新 疆 农 业 大 学 学 报 2008,31(6):42～45
Journal of Xinjiang Agricultural University

文章编号: 1007-8614(2008)06-0042-04

濒危植物盐桦丛生芽生根、移栽及耐盐性研究

阿依先木·阿西木[1,2], 吐尔逊·吐尔洪[1], 王文全[1]

(1.新疆农业大学 草业与环境科学学院,乌鲁木齐 830052; 2.新疆农业职业技术学院 生物科技学院,昌吉 831100)

摘 要: 在单因子试验的基础上,采用了 $L_9(3^4)$ 正交试验设计探讨了培养基配比、植物生长调节剂的不同浓度、蔗糖量等因素对诱导盐桦(*Betula halophila*)丛生芽生根的影响。结果表明,对生根率和生根系数的影响大小依次为生长素浓度>培养基配比>蔗糖量;而对于平均根长的影响大小依次为培养基配比>生长素浓度>蔗糖量。筛选出最佳生根培养基为 1/2MS,NAA 0.10 mg/L,蔗糖 30 g/L。最有利于盐桦无菌苗移栽存活的基质类型为腐殖质土:珍珠岩=1:1,成活率达到了 64.4%。成活的盐桦组培苗仍具有较好的耐盐性。

关键词: 盐桦; 组织培养; 生根培养; 耐盐性

中图分类号: Q949.736.2 **文献标识码:** A

Research on Tissue Embryo Rooting, Transferring and Salt Tolerance of Endangered Plant *Betula halophila*

Ayixianmu · Aximu[1,2], Tuerxun · Tuerhong[1], WANG Wen-quan[1]

(1. College of Pratacultural & Environmental Sciences, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, China; 2. Department of Biological Technique, Xinjiang Agricultural Vocational Technique College, Changji 831100, China)

Abstract: This paper discusses the inducted effects of the factors, such as different mixture ratio of culture medium, different concentrations of plant growth regulator and amount of sucrose, on rooting of *Betula halophila* by using orthogonal experimental design $L_9(3^4)$ on the base of single factor experiment. The result showed that effects of these factors on rooting coefficient and rooting rate, according to their influencing difference, are as follows: plant growth regulator concentrations>mixture ratio of culture medium>amount of sucrose. And effects on the average rooting length, in the same order, are mixture ratio of culture medium>plant growth regulator concentrations >amount of sucrose. Based on these results, the optimized rooting medium is as follows: 1/2MS, NAA 0.10 mg/L, sucrose 30 g/L. The most effective stroma for livability of asepsis sprout transferring of *Betula halophila* is humus soil : perlite =1 : 1, the surviving rate reaches 64.4%. The survived sprout of *Betula halophila* still has better salt tolerance.

Key words: *Betula halophila*; tissue culture; rooting cultivation; salt tolerance

盐桦(*Betula halophila*)属于桦木科桦木属,是一种罕见的耐盐木本植物。1999 年被列为国家重点保护野生植物(二级),盐桦为新疆特有的濒危种,野生数量极少[1],因此,对其进行研究保护具有重要意义。

根据木本植物试管苗生根的文献资料,影响生根的因素主要有生长调节剂、蔗糖浓度、活性碳及培养基浓度等[2]。新疆农业职业技术学院组培中心从新疆阿勒泰阿拉哈克乡盐湖边采集了少量盐桦枝条,以其嫩茎做外植体,进行组织培养,诱导出试管

收稿日期: 2008－05－05
基金项目: 新疆维吾尔自治区土壤学重点学科资助
通讯作者: 王文全,E-mail:wwq6804@163.com

丛生芽，并成功诱导生根移栽成活。本研究利用试管苗进行了培养基配比、植物生长调节剂种类及其不同浓度配比、蔗糖量等因素对诱导盐桦生根的影响试验，获得了诱导盐桦生根的最佳培养条件，并进行了盐桦试管苗的耐盐性研究。

1　材料与方法

1.1　材料

供试材料为盐桦组培苗，由新疆农业职业技术学院植物组织培养中心提供。

1.2　方法

1.2.1　不同生长素及浓度对生根的影响

将增殖培养得到的盐桦丛生芽切分成单株小苗，接种于 MS 培养基上（培养基中加入琼脂粉 5 g/L，蔗糖 30 g/L，pH5.8），添加不同浓度的 NAA，IAA，IBA，考察不同生长素及其浓度对生根的影响。

1.2.2　培养基配比的选择试验

将增殖培养得到的盐桦丛生芽切分成单株小苗，分别接种于 MS，1/2MS，1/4MS，1/8MS 培养基上（在生长素及生长素浓度试验的基础上，选择添加 0.20 mg/L 的 NAA），观察培养基浓度配比对生根及植株长势的影响。

1.2.3　生根培养正交试验

在单因子实验的基础上，为进一步优化盐桦生根的条件，采用四因素三水平正交试验设计 $L_9(3^4)$（设一空列，则实际为三因素三水平正交试验设计）。

表 1　生根培养正交试验设计 $L_9(3^4)$

Table 1　The orthogonal experimental design $L_9(3^4)$ of root cultivating

处理	MS（A 因素）	NAA(mg/L)（B 因素）	蔗糖(g/L)（C 因素）	空列（D）
1	1(MS)	1(0)	1(10)	1
2	1(MS)	2(0.10)	2(20)	2
3	1(MS)	3(0.20)	3(30)	3
4	2(1/2MS)	1(0)	2(20)	3
5	2(1/2MS)	2(0.10)	3(30)	1
6	2(1/2MS)	3(0.20)	1(10)	2
7	3(1/4MS)	1(0)	3(30)	2
8	3(1/4MS)	2(0.10)	1(10)	3
9	3(1/4MS)	3(0.20)	2(20)	1

1.2.4　炼苗及移栽

4 月上旬，当小苗长出 2～3 条，约 0.5 cm 长的不定根时，移出培养室，在玻璃温室的自然光下，不开瓶盖炼苗 15～20 d，当不定根长到 1～2 cm 长后，移栽到灭菌基质上。基质分别为山砂、腐殖质土：珍珠岩(1∶1)、腐殖土。本试验于 4 月底至 5 月初进行移栽。移栽前轻轻脱掉琼脂。移苗后，保持苗木环境的湿度在 80%左右，温度 18～28 ℃。每隔 2 d观察移栽苗生长情况，30 d 后统计成活率。

1.2.5　耐盐性试验

将移栽成活的幼苗移栽于盛有洗净的细沙花盆内，使株高一致，每隔 1 d 浇 1 次 1/10MS 营养液，缓苗 1 周后，盐桦大约处于两至三叶一心期，高为 5 cm左右，此时进行盐胁迫处理。试验共设 5 个 NaCl 水平，分别为 CK(1/10MS)，1.1%，1.3%，1.5%和 1.7%(均用 1/10MS 的营养液配制)，3 次重复。处理前测定 1 次株高和叶片数，之后每 3 d 记录 1 次株高变化。

加盐方法：进行盐处理，并非每一处理一次性达到其所预定的浓度。这需要考虑到幼苗对高浓度盐的适应性，采取浓度逐渐增加的方法。各处理都以 1.1% NaCl 与 1/10MS 1∶1 稀释液作为起始浓度，每隔 1 d 浇营养液一次，第二次为 1.1%的 NaCl 营养液，以后每次递增 0.2%，直至预定浓度。达到预处理浓度后，盐胁迫 30 d，其间每 3 d 浇 1 次营养液。之后一次性取样，进行株高的测定，求平均值，减去盐胁迫前的平均株高得各处理植株的平均增高。各实验组的平均增高与对照组的增高的百分比为各组的相对增高，通过相对增高的比较可分析不同浓度的 NaCl 对盐桦试管苗的作用。

1.2.6　基本培养条件与统计方法

生根培养时，温度 20～25 ℃，光强 2 000 lx 左右，光照时间 12 h。

30 d 后统计生根率、生根系数和最大根长，每处理任意选取 5 瓶(3 次重复)，统计单株平均根数。生根率与生根系数的计算方法：

生根率＝(生根株数/诱导株数)×100%

生根系数＝生根总数/生根株数

采用 SPSS 10.0 软件对观测数据进行统计分析。

2　结果与分析

2.1　不同生长素及浓度对盐桦丛生芽生根的影响

从表 2 可以看出，在 IAA，IBA，NAA 3 种生长素中，均呈现出较低浓度时有促进生根的效果，且生长素的种类对生根率影响不显著，对生根系数影响也不显著，但生长素的浓度对生根率、生根系数和最

大根长有显著影响。生长素的种类对根系特征有明显影响，如 IAA 和 IBA 诱导出的根比较细长，且不同浓度的 IAA 和 IBA 均能形成愈伤组织，较高浓度的 NAA 也能形成愈伤组织；NAA 在 0.05～0.20 mg/L的浓度范围内诱导的根粗壮、生长旺盛，且无愈伤组织；当 NAA 浓度为 0.20 mg/L 时，生根系数达到 4.50 mg/L，最大根长为 5.3 cm。而当 NAA 浓度为 0.80 mg/L 时，根较粗，但生长缓慢，且有愈伤组织形成。在低浓度不同生长素的诱导下，生根率均为 100%。只是高浓度的 IBA 和 NAA 有显著的抑制作用（$P<0.05$）；不同浓度的 IBA 及高浓度 IAA 和 NAA 均能形成愈伤组织，而愈伤组织的形成对组培苗的驯化影响较大，几乎不能成活[3]。试验结果表明，盐桦组培苗的生根应使用 0.05～0.20 mg/L 的 NAA。

2.2 培养基配比对盐桦丛生芽生根的影响

从表 3 可以看出，在 MS 与 1/2MS 培养基中，诱导的根粗壮、生长旺盛，但 MS 培养基中的组培苗叶片变黄的情况较严重，1/2MS 培养基中的叶片正常。1/4MS 与 1/8MS 培养基诱导的根细长。1/8MS培养基引起叶片玻璃化。各处理对生根率无影响，对生根系数影响不显著，试验结果表明，应使用1/2MS培养基为宜。

表 2 生长素种类及其浓度对盐桦丛生芽生根的影响

Table 2 The effects of different plant regulator & its concentrations on rooting of *Betula halophila* sprout

生长素种类	浓度 (mg/L)	生根率 (%)	生根系数	最大根长 (cm)	根系特征
IAA	0.05	100 aA	2.6 cB	3.4 bB	细长，生长快
	0.20	100 aA	3.1 bB	3.9 aA	细长，生长快
	0.80	80 bB	0.7 dC	1.2 dC	细长，有愈伤组织
IBA	0.05	100 aA	4.3 aA	2.4 cB	较粗，生长较快，有愈伤组织
	0.20	100 aA	3.2 bB	4.2 aA	细长，生长快，有愈伤组织
	0.80	65 cB	0.9 dC	0.8 dC	细长，生长缓慢，有愈伤组织
NAA	0.05	100 aA	3.3 bB	4.4 aA	粗壮，生长快
	0.20	100 aA	4.5 aA	5.3 aA	粗壮，生长快
	0.80	100 aA	1.4 cC	1.4 cC	较粗，生长缓慢，有愈伤组织

注：不同小写字母表示差异显著（$P<0.05$），不同大写字母差异极显著性（$P<0.01$）。

表 3 不同浓度培养基对盐桦丛生芽生根及叶片生长的影响

Table 3 Effects of different concentrations of MS on rooting of tissue embryo sprout and leaf growing

培养基浓度	生根率(%)	生根系数	根系特征	叶片特征
MS	100	4.1	粗壮，生长快	叶黄严重
1/2MS	100	3.6	粗壮，生长快	叶片正常
1/4MS	100	3.3	较粗，生长快，有气生根	叶片正常
1/8MS	100	2.6	细长，生长慢，有气生根和愈伤组织	叶片玻璃化

2.3 生根培养正交试验

生根培养正交试验结果见表 4。级差分析表明，各因素对平均根长的影响大小依次为 A>B>C，即培养基配比>生长素浓度>蔗糖浓度；对生根系数的影响大小依次为 B>A>C；对生根率的影响大小依次为 B>A>C，即生长素浓度>培养基配比>蔗糖浓度。蔗糖浓度对生根的影响不显著，但高浓度的蔗糖对防止组培苗玻璃化有一定的作用[4]。生长素的浓度极显著地影响生根率，而高浓度的生长素明显抑制根的生长（表 2）。对于根的长度来说，最佳配方为 $A_2B_2C_3$；对于生根系数，最佳配方是 $A_2B_3C_3$；对于生根率，最佳配方为 $A_2B_2C_2$。综合各因素，盐桦组培苗最佳生根配方采用 $A_2B_2C_3$，即 1/2MS，NAA 0.1 mg/L，蔗糖30 g/L。

2.4 不同基质对试管苗移栽成活率的影响

不同基质对炼苗成活率的影响试验结果见表 5。最有利于盐桦无菌苗移栽存活的基质类型为腐殖质土：珍珠岩＝1：1，达到了 64.4%；其次是腐殖质土，最差的是砂，只有 35%，3 个处理的试验结果差异极显著（$P<0.01$）。

表 4　生根培养正交试验 $L_9(3^4)$ 试验结果

Table 4　Results of root cultivating orthogonal experiment $L_9(3^4)$

处理	因素	平均根长 (cm)	生根系数	生根率 (%)
1	$A_1B_1C_1$	2.1	2.6	52.4
2	$A_1B_2C_2$	3.4	3.4	100
3	$A_1B_3C_3$	3.1	3.4	100
4	$A_2B_1C_2$	2.5	1.8	63.2
5	$A_2B_2C_3$	3.6	4.1	98.0
6	$A_2B_3C_1$	3.5	3.9	100
7	$A_3B_1C_3$	1.7	2.1	47.4
8	$A_3B_2C_1$	2.2	3.0	91.7
9	$A_3B_3C_2$	2.3	3.7	89.1

表 5　基质对移栽苗成活率的影响

Table 5　The effect of different stroma on the surviving rate of transplanted sprout

基质	移栽苗数 (株)	成活苗数 (株)	成活率 (%)
砂	40	14	35.0
腐殖质土：珍珠岩(1：1)	45	29	64.4
腐殖土	35	16	45.7

2.5　NaCl 胁迫对盐桦试管苗生长状况的影响

经 30 d 盐胁迫后，各处理统一测定株高，并计算相对增高，试验结果见表 6。

表 6　NaCl 胁迫对盐桦试管苗生长的影响

Table 6　Results of NaCl stress on the growth of tissue embryo sprout of *Betula halophila*

NaCl 浓度 (%)	平均株高(cm)	
	盐胁迫前	盐胁迫后
CK	3.5	6.7
1.1	3.5	9.2
1.3	3.5	7.1
1.5	3.5	5.7
1.7	3.5	死亡

从表 6 的试验结果可以看出，NaCl 浓度为 1.1%的处理盐桦试管苗的生长最好，在此盐浓度下有较强的促进生长的作用。在这样高浓度的条件表现出促进生长的作用，是不符合常理的。因为一般在高渗环境下，某些耐盐生物虽然能正常生长，但常常生长缓慢，该试验结果还有待进一步证实。如果确实如此，可能由于盐桦存在较特殊的耐盐机理。在 1.3%的浓度下仍然表现出一定的促进生长的作用；而在 1.5%的浓度下则表现出抑制生长的作用；1.7%的处理已全部死亡，这与文献[5]中可耐 1.73%的盐浓度不符，这可能与树龄、土壤盐的浓缩效应有关。树龄较大的适应性可能较强；同时，土壤在多次浇盐水的过程中，经蒸发等作用，土壤的盐浓度可能高于所浇盐水的浓度。另外，在配制溶液时，都以 1/10MS 为母液，其总盐度应大于 NaCl 的浓度。各处理的结果相比较，差异极显著（$P < 0.01$）。

从理论上来说[6]，通过无性繁殖改变物种遗传性状的几率是很小的。通过本次试验证明，盐桦试管苗仍然具有较好的耐盐性。

3　小结

研究了培养基配比、植物生长调节剂种类及其不同浓度配比、蔗糖量等因素对诱导盐桦生根的影响，获得了诱导盐桦生根的最佳培养条件，即 1/2MS，NAA 0.10 mg/L，蔗糖 30 g/L。成活的盐桦组培苗仍然具有较强的耐盐能力，没有失去其原有的耐盐性状。

试验证明，采用组织培养的方法繁殖盐桦是完全可行的，但移栽成活率不高，只有 64.4%。要进行商业性快繁，还需进一步提高移栽成活率，降低生产成本和提高生产效率。对盐桦组培苗的耐盐性还需要做更详细的研究。最主要的工作是在含盐量不同的盐碱地上进行实地种植试验。

参考文献：

[1]　顾云春. 中国国家重点保护野生植物现状[J]. 中南林业调查规划，2003，22(4)：1-7.

[2]　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.

[3]　王桂兰，陈超，李伟，等. 红掌叶片愈伤组织和气生根再生团块的细胞学研究[J]. 园艺学报，2006，22(3)：587-591.

[4]　程家胜，史永忠. 苹果组织培养中的玻璃苗问题[J]. 植物生理通讯，1990，(1)：33-35.

[5]　王健. 新疆发现一种抗盐桦树[J]. 植物杂志，2003，(6)：12-13.

[6]　俞世蓉，沈克全. 作物繁殖方式和育种方法[M]. 北京：中国农业出版社，2004.