时间对裂叶垂枝桦茎段诱导的影响

从表1中可看出:幼嫩茎段用0.1% HgCl₂消毒

处理 3 min 时污染率最低为 8.3% (图 1A), 而成活率和消毒 2 min 时均较高, 为 75% 左右, 但消毒 2 min 污染率相对提高, 消毒 4 min 时幼嫩茎段褐化率大幅度提高; 说明消毒时间过长消毒液渗透进入茎两端会产生毒害作用。木质化茎段由于外植体表面菌群数量较多, 0.1% HgCl_2 消毒时间长短不易掌握, 导致外植体污染率极高, 虽然用 0.1% HgCl_2 消毒 10 min, 但污染率仍可达 40% (图 1B), 因此, 在对木本植物进行离体快繁时选择外植体非常重要, 尽量选择幼嫩的茎段进行离体快繁。本试验得出: 裂叶垂枝桦幼嫩茎段的最佳消毒时间为 2~3 min, 木质化茎段由于污染率较高, 在后续试验中全部采用幼嫩茎段进行离体快繁。

表 1 不同消毒时间对裂叶垂枝桦不同茎段诱导的影响

Table 1 Effect of various surface sterilization time on different stem of *Betula pendula* Roth. 'Dalecarlica'

外植体种类 Kinds of explant	灭菌时间 Sterilizing time/min	接种个数 Number of vaccination	污染率 Contamination rate/%	褐化率 Browning rate/%	成活率 Survival rate/%
幼嫩茎段	2	60	17.5	6.7	75.8
	3	60	8.3	16.7	75.0
	4	60	10.0	30.0	60.0
木质化茎段	6	60	83.3	3.3	13.4
	8	60	60.0	10.0	30.0
	10	60	40.0	13.3	46.7

2.2 初代培养

2.2.1 不同激素种类和浓度对裂叶垂枝桦茎段萌发生长的影响 从表 2 可以看出: 处理 4 幼嫩茎段的分化效果显著, 萌芽率最高为 73.3%, 激素浓度组合为 6-BA 为 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + GA_3 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 诱导分化效果最好, 苗生长健壮, 叶色鲜绿 (图 2A)。在研究过程中发现, 当细胞分裂

表 2 不同激素组合对裂叶垂枝桦幼嫩茎段萌发生长的影响

Table 2 The effect of young stem germinated growth in different hormones combination of the *Betula pendula* Roth. 'Dalecarlica'

处理编号 Number	6-BA/($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	NAA/($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	GA_3 /($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	萌发率 Germination rate/%	生长情况 Growth situation
1	0.2	0.05	0.2	53.3bc	叶色浓绿, 但苗较矮
2	0.2	0.20	0.2	46.7bcd	长势一般, 较弱小
3	0.2	0.50	0.2	23.3f	基部愈伤较大
4	0.5	0.05	0.2	73.3a	苗健壮, 叶色鲜绿
5	0.5	0.20	0.2	40.0de	茎上有愈伤, 叶较小
6	0.5	0.50	0.2	30.0ef	基部有愈伤, 长势慢
7	1.0	0.05	0.2	56.6b	叶片肥大, 生长旺盛
8	1.0	0.20	0.2	43.3cd	基部少量愈伤, 叶色较浅
9	1.0	0.50	0.2	30.0ef	叶细狭长, 苗较矮



图 1 消毒时间对裂叶垂枝桦不同外植体生长的影响
Fig. 1 The influence of disinfection time on the growth of different explants of *Betula pendula* Roth 'Dalecarlica'

素 BA 浓度一定, GA_3 为 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 随着生长素 NAA 浓度升高, 裂叶垂枝桦幼嫩茎段的分化率逐渐降低, 愈伤组织膨大 (图 2B); 当生长素 NAA 浓度一定, GA_3 为 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 随着 6-BA 浓度的升高, 叶片长度越长, 有徒长的趋势 (图 2C)。试验最终筛选出裂叶垂枝桦幼嫩茎段离体培养的最佳激素浓度组合为: MS + $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA + $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA + $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ GA_3 。

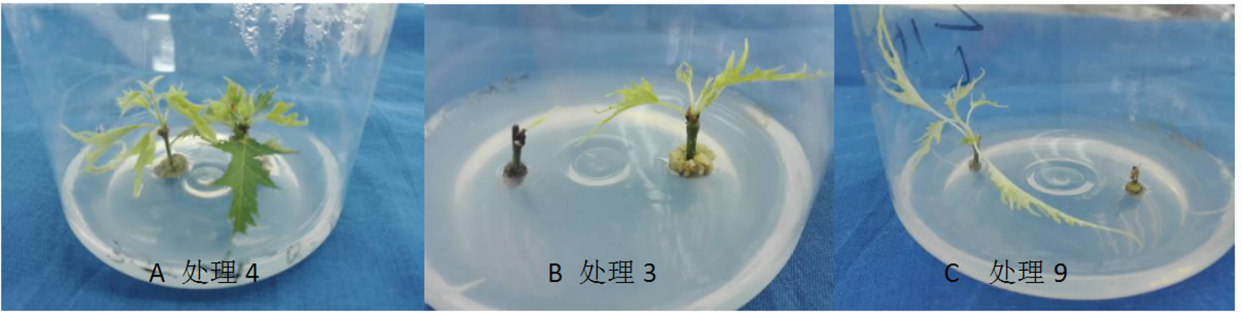


图2 不同激素种类和浓度对裂叶垂枝桦幼嫩茎段萌发生长的影响

Fig. 2 Effect of mass concentrations of hormone concentration young stem in *Betula pendula* Roth. 'Dalecarlica' lignified stems

2.2.2 培养基种类对裂叶垂枝桦幼嫩茎段萌发生长的影响 由表3可知:不同培养基种类对带芽茎段萌发率和成活率具有显著影响,MS培养基的幼嫩茎段萌发启动时间相对早一些,芽膨大,15 d左右展叶(图3A),展叶情况好于1/2MS和WPM培养基,成活率也高于1/2MS和WPM培养基,且叶色鲜绿,无菌苗生长健壮。1/2MS和WPM培养基上的茎段接种1周后基部才开始膨大(图3B、C),叶片逐渐萌发,但展开的叶片色浅且裂叶狭长,叶片深裂;茎段基部也形成愈伤组织;MS培养基上的茎段形成的愈伤组织与1/2MS和WPM培养基上形成的愈伤组织块相比较小,且幼嫩茎段萌发后的叶片鲜绿色,长势比较正常。1/2MS培养基上的无菌苗,叶片狭长,叶色较浅,长势较弱,启动较晚(图3C);WPM培养基

上的无菌苗,基部愈伤组织明显,展叶抽枝较晚。试验结果表明:不同培养基种类对裂叶垂枝桦带芽茎段的诱导及萌发均有显著影响,MS培养基比1/2MS和WPM培养基更适合初始培养。

表3 不同培养基对裂叶垂枝桦幼嫩茎段萌发生长的影响
Table 3 Effect of green stem segments germination and growth in different medium of the *Betula pendula* Roth. 'Dalecarlica'

培养基种类 Kinds of medium	萌发率 Germination rate/%	成活率 Survival rate/%	生长状况 Growth Situation
1/2MS	46.7	66.7ab	无菌苗叶片狭长,叶色浅
MS	70.0	80.0a	无菌苗健壮,叶色鲜绿
WPM	36.7	73.3b	茎段基部愈伤组织明显,展叶较晚

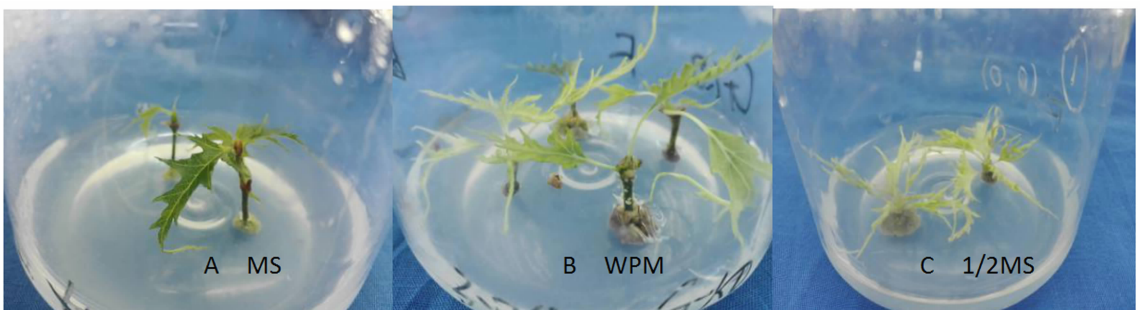


图3 不同培养基对裂叶垂枝桦幼嫩茎段离体萌发的影响

Fig. 3 Effect of tender stem in vitro sprout in different medium of the *Betula pendula* Roth. 'Dalecarlica'

2.2.3 不同浓度的GA₃对裂叶垂枝桦幼嫩茎段萌发生长的影响 赤霉素的主要作用是加速细胞伸长,促进细胞分裂,在大多数情况下对已形成的器官和胚状体的生长通常有促进作用。所以,添加适宜质量浓度的GA₃对外植体生长有促进作用。由P(展叶率) = 0.018 < 0.05, P(污染率) = 0.041 < 0.05可知:GA₃的浓度对裂叶垂枝桦带芽茎段的展叶情况和污染情况有显著影响。如表4:随着GA₃

浓度的升高,GA₃抑制了外植体的分化,展叶率成下降趋势,且伴随着愈伤组织明显与茎逐渐褐化现象。当GA₃浓度为0.1 mg · L⁻¹时,无菌苗展叶率最高为50%,但伴随有叶色较浅轻微玻璃化现象(图4A);当GA₃浓度为1.0 mg · L⁻¹时,展叶率最低为26.7%,污染率最高为53.3%,茎褐化严重(图4B);GA₃浓度为0.2 mg · L⁻¹时,展叶率较高为46.7%,污染率较低为33.3%,叶片颜色浓绿,生长

健壮(图4C);当 GA_3 浓度为 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,茎段未见萌发,但在茎段基部出现了愈伤组织(图4D)。因此得出,在 MS 培养基中添加 GA_3 浓度为 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时最适于裂叶垂枝桦幼嫩茎段的萌发生长。

2.3 增殖培养

裂叶垂枝桦带芽茎段长到 2 cm 左右时,切取带芽的嫩茎,分别转接到 $MS + 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} 6\text{-BA} + 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NAA} + 0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} GA_3$ 、 $MS + 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} 6\text{-BA} + 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NAA}$ 和 $WPM + 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$

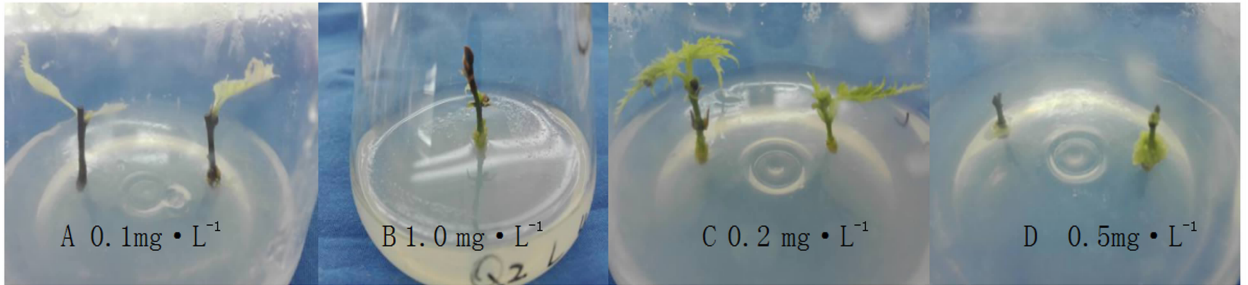


图4 不同 GA_3 浓度对裂叶垂枝桦茎芽生长的影响

Fig. 4 Effect of stem bud growth in different concentrations of GA_3 of *Betula pendula* Roth. 'Dalecarlica'

$6\text{-BA} + 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NAA} + 20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 蔗糖 + $6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 琼脂的 3 种增殖培养基中,20 d 后观察芽在 3 种增殖培养基的增殖情况。通过培养发现,裂叶垂枝桦无菌苗在 $WPM + 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} 6\text{-BA} + 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NAA} + 20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 蔗糖 + $6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 琼脂的增殖培养基上生长状况良好,叶片嫩绿色,叶型舒展,基部有少量愈伤组织,离体培养 20 d 后,当增殖芽长至 4 ~ 6 cm 即可进行生根培养(图 5A、B)。

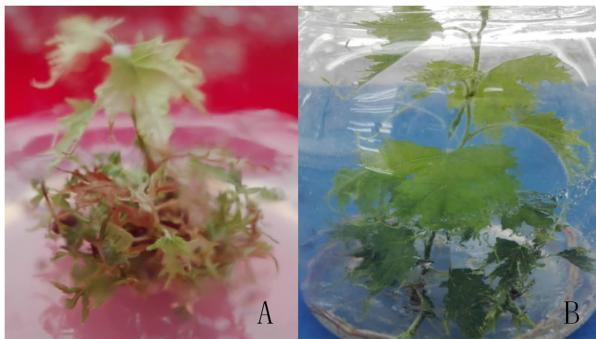


图5 裂叶垂枝桦无菌苗增殖苗生长情况

Fig. 5 The aseptic seedling and proliferation of seedling growth condition of the *Betula pendula* Roth. 'Dalecarlica'

2.4 不同生长素种类和浓度对增殖芽生根的影响

从表 5 可以看出:当 NAA 质量浓度为 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时生根率及平均根数最优,根系粗壮较长,须根

表 4 不同 GA_3 浓度对裂叶垂枝桦幼嫩茎芽离体培养的影响
Table 4 Effect of young stem bud in vitro culture in different GA_3 concentration of *Betula pendula* Roth. 'Dalecarlica'

GA_3 /($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	萌发率 Germination rate/%	污染率 Contamination rate/%	生长状况 Growth situation
0.1	50.0a	40.0ab	叶色较浅,轻微玻璃化
0.2	46.7a	33.3b	叶片颜色浓绿,发育正常
0.5	30.0b	46.7ab	茎段基部愈伤明显
1.0	26.7b	53.3a	茎段出现褐化较重

较密(图 6A);NAA 质量浓度为 $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时次之,根系短粗成密集辐射状生长(图 6B)。而 IBA 浓度为 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,生根率最高为 75%,平均根数最多(图 6C);IBA 浓度为 $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时次之,培养基上的根生长也较好,但从萌发生长状态看生长较慢,叶片有发黄现象(图 6D)。综合分析得出:裂叶垂枝桦生根培养基和激素组合为 $1/2MS + \text{NAA} 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + 20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 蔗糖 + $6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 琼脂。

表 5 不同激素种类及浓度对生根效果的影响

Table 5 The influence of different hormone types and concentrations on rooting effect

激素种类 Types	浓度 concentraions of hormones /($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	生根率 Rooting percentage/%	平均根数 The average root number/个
CK	0	60bc	1.40d
NAA	0.05	70abc	2.10c
	0.1	80a	4.70a
	0.5	55c	1.03d
IBA	0.05	65abc	1.47d
	0.1	75ab	2.87b
	0.5	50c	1.03d

2.5 移植和驯化

将组培苗移植 15 d 后,生长健壮,成活率达到 80% 以上(图 7A ~ C)。

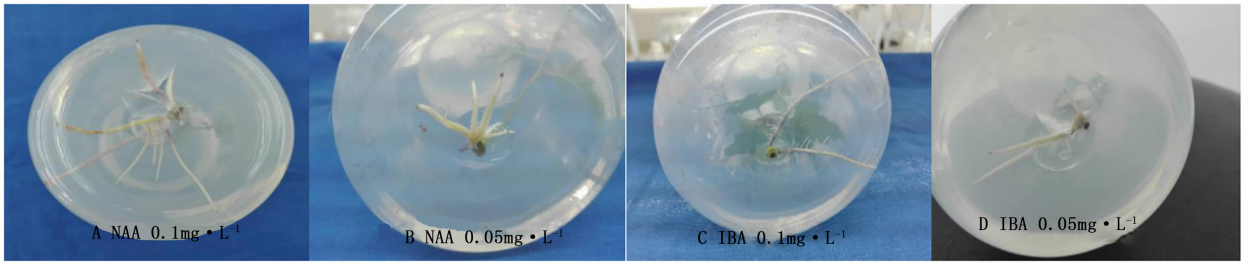


图6 不同生长素种类浓度下裂叶垂枝桦生根情况

Fig. 6 The rooting complex of *Betula pendula* Roth. 'Dalecarlica' in different types and concentration of auxin

图7 裂叶垂枝桦组培苗移植情况

Fig. 7 Transplanting seedlings condition of *Betula pendula* Roth. 'Dalecarlica'

3 讨论

在组织培养过程中,培养基是人为添加的为植物生长提供生长的营养物质。不同植物组织和器官对外界提供的营养有不同的要求,即使同一物种不同部位的器官对外源营养的要求也有所不同,只有满足各自需求才能离体生长。薛丽宁等^[8]将外植体接种在未添加任何激素的MS、1/2MS、WPM培养基上对不定芽进行诱导,结果表明,WPM培养基的诱导率显著高于MS和1/2MS,并且芽体成活率也较高。孙晓敏等^[9]对光皮桦进行最适基本培养基筛选,结果表明,MS培养基适合光皮桦不定芽的诱导,启动时间较快,芽体多且健壮;WPM培养基上的无菌苗长势较弱;1/2MS培养基上的芽体较少且长势较差。张彦妮等^[10]以复叶槭的茎段为外植体在多种培养基上附加多种激素进行配比试验,探讨不同激素对复叶槭茎段诱导及再生的影响,研究发现,仅在MS+0.000 5 mg · L⁻¹TDZ+0.01 mg · L⁻¹NAA培养基上出现再生芽,芽的分化率为22.8%。在植物组织培养过程中,大多在培养基中添加不同种类及浓度的外源激素才能刺激外植体细胞的启动和分化,因此,培养基的选择、激素种类和浓度配比在诱导过程中尤为重要。腋芽萌动时间受培养基中激素配比的影响而不同,当培养基中激素种类仅含NAA时,芽的初始萌动时间随NAA浓度的增加而延长;

当培养基中激素种类仅含6-BA时,随6-BA浓度的增加,腋芽萌生时间也明显延迟^[11],在NAA浓度水平相同时,低浓度的6-BA对茎段腋芽的诱导率低,在一定范围内高浓度6-BA对光皮桦腋芽诱导有促进作用^[12]。Venta等^[14]和Niels等^[15]对月季的茎段芽增殖进行研究,发现,细胞分裂素对其增殖有影响,细胞分裂素能诱导芽的萌发与生长,CPUU利于芽增值系数的提高。

李国福等^[7]研究认为,添加生长素NAA或IBA在不同程度上都可以促进试管苗生根,但不同质量浓度NAA和IBA对垂枝桦的生根影响较大,当NAA为0.05 mg · L⁻¹时,最适合垂枝桦不定根的诱导。添加不同浓度的NAA和IBA比较可知,当NAA质量浓度为0.1 mg · L⁻¹时,生根率最高为80%,平均根数最多为4.7个,根呈多层辐射状生长。薛丽宁等^[8]在对虎榛子试管苗诱导生根的培养中发现,0.2 mg · L⁻¹的NAA为最适生根浓度,较高的NAA对根的生长有抑制作用,随着NAA浓度的升高,生根率下降,且根的生长状况也较差。黄烈健等^[13]研究马占相思优树组培快繁时,发现无菌苗在1/2MS+IBA 2.0 mg · L⁻¹+NAA 0.5 mg · L⁻¹的培养基上生根效果最好,生根率可以达到86%,当试管苗根长2~5 cm时,便可将瓶盖打开炼苗,35 d后即可进行移植。

4 结论

本研究以裂叶垂枝桦幼嫩茎段和木质化茎段为实验材料进行离体快繁技术研究,建立了1~2年生幼嫩茎段的离体快繁技术体系,裂叶垂枝桦幼嫩茎段离体培养最适培养基和激素组合为MS+0.5 mg·L⁻¹6-BA+0.05 mg·L⁻¹NAA+0.2 mg·L⁻¹GA₃,幼嫩茎段离体诱导效果最好;增殖培养基为WPM+1.0 mg·L⁻¹6-BA+0.5 mg·L⁻¹NAA+20 g·L⁻¹蔗糖+6 g·L⁻¹琼脂;生根培养基为1/2MS+0.05 mg·L⁻¹NAA+20 g·L⁻¹蔗糖+6 g·L⁻¹琼脂生根效果最佳。将生根状态理想的无菌苗移植至草炭土和细沙比例3:1的已灭菌的基质中,15 d后,组培苗生长健壮,成活率可以达到80%以上。建立了裂叶垂枝桦组培快繁技术体系,获得了大量的无性繁殖苗木,为该树种选育优良单株奠定了基础。

参考文献:

- [1] 吴宗泽,王世杰,王立福,等.垂枝桦的组培快繁[J].分子植物育种,2016,14(7):1815-1820.
- [2] 任凤伟.辽宁省裂叶垂枝桦适宜栽培区研究初报[J].防护林科技,2016,150(3):25-29.
- [3] 吴永君,刘延君,曲文娇,等.欧洲垂枝桦引种栽培试验初报[J].辽宁林业科技,2005(1):25-26.
- [4] 靳林,陈秀荣,李丕军,等.垂枝桦的引种及育苗技术研究[J].

新疆农业科学,1999(2):83-86.

- [5] 吕荣芝.垂枝桦引种育苗实验[J].东北林业大学学报,2005,33(3):99.
- [6] 辛建芝.垂枝桦实生播种育苗技术[J].农业水利,2013(19):105.
- [7] 李国福,陈士刚,秦彩云,等.垂枝桦组织培养技术研究[J].吉林林业科技,2010,39(3):1-3.
- [8] 薛丽宁,赵慧英,姚庆智,等.虎榛子组织培养及菌根化技术研究[J].中国农学通报,2012,28(19):17-21.
- [9] 孙晓敏,陈争,李美飞,等.光皮桦组织培养离体再生研究[J].西北植物学报,2012,32(3):604-610.
- [10] 张彦妮,董亚茹,卓丽环,等.激素对复叶槭茎段和叶片愈伤组织诱导及再生的影响[J].林业科学研究,2012,25(4):516-520.
- [11] 李庆伟,梁明勤,樊亚敏,等.不同取材时期和处理方法对瓦松无菌体系建立的影响[J].江苏农业科学,2014,42(1):55-58.
- [12] 翁秋媛.光皮桦的组培快繁技术研究[C].第二届全国植物组织培养、脱毒快繁及工厂化生产学术研讨会论文集,2004,150.
- [13] 黄烈健,陈祖旭,张赛群,等.马占相思优树组培快繁技术研究[J].林业科学研究,2012,25(2):227-230.
- [14] Venta K T, Hendrik J V T, Elena Y. Role of phenylurea cytokine in CPPU in apical dominance release in In vitro cultured rosa hybrid [J]. Journal of Plant Growth Regulation, 2000, 19(2):232-237.
- [15] Niels B, Kell K. Changes in concentrations of cytokinins (CKs) in root and axillary bud tissue of miniature rose suggest that local CK biosynthesis and zeatin-type CKs play important roles in axillary bud growth [J]. Journal of Plant Growth Regulation, 2005, 24(3):238-250.

(责任编辑:张研)