

四倍体刺槐组织培养与快速繁殖

李晓青, 张晓申, 王慧瑜

(郑州农林科学研究所 生物技术中心, 河南 郑州 450005)

摘要:以四倍体刺槐春季萌发的嫩枝带芽茎段为试材制备外植体, 进行组培快繁试验。结果表明, 最佳启动培养基为 MS+6-BA0.5mg/l+0.3mg/l, 最佳增殖培养基为 MS+6-BA0.8mg/l+NAA0.3mg/l, 最佳生根培养基为 1/2MS+IBA0.5mg/l+NAA0.1mg/l。移栽时注意遮荫和控制温湿度, 成活率达 90%。

关键词:四倍体刺槐; 组织培养; 快繁

四倍体刺槐在海拔 2 000m 以下、降水量不低于 200mm、年平均气温不低于 3℃、坡度在 50 度以下的地区均能生长。它的叶片和嫩枝是优良的禽畜饲料, 广泛种植, 可大力发展地方畜牧业; 生长快, 干形通直, 木材坚韧, 纹理致密, 抗腐朽, 可广泛用于建筑业、矿产业, 是营造速生丰产混交林和用材林的首选树种; 根萌蘖性强, 根系发达, 具有根瘤菌, 可起到改良土壤、增加土壤有机质含量和形成土壤团粒结构的作用; 耐贫瘠, 耐低温、烟碱, 速生丰产, 是优良的水土保持、沙漠化治理、防风固沙和“四旁”绿化的先锋树种; 四倍体刺槐还是优质的蜜源植物, 可用于发展地方养蜂业。因此四倍体刺槐对西部开发建设的环境改善, 平原及山区发展圈养畜牧业, 以及植树造林中的苗木品种混交种植有着十分重要的生态效益和经济效益。为加快优良品种四倍体刺槐的快速繁殖, 本人对其组织培养快速繁殖技术进行了研究。

1 材料与方 法

1.1 试材与启动培养

在春季四倍体刺槐生长季节, 取萌发的幼嫩带芽茎段, 去掉叶片, 在自来水下冲洗干净, 在超净工作台无菌条件下, 用 70% 酒精消毒 30s, 0.1% 的升汞消毒 7min, 再用无菌水冲洗 3—4 遍, 切取 1cm 左右带腋芽茎段接种在启动培养基上。

启动培养基采用 MS 为基本培养基, 添加不同浓度的 6-BA 和 NAA, 每瓶接一株, 每处理 30 瓶, 生长 30d 观察生长情况, 统计诱导率。

1.2 增殖培养基的筛选

将在启动培养基上诱导成功的试管苗, 切割成单个小苗接种在 MS 附加 6-BA0.1—1.5 mg/l、NAA0.1—0.5mg/l 的几种组合。每瓶接 5 株, 每处理 20 瓶, 重复一次, 生长 30d, 观察生长情况, 统计平均增殖系数和生长量, 筛选最佳组合。

1.3 生根培养基的筛选

将试管苗生长到 2cm 左右的茎段切下, 接种到生根培养基上, 生根培养基 1/2MS 附加 IBA0.1—0.5mg/l、NAA0.1—0.3mg/l 的几种组合中, 每瓶接 5 株, 每处理 20 瓶, 重复一次, 生长 30d 调查生根情况, 统计平均生根率、平均生根条数和平均根长, 筛选最佳生根条件。

1.4 培养条件

以上培养基均加入白糖 30g/l, 琼脂 0.6g/l, pH 值 6.3, 培养温度为 25℃ 左右, 光照强度 2 000lx, 光照时间 12h/d。

1.5 移栽

将试管苗在 4 月上旬移入温室, 最好有自动喷雾设施, 有利于调节温湿度, 取出生好根的试管苗, 洗净根部的培养基, 栽入 72 穴育苗盘内, 基质选择珍珠岩, 用 0.2% 的高锰酸钾溶液消毒后, 浇透水, 然后把生根苗栽入珍珠岩内, 喷一遍水, 放入事先准备好的塑料小拱棚内, 拱棚上面罩有遮阳网, 保持棚内温度在 25—30℃, 湿度在 85% 以上, 1 周后逐渐透风, 降低湿度, 4 周后可以撤去小拱棚, 将移栽苗小心的取出, 不要伤到根系, 小心栽入大田, 浇透水, 罩上遮阳网, 5d 后可以去掉遮阳网。

2 结果与分析

2.1 激素对启动培养的影响

观察发现,带芽茎段接入培养基 10d 后,在腋

芽处开始萌动,接着芽膨大,长出叶片,30d 时可形成 3cm 高丛生芽。从表 1 可以看出,最佳启动培养基是 MS+6-BA0.5mg/l+NAA0.3mg/l。

表 1 不同激素对比对启动培养的影响

6-BA(mg/l)	NAA(mg/l)	接种数(个)	成活数(个)	成活率(%)
0.1	0.3	30	3	10
0.3	0.3	30	10	33.3
0.5	0.3	30	20	66.7
0.7	0.3	30	15	50

2.2 激素对试管苗增殖的影响

在增殖培养基中加入细胞分裂素 6-BA 对增殖效果非常明显,随着 6-BA 浓度的加大,增殖系数加大,但 6-BA 浓度到 1.0 时,增殖系数下降,这主要是 6-BA 浓度加大,导致形成愈伤

组织,有效苗数减少,增殖系数自然降低,NAA 浓度在 0.1 时不利于苗的长高,NAA 浓度在 0.3 时生长比较好。从表 2 可以看出,最佳增殖培养基是 MS+6-BA0.8mg/l+NAA0.3mg/l。

表 2 激素对增殖培养的影响

组合	6-BA(mg/l)	NAA(mg/l)	增殖系数	平均苗高(cm)
1	0.5	0.1	1.5	2.3
2	0.5	0.3	1.8	3.5
3	0.8	0.1	3.0	2.8
4	0.8	0.3	4.2	3.8
5	1.0	0.1	3.2	2.1
6	1.0	0.3	3.7	2.5
7	1.5	0.1	2.2	2.2
8	1.5	0.3	2.6	2.6

2.3 生长素对试管苗生根的影响

试验表明,在培养基中单一添加生长素 IBA 能使试管苗生根,但茎部生长较慢,并且根的侧根较少,当再加入生长素 NAA 时,茎部生长较好,

根部也有侧根出现,有利于移栽成活。从表 3 可以看出,IBA0.5mg/l 和 NAA0.1mg/l 配合使用,效果最佳,生根率达到 95%,平均每株生根 4 条左右,且根生长良好。

表 3 不同生长素对比对试管苗生根的影响

组合	平均生根率(%)	平均根长(cm)	平均生根数(条)
IBA0.1mg/l	12	1.0	1.2
IBA0.3mg/l	43	1.3	2.6
IBA0.5mg/l	85	1.1	3.9
IBA0.3mg/l+NAA0.1mg/l	56	1.5	2.5
IBA0.5mg/l+NAA0.1mg/l	95	2.1	4.2
IBA0.3mg/l+NAA0.3mg/l	50	1.9	2.4

2.4 苗木移栽及生长情况

生根试管苗在珍珠岩内生长 25d 后,统计移栽成活率在 95%左右,从珍珠岩到大田移栽,生长 20d 后,调查成活率,移栽成活率达到 97%以上。移栽当年四倍体刺槐平均苗高 20cm,叶片 15 枚;单株最高达 30cm,有叶片 40 枚。

的幼嫩枝条带腋芽茎段。分化培养基为 MS+6-BA0.5mg/l+NAA0.3mg/l,增殖培养基为 MS+6-BA0.8mg/l+NAA0.3mg/l,生根培养基为 1/2MS+IBA0.5mg/l+NAA0.1mg/l,移栽时间为 4 月上旬,移栽基质为珍珠岩,移栽到大田移栽成活率在 90%以上。

3 小结

四倍体刺槐的组培快繁应选择当年生长旺盛