

# 辽东桤木的组织培养和快繁技术研究

蔡丹, 刘军, 陈红, 恭伟 (四川农业大学林学院园艺学院, 四川雅安 625014)

**摘要** 选用辽东桤木实生无菌苗的带芽茎段进行组织培养。结果表明, 用浓度 75% 的酒精和 0.1% 的升汞分别消毒种子 5 和 20 min 后, 接入附加 5 g/L 葡萄糖的 MS 培养基, 实生无菌苗成活率可达 48%, 且实生苗抽出真叶片数多, 植株健壮; 用 WPM + 6-BA (0.6、1.0) mg/L + NAA 0.1 mg/L + 葡萄糖 30 g/L 作为增殖培养基, 增殖倍数高达 4.2; 用 1/2 WPM + IBA 1.0 mg/L + AC 500 mg/L + 葡萄糖 30 g/L 作为生根培养基, 生根率达 91%; 通过逐步炼苗法炼苗, 炼苗成活率达 93%。

**关键词** 辽东桤木; 组织培养; 快繁技术

**中图分类号** Q943.1 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2006)07-1309-02

## Study on Tissue Culture and Rapid Propagation Techniques of *Alnus sibirica*

CAI Dan et al (College of Forestry and Horticultural, Sichuan Agricultural University, Yaan, Sichuan 625014)

**Abstract** The germfree cauline segments with axillary buds of *Alnus sibirica* was used as explants in tissue culture. The study showed that the best medium for the germination was MS + dextrose 5 g/L and the survival rate of seedling could reach 48%; for multiplication, WPM + 6-BA (0.6 or 1.0) mg/L + NAA 0.1 mg/L + dextrose 30 g/L and the rate of multiplication could reach 4.2 times and for rooting culture, 1/2WPM + IBA 1.0 mg/L + AC 500 mg/L + dextrose 30 g/L and the rate of rhizogenesis could reach 91%. After the plantlets being trained indoor for 23 d and then 37 d outdoor, the survival rate of transplanting could reach 93%.

**Key words** *Alnus sibirica*; Tissue culture; Rapid propagation technique

辽东桤木(*Alnus sibirica* Fisch. ex Turcz.)又名色赤杨, 属桦木科(Betulaceae)桤木属(*Alnus* Mill.)植物, 为 15~20 m 高的乔木, 分布于东北三省和山东省境内, 生长于海拔 200~1500 m 山地林中, 具有耐瘠薄、萌蘖更新快等特点。其材质优良, 用途广泛, 是改良土壤的优良树种。辽东桤木具有较强的抗火、阻火能力, 适合于大面积针叶林内营造防火林带<sup>[1]</sup>。而且该树种作为国家濒危物种草苋蓉(*Boschniakia rossica* Fedtsch. et Flerov)的属间专一性寄主<sup>[2]</sup>, 也有一定的研究价值; 近几年, 四川省凉山州西昌市等地引入该树种栽培, 早期表现良好。但常规育苗速度较慢, 繁殖系数较低, 短期内难以获得大量苗木。通过组织培养可以加快繁殖速度, 在短期内繁殖出大量具有高度一致、优良表形的群体, 且保持通过有性繁殖不能保持的优良个体或性状<sup>[3-5]</sup>。迄今辽东桤木的组织培养和快速繁殖尚未见报道。笔者对辽东桤木的组织培养和快繁技术进行了研究, 以期在生产提供技术支持。

## 1 材料与方法

**1.1 材料** 辽东桤木种子(四川省西昌林业局提供)。

### 1.2 方法

**1.2.1 培养基**。以 WPM、MS 和 1/2 WPM 作为基本培养基, pH 值 5.8~6.0, 琼脂 5.5 g/L。初代培养基: MS/WPM 培养基, 附加葡萄糖 5 g/L。增殖培养基: WPM + 6-BA (0.4、0.6、0.8、1.0、1.2、1.6、1.8)mg/L + NAA 0.1 mg/L, 附加葡萄糖 30 g/L。生根培养基: 1/2WPM + IBA (0.1、0.2、0) mg/L + AC (0、500)mg/L, 附加葡萄糖 30 g/L。

**1.2.2 培养步骤**。将种子放入 4℃ 冰箱中无菌水浸泡 48 h, 75% 乙醇浸泡 (0.5、10 min), 无菌水清洗 3~5 次, 0.1% HgCl<sub>2</sub> 浸泡 (10、20 min), 再用无菌水清洗 3~5 次, 接入初代培养基。每处理接种 30 粒种子, 重复 3 次。

待实生无菌苗长出 4~5 片真叶时, 取带芽茎段接入增殖培养基。培养 40 d 后, 切取大于 1.5 cm 的健壮单苗转入生根培养基。每处理接种 30 个材料, 重复 3 次。

采用逐步炼苗法, 将经 40 d 生根培养, 根系正常的试管苗, 打开瓶口, 在培养箱里培养 7 d, 然后移植到装有基质(蛭石:珍珠岩:泥炭 = 1:1:1)的纸杯中, 放置到温室中进行炼苗。移栽后用间歇喷雾以保持温室的湿度, 而后逐渐增强光照, 降低湿度, 使之与外界的环境相适应, 并移至温室露天进行炼苗。第 3 周开始可以每周施 1 次(N:P:K 为 1:1:1)浓度为 1/1000 的液体复合肥。

**1.2.3 培养条件**。昼温 (25 ± 2)℃, 夜温 (22 ± 2)℃, 光照 14 h/d, 光照强度 1500~2000 lx, 相对湿度 80%。

## 2 结果与分析

**2.1 不同消毒处理及培养基对初代培养的影响** 种子接入初代培养基, 2 d 后有个别种子萌发; 4~5 d 后两片真叶已完全伸展; 20 d 左右可抽出 2~3 片真叶, 但植株细弱, 叶黄绿色; 40 d 左右抽出 3~4 片真叶, 植株相对健壮, 叶色转为浓绿(图 1)。



图 1 实生无菌苗(40 d)

初代培养 40 d 后统计无菌苗生长情况(表 1)。从表 1 可以看出: 各处理污染率都偏高, 酒精消毒时间的长短, 明显影响种子的萌动率, 酒精消毒时间越长, 种子未萌动率越高。在 MS 培养基中生长的实生苗, 较 WPM 培养基中生长的实生苗抽出真叶片数多, 而且植株健壮。所以, 辽东桤木种子的适宜消毒剂及时间为, 在浓度 75% 的酒精中浸泡 5 min, 然后在浓度 0.1% 的升汞中浸泡 20 min。适宜的初始

培养基为 MS 培养基。

表 1 不同消毒处理对初代培养的影响

酒精消毒时间 min	升汞消毒时间 min	未萌动率 %	污染率 %	成活率 %
0	10	26	41	33
5	10	29	35	36
10	10	41	40	19
0	20	34	39	27
5	20	38	21	41
10	20	58	24	18
0	10	25	40	35
5	10	24	37	39
10	10	44	39	17
0	20	36	39	25
5	20	37	21	48
10	20	57	18	25

2.2 6-BA 浓度对增殖的影响 实生无菌苗长出 4~5 片真叶时,取带芽茎段接入增殖培养基。培养 8 d 左右,腋芽开始萌发,并有部分产生愈伤组织;培养 13 d 左右,已有新叶展开;培养 30 d 后单芽明显伸长,并有大量丛芽发生(图 2)。培养过程中,无明显褐化现象。



图 2 继代苗(30 d)

带芽茎段在增殖培养基中培养到 40 d 时统计其生长情况(表 2)。由表 2 可知,外植体的增殖倍数随 6-BA 浓度的升高而升高。但高浓度的 6-BA 促使外植体产生大量愈伤组织(图 3),且产生的丛生芽相对细弱矮小,侧芽的生长也

表 2 6-BA 浓度对增殖的影响

6-BA 浓度 mg/L	增殖 倍数	增殖芽数 率//%	芽苗高度 cm	生根芽生长情况
0.4	2.6	82	3.4	芽细弱为黄绿色,且个别基部有生根现象
0.6	4.1	88	4.2	芽较壮为绿色
0.8	3.9	89	3.9	芽较壮为绿色,基部有少量愈伤组织
1.0	4.3	91	4.1	芽粗壮为绿色,基部有少量愈伤组织
1.2	4.3	85	3.9	芽粗壮为绿色,基部有较多愈伤组织
1.4	4.1	87	2.7	芽较壮为绿色,基部有较多愈伤组织
1.6	4.6	92	1.6	芽较弱为黄绿色,基部有较多愈伤组织
1.8	4.7	89	1.7	芽较弱,基部产生大量愈伤组织

受到抑制,这不利于辽东桤木的良种快繁。相对而言,在 NAA 浓度均为 0.1 mg/L 的情况下,6-BA 浓度为 0.6 和 1.0 mg/L 时,芽增殖系数高,且茎叶均匀,芽苗健壮。将增殖的丛生芽剪下,在相同的培养基上进行继代培养,即可得到大量增殖苗。因此,WPM + 6-BA(0.6、1.0)mg/L + NAA 0.1

mg/L 为辽东桤木增殖的适宜培养基。



图 3 高浓度的 6-BA 促使外植体产生大量愈伤组织

2.3 活性炭和 IBA 浓度对生根培养的影响 切取大于 1.5 cm 的健壮单苗接入生根培养基。6 d 后已有少量单苗生根。培养 30 d 后统计生根情况(表 3)可以看出,当 IBA 浓度为 1.0 mg/L 时生根率较高,根数较多且粗壮;加入 500 mg/L 活性炭后,生根率有所提高且生根启动时间缩短。所以,采用培养基 1/2WPM + IBA 1.0 mg/L + AC 500 mg/L 诱导生根效果最好,生根率达 92%,且生根早,根数多,根粗壮(图 4)。

表 3 活性炭和 IBA 浓度对外植体生根培养的影响

IBA mg/L	AC mg/L	生根率 %	生根启动所 需时间//d	其他
0	0	72	11	根数少而细长
1.0	0	81	8	根数较多且粗壮
2.0	0	67	8	大量侧根且主根粗壮
0	500	79	10	根数较少且细长
1.0	500	92	6	根数多而粗壮
2.0	500	73	6	大量侧根且主根粗壮



图 4 生根苗(30 d)



图 5 炼苗

(下转第 1323 页)

表 3 不同处理分蘖穗对产量的贡献率

处理	I		II		III		IV		V		单株粒重 g	理论产量 t/hm <sup>2</sup>
	粒重//g	占比例//%	粒重//g	占比例//%	粒重//g	占比例//%	粒重//g	占比例//%	粒重//g	占比例//%		
A	8.69	35.9	6.40	26.4	8.89	36.7	0.25	1.0	-	-	24.23	7.26
B	10.12	29.5	6.90	20.1	15.53	45.2	1.81	5.3	-	-	34.36	7.74
C	13.15	25.4	7.93	15.3	23.12	44.6	7.67	14.8	-	-	51.87	7.78
D	19.82	18.6	13.91	13.0	37.66	35.3	30.21	28.3	5.08	4.8	106.68	8.00

### 3 结论与讨论

(1)不同栽植密度下,信杂梗 1 号的分蘖动态和成穗规律都发生了一定变化。在密度较低时,最高分蘖期推迟,有效分蘖期延长,杂交稻个体生长优势得到充分发挥,分蘖成穗率明显提高,单株有效穗大幅度增加,从而构建出在稀植条件下杂交稻获得高产所需要的高质量群体。

(2)栽植密度对信杂梗 1 号分蘖穗的穗部性状的影响较大,低密度种植单株分蘖成穗的每穗总粒数、每穗实粒数、着粒密度得到整体优化,不仅早期分蘖穗的经济性状变优,中后期的分蘖穗的性状也得到明显改观,各期分蘖穗每穗粒数上的差异变小。中后期分蘖数的增加,有效穗的增多和穗部性状的优化,使得稀植栽培不同位次分蘖穗对产量贡献与传统栽培相比发生了质的变化,二次分蘖(主要是Ⅲ、Ⅳ期发生的分蘖)成穗在产量构成中成为决定性的因素。陶诗顺研究了栽植密度为 22.5 万、7.5 万穴/hm<sup>2</sup> 两种栽培方式杂交稻不同来源有效穗对产量的贡献<sup>[2]</sup>,稀植时有效穗对产量的贡献大小顺序是:低位二次分蘖>低位一次分蘖>高位一次分蘖>高位二次分蘖>主茎穗>三次分蘖,也表现出类似的规律。因此,信杂梗 1 号稀植栽培时应当十分重视较高位次分蘖的成穗,在栽培管理上应采取适宜的调控措施,提高其成穗率和成穗质量,发挥其应有的增产作用。

(3)目前杂交水稻大穗型强优势组合的成功选育和推广应用,为稀植栽培奠定了基础;水稻的强化栽培体系(SRI)在广大稻区的应用,使得水稻的栽植密度进一步降低<sup>[3]</sup>。在生产实践中,应根据水稻品种的穗型和分蘖力强弱来选择比较适宜的种植密度,协调好个体发育与群体质量的关系,一般穗型较小或者分蘖力较弱的水稻品种的栽植密度不宜过低;

对穗型中等偏大,分蘖力中等偏上的品种采取稀植栽培更有利于获得较高产量。

(4)对于不同栽植密度水稻的分蘖利用和成穗特性,前人已做了大量的研究,但由于试验材料、密度设计和栽培方式的差异,得出的结论也不尽相同<sup>[4~8]</sup>。试验是在育秧方式和肥水管理上与传统大田管理比较接近的状态下进行,秧苗移栽时叶龄一般在 5.5~6.5 叶,由于移栽植伤,使得栽后稻株的中部一次分蘖未能按同伸规律发生,对稀植栽培的中后期分蘖成穗带来一定影响;在本田期的肥水运筹上也未按照稀植条件下的特殊要求进行管理,稀植所产生的增产优势尚未完全体现,稀植时相应的栽培方式与管理技术有待进一步深入研究和完善。因此,信杂梗 1 号稀植栽培还要与配套栽培措施有机结合起来,如水稻旱育壮秧、两段育秧、小苗早栽,间歇式灌溉、合理增施穗粒肥等技术的综合运用,才能最大程度提高水稻单产。

### 参考文献

- [1] 祁玉良,张淮,张明年.两系亚种间杂交水稻信杂梗 1 号的选育及应用[J].河南农业科学,2003(10):4-6.
- [2] 陶诗顺,马均.杂交水稻强化栽培穗粒结构特点研究[J].杂交水稻,2004,19(6):39-41.
- [3] 袁隆平.水稻强化栽培体系[J].杂交水稻,2001,16(4):1-3.
- [4] 陈惠哲,朱德峰,林贤青,等.稀植条件下杂交稻分蘖成穗规律和穗粒结构研究[J].杂交水稻,2004,19(6):51-54.
- [5] 崔一龙,金明淑,朴哲,等.密度对不同品种水稻生育及产量构成因素的影响[J].延边农学院学报,1996,18(1):37-42.
- [6] 田彦华,牟锦毅,马均,等.杂交水稻中熟组合强化栽培体系(SRI)研究初报[J].杂交水稻,2002,17(6):34-35.
- [7] 张玉明,曹征海,罗春宇,等.不同密度下培矮 64S/E32 分蘖成穗规律观察研究[J].杂交水稻,2002,17(1):41-43.
- [8] 张文香,王成媛.栽培措施对水稻产量和品质的影响[J].中国农学通报,2005,21(12):142-146.

(上接第 1310 页)

**2.4 炼苗与移栽** 采用逐步炼苗法,将经 40 d 生根培养,根系生长正常的试管苗,打开瓶口,在培养箱里培养 7 d,然后移植到装有基质(蛭石:珍珠岩:泥炭=1:1:1)的纸杯中,放置到温室中进行炼苗;15 d 后移至露天进行炼苗;60 d 后统计炼苗情况,炼苗成活率可达 93%(图 5)。

### 参考文献

- [1] 高国平,王忠友,周志权.辽东柞木林抗火机理的研究[J].林业科学研

究,1998,11(5):547-550.

- [2] 杨树春,马俊莹,郭宝英,等.草苋蓉寄生生理的研究[J].特产研究,2003(2):19-23.
- [3] 韩美丽,李雪生,陆荣生.西南桦离体培养再生系统研究[J].广西农业科学,2002(3):122-123.
- [4] 贺宥青,冯改霞,贺小青.林木组织培养的应用与研究[J].河南林业科技,2003,23(1):27-29.
- [5] 蔡国军,朱红斌,陈晓妮,等.三倍体毛白杨组培快繁和工厂化育苗技术研究[J].西北植物学报,2003,23(12):2188-2191.

## 科技论文写作规范——材料与方法

清楚地交代出试验设计、研究对象及研究方法等。研究对象如品种、肥料、农药、土壤、病虫害等名称应交代清楚;还应交代试验必要的范围、重复次数及样本大小。对一般的研究方法注明出处即可,如采用×××方法[2]([2]为在参考文献中的序号)。对于有所改进或新的方法要详细叙述,以便他人重复。