维普资讯 http://www.cqvip.com

四翅滨藜无性系组培快繁技术研究

李占成,崔根芳,李 宁
(山西省农业科学院高寒区作物研究所,山西 大同 037008)

摘 要:用四翅滨藜茎段、茎尖、嫩叶等外植体在不同培养基上培养,结果表明:茎段、茎尖外植体的诱导芽和愈伤组织诱导率高,启动诱导培养基以1/2 MS+KT 0.5 mg/L+2,4-D 1.0 mg/L最好;诱导愈伤组织增殖的培养基以MS+KT 1.0 mg/L+2,4-D 0.05 mg/L最好,增殖率可达3倍以上;丛生芽增殖培养基以MS+KT 0.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L和MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L效果好,增殖率均在5倍以上;生根培养基以1/4 MS+NAA 0.5 mg/L和1/4 MS+IBA 1.0 mg/L效果好。组培快繁取材广泛,繁殖系数高,是加快四翅滨藜种苗繁育的有效途径。

关键词:四翅滨藜;外植体;诱导芽;愈伤组织;试管苗;培养基
中图分类号:Q949.745.1 **文献标识码**:A **文章编号**:1002-2481(2007)05-0027-04

Rapid Multiplying Technique by Clone Tissue Culture in *Atriplex Canescens*

LI Zhan-cheng, CUI Gen-fang, LI Ning
(*Crops Research Lnstitute in High Latitude and Cold Region, Shanxi Academy of Agricultural Sciences, Datong* 037008, *China*)

Abstract: External plant parts such as stem parts, stem tips and tender leaves of *Atriplex canescens* were Cultured on different media, the result shows that high induced budding and high induced rate of healing tissue from stem parts and stem tips happened. Initiating culture medium of induced budding is optimum based on 1/2 MS+KT 0.5 mg/L+2,4-D 1.0 mg/L; The culture medium inducing healing tissue multiplication is optimum based on MS+KT 1.0 mg/L+2,4-D 0.05 mg/L, in which, multiplying rate reached as high as three times; The culture medium of cespitose budding multiplication is optimum based on MS+KT 0.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L and MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L, in which, multiplying rate averagely reached more than five times; The rooted culture medium is optimum based on 1/4 MS+NAA 0.5 mg/L and 1/4 MS+IBA 1.0 mg/L; Rapid multiplying technique of tissue culture is an effective way to accelerate multiplication for plantlet of Atriplex canescens, with extensive material and high multiplying coefficiency.

Key words: *Atriplex canescens*; External plant part; Induced bud; Healing tissue; Tuber plant; Culture medium

四翅滨藜(*Atriplex canescens*)属藜科滨藜属,是由美国科洛拉多州立大学等单位经过多年的努力选育出的一种抗旱、抗寒、耐盐碱的准常绿饲料灌木。四翅滨藜为旱生或中生植物,对各种复杂的环境气候条件适应能力强,广泛应用于牧场改良和水土保持[1]。

20世纪90年代,四翅滨藜引入我国后,在青海、新疆、宁夏等地进行了区域性栽培试验,表现出了极强的生命力[2,3],被国家林业局列为造林绿化重点推广品种,进行大面积推广。但目前市场上种苗严重短缺,价格昂贵,依靠种子播种育苗成本太高,扦插育苗繁殖系数又低,无法满足大规模生态建设对种苗的需求。本试验旨在通过四翅滨藜无性系组培快繁技术的研究,加速

* 收稿日期:2007-04-05
项目来源:山西省农业科学院高新技术项目(YGX0408)
作者简介:李占成(1960-),男,山西大同人,副研究员,主要从事生物技术研究和农业技术推广工作。

维普资讯 http://www.cqvip.com

其种苗的繁育速度。

1 材料和方法

用从宁夏等地引进的在大同县倍加造科技园区温室和东王庄露地栽植的四翅滨藜，在生长发育阶段分别取其茎段、茎尖、嫩叶等组织进行培养。

将采集的外植体剪去大叶片，用自来水冲洗干净，消毒液消毒，然后用无菌水冲洗 4 ~ 5 次，在无菌滤纸上吸干水分，最后在超净工作台上将外植体剪成带腋芽的茎段或将茎顶端剥取的茎尖接种到培养基上。

启动培养基为：1/2 MS + KT 0.5 mg/L 分别附加 2,4 - D 1.0,0.7,0.5,0.3,1.5 mg/L 从 A_1 ~ A_5 共 5 个处理。

愈伤组织增殖培养基为：MS 附加 KT 0.1,0.3,0.5,0.7,1.0 mg/L 和 2,4 - D 0.01,0.03,0.05,0.07,0.10 mg/L 从 B_1 ~ B_{25} 共 25 个处理。

丛生芽增殖培养基为：MS + NAA 0.1 mg/L 附加 KT 1.0,0.5 mg/L 和 6 - BA 1.0,0.5 mg/L 从 C_1 ~ C_4 共 4 个组合。

生根培养基为：MS(1/2,1/4,1)分别附加 NAA 0.1,0.5,1.0 mg/L 和 MS(1/2,1/4,1)分别附加 IBA 0.5,1.0,1.5 mg/L 从 D_1 ~ D_{18} 共 18 个处理[4,5]。

将四翅滨藜的茎段或茎尖接种在启动培养基上培养，待诱导出的芽生长到一定长度时，再转接到愈伤组织增殖培养基上或直接转接到丛生芽培养基上，进行愈伤组织增殖或芽增殖。愈伤组织增殖到一定程度，切块转接到丛生芽培养基诱导丛生芽增殖，丛生芽长高后则可接种到生根培养基上进行生根培养。培养室温度 25 ~ 28 ℃，光强度 2 000 ~ 2 500 lx，光照时间 10 ~ 12 h/d。

2 结果与分析

2.1 启动培养试验结果

2.1.1 不同外植体不同时间在启动培养基上的诱导效果 茎段、茎尖、叶片不同外植体，在启动培养基上诱导效果不一致，并且各个时期的诱导效果也不同。茎段在初春取材诱导效果最佳，夏季诱导出芽效果差且污染严重(表 1)。

表 1 茎段取材时间对诱导芽生长的影响

取材时间	接种瓶数	萌芽时间(d)	萌芽率(%)	备注
12 月至翌年 1 月	60	5 ~ 6	80	萌芽快(倍加造温室取材)
3 ~ 4 月	60	8 ~ 10	90	萌发较好(东王庄露地取材)
5 ~ 6 月	60	10 ~ 20	5	污染严重
7 ~ 8 月	60		0	污染严重

茎尖剥离在 4 ~ 5 月份最好，诱导率比较高，成苗快(表 2)。用叶片培养，污染率高，现还没有诱导成苗的，有待进一步研究探讨。

表 2 茎尖取材时间对诱导率的影响

取材时间	接种瓶数	茎尖伸长天数(d)	诱导率(%)
4 ~ 5 月	30	30 ~ 42	80
6 ~ 7 月	30	45 ~ 50	30

表 3 5 种不同启动培养基对茎段的诱芽效果

培养基(附加 2,4 - D 浓度)	接种后茎段诱导芽平均长度(cm)			
	5 d	10 d	20 d	25 d
A_1(1.0 mg/L)	0.5	1.0	2.0	2.2
A_2(0.7 mg/L)	0.3	0.8	1.5	2.0
A_3(0.5 mg/L)	0.1	0.3	0.8	1.0
A_4(0.3 mg/L)	0.0	0.1	0.4	0.7
A_5(1.5 mg/L)	0.1	0.1	0.15	0.2

2.1.2 不同生长素浓度对茎段诱导出芽的影响 由表 3 可以看出，诱导频率以 A_1(即 1/2 MS + KT 0.5 mg/L + 2,4 - D 1.0 mg/L)最好，25 d 后，芽长可达 2.2 cm，基部出现少量愈伤组织，A_2 次之，A_5 最差。这就说明，在相同浓度的细胞分裂素水平下，出芽和愈伤组织增大速度都随生长素(2,4 - D)浓度的增大而加快，但生长素浓度达到 1.5 mg/L 时无菌腋芽反而生长缓慢或停止生长。

2.1.3 启动培养基添加活性炭的效果 变褐是由于外植体中的多酚化合物在多酚氧化酶的作用下氧化的结果，同时接种后很快在培养基中扩散，使整个组织变褐枯死，减轻和防止褐变是培养能否成功的一个关键。为了减轻褐变，我们采用了多种方法：第一，在培养基中附加活性炭；第二，降低培养温度；第三，暗光下培养。结果表明，3 种处理对褐变现象都有明显抑制作用，其中加入活性炭效果最好，减轻了污染，坏死率大大降低。

2.2 不同浓度的细胞分裂素和生长素对愈伤组织增殖的影响

将启动培养基诱导出的芽接种到附加不同

维普资讯 http://www.cqvip.com

浓度的细胞分裂素(KT)和生长素(2,4-D)的25种愈伤组织增殖培养基上,通过观察发现,在相同浓度的细胞分裂素水平上,愈伤组织生长都以中等浓度水平的生长素为高;在相同浓度的生长素水平上,愈伤组织生长随细胞分裂素浓度的升高而增加(表4)。愈伤组织增殖以细胞分裂素KT 1.0 mg/L附加生长素2,4-D 0.05 mg/L为最佳,增殖率为3倍。

表4 不同细胞分裂素和生长素浓度对愈伤组织增殖的影响

(生长30 d后愈伤组织增殖倍数)

细胞分裂素(KT)浓度(mg/L)	生长素2,4-D浓度(mg/L)				
	0.01	0.03	0.05	0.07	0.10
0.1	1.5	1.6	2.0	1.8	1.4
0.3	1.8	1.9	2.1	1.8	1.5
0.5	2.0	2.2	2.7	2.3	2.1
0.7	2.3	2.5	2.9	2.4	2.3
1.0	2.7	2.7	3.0	2.8	2.2

2.3 不同细胞分裂素不同浓度对丛生芽增殖的影响

将带有芽出现的愈伤组织切块接到丛生芽增殖培养基上,生长25 d后发现,不同细胞分裂素且浓度不同的4个组合,其生长情况有很大差别,高浓度的细胞分裂素C_1(MS+KT 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L)和C_3(MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L)组合,丛生芽很粗且不易分开,愈伤组织化;而低浓度细胞分裂素的组合C_2(MS+KT 0.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L)和C_4(MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L)则苗高叶展,一株一株易分开。显然,低浓度组合C_2,C_4是丛生芽增殖最佳组合,而高浓度组合C_1,C_3还需继代培养,转接到低浓度C_2,C_4组合上继续生长。

2.4 基本培养基对生根的影响

试管苗生根是从异养状态进入自养状态的过程,为了使试管苗对培养基营养成分不产生或少产生依赖性,提高移栽成活率,我们对基本培养基营养成分进行了调整,结果得到了比较好的效果(表5)。

表5 生长素NAA在不同培养基中对四翅滨藜生根的影响

生长素NAA浓度(mg/L)	0.1				0.5				1.0			
生长天数(d)	10	20	30	40	10	20	30	40	10	20	30	40
1/2 MS生根系数(条)	1	5	7	根长细	2	7	8	须根多	1	4	6	根短粗
1/4 MS生根系数(条)	0.5	2	4	根长细	1	4	6	须根多	1	3	5	根短粗
MS生根系数(条)	1	5	6	根长细	2	6	8	须根多	1	5	6	根短粗

表6 生长素IBA在不同培养基中对四翅滨藜生根的影响

生长素IBA浓度(mg/L)	0.5				1.0				1.5			
生长天数(d)	10	20	30	40	10	20	30	40	10	20	30	40
1/2 MS生根系数(条)	1	4	6	根长细	2	6	7	须根多	1	3	5	根短粗
1/4 MS生根系数(条)	1	3	5	根长细	1.5	5	7	须根多	1	3	5	根短粗
MS生根系数(条)	1	4	5	根长细	2	5	7	须根多	1	4	5	根短粗

从表5、表6可以看出,基本培养基的大量元素变化对生根影响不太大,为了降低成本,可以选用1/4 MS为基本生根培养基。

2.5 生长调节剂对生根的影响

生长调节物质对生根有着非常显著的影响,其不同种类和不同浓度对生根的作用不同。

从表5可以看出,生长素NAA在3种不同培养基中,以0.5 mg/L浓度的组合最佳。不论培养基营养成分高低,它都生根快、多、壮。而0.1 mg/L组合就有点偏低,根又细又长。而1.0 mg/L组合偏高,根粗、短。生长素IBA 3种不同浓度在3种培养基中也表现出同样的规律(表6)。这就说明,不同种类的生长素不但影响生根的数量,而且影响根的质量,浓度低根细长,浓度高根短粗,生长素浓度超过一定的限度,会引起愈伤组织化,影响根的形成和生长。

2.6 试管苗的移栽

当试管苗长出明显的新根,具有3~4片叶时就可以出瓶移栽。移栽前为了使小苗逐渐适应外界环境,首先放在自然光下培养,2 d后打开瓶盖,从瓶中取出,放于盛有20 ℃左右温水的盆中,将附着在根上的培养基完全清洗掉,以免残留培养基,引起污染霉烂。试管苗移栽到装有河沙和蛭石(1∶1)的营养钵中,使基质与根系密切接触,清洗掉叶面上的基质,喷适量水。移栽后要保持空气湿度在85%以上,温度控制在20~30 ℃。刚移栽的试管苗很细嫩,叶片水分蒸发量大且根系吸收功能很差,这段时期我们采用塑料膜保湿,遮阳网遮阳,10 d后揭开塑料膜,叶面喷施1/10 MS营养液,每3 d喷1次,成活率达

维普资讯 http://www.cqvip.com

95%以上。

3 结论

组培快繁技术使用少量的材料就能在试管中建立起反复的增殖系统，利用一小块外植体所获得的愈伤组织可多次继代培养，一年可增殖1 000多倍，可分化小苗 1 000 ~ 2 000 株，移栽后的小苗一年后就可定植于大田，大大提高了繁殖速度。

本研究结果表明，适合于组培的四翅滨藜外植体为茎段和茎尖。茎段在春初取材，诱导率高；茎尖在 4 ~ 5 月份取材最佳，芽饱满，诱导率高，成苗快。启动诱导培养基以 1/2 MS（将 MS 的大量元素减半）+ KT 0.5 mg/L + 2,4 - D 1.0 mg/L 最好；诱导愈伤组织增殖的培养基以 MS + KT 1.0 mg/L + 2,4 - D 0.05 mg/L 最好，增殖率可达 3 倍以上；丛生芽增殖培养基以 MS + KT 0.5 mg/L + NAA 0.1 mg/L 和 MS + 6 - BA 0.5 mg/L + NAA 0.1 mg/L 效果好，增殖率均在 5 倍以上；生根培养基以 1/4 MS（大量元素为 MS 的 1/4）+ NAA 0.5 mg/L 和 1/4 MS + IBA 1.0 mg/L 成本低，效果好。

参考文献：

[1] 李跃进，崔素英. 常绿饲料灌木树种——四翅滨藜[J]. 中国林副特产，2002(4)：30 - 31.

[2] 王存桂. 四翅滨藜推广现状和发展建议[J]. 甘肃科技，2002(7)：97.

[3] 徐秀梅，马 琼. 四翅滨藜种苗繁殖研究[J]. 种子，2004(5)：69 - 71.

[4] 曹孜义，刘国民. 实用植物组织培养技术教程[M]. 兰州：甘肃科学技术出版社，1996.

[5] 刘 雷，尹 均，任江萍，等. 基因枪轰击后大麦幼胚的组织培养及植株再生研究[J]. 华北农学报，2003，18(4)：1 - 4.

临玉 2 号

选育单位 山西省农科院隰县农业试验站、山西省农科院小麦研究所

品种来源 隰 31 × 51321，原名隰玉 845

特征特性 幼苗顶土力强，长势强壮，叶鞘浅绿色，叶色深绿。植株高大，生长整齐，株形平展，上部叶片稀疏，株高 270 cm 左右，穗位 110 cm 左右，全株叶 19 ~ 20 片，雄穗发达，花药黄色，花丝红色，果穗细长，苞叶较短，穗 长约 24 cm，穗行数 16 行，行粒数 42 粒，穗轴红色，子粒黄色、半马齿型。生育期较对照略早熟。

抗病鉴定 2004 ~ 2005 年经山西省农科院植保所两年抗病接种鉴定，综合评价为中抗小斑病、茎腐病和矮花叶病，抗穗腐病，感丝黑穗病、大斑病和粗缩病。

品质分析 2005 年农业部谷物及制品监督检验测试中心（哈尔滨）检测，粗蛋白 9.27%，粗脂肪 4.64%，粗淀粉 74.80%，赖氨酸 0.28%，容重 760 g/L。

产量表现 2004 ~ 2005 年参加山西省玉米早熟组区试，平均单产 9 688.5 kg/hm^2，比对照屯玉 8 号增产 13.6%。2005 年生产试验，平均单产 9 514.5 kg/hm^2，比对照屯玉 8 号增产 13.9%。

栽培要点 适宜稀植，公顷留苗 45 000 株左右，注意防治丝黑穗病。

适宜地区 适宜山西省玉米春播早熟区种植。