

# 白桦组织培养技术研究

张学英, 刘艳萌, 胡淑明, 张 钢

(河北农业大学 河北 保定 071001)

**摘 要:**以白桦树种子和腋芽为外植体,通过研究培养基中不同植物生长调节剂配比对外植体诱导、芽苗增殖和生根等环节的影响,筛选出适合白桦组织培养的培养基配方。结果表明:以MS为基本培养基,附加蔗糖30 g/L、琼脂6 g/L,适合于白桦种子萌发生长的植物生长调节剂配比为BA 0.2 mg/L+NAA 0.05 mg/L,而BA 1.0 mg/L+NAA 0.05 mg/L适合腋芽诱导,诱导率高达87.0%,而且苗形态好,长势强,BA 1.0 mg/L+NAA 0.05 mg/L的植物生长调节剂配比利于芽苗的增殖,繁殖系数可达到每4周4~5倍,适于芽苗生根的培养基为1/2 MS+NAA 0.05 mg/L,平均生根数为4.5条,最多根数为8条,根系发达,移栽后成活率达90%以上。

**关键词:**白桦;组织培养;植物生长调节剂

**中图分类号:**S 722.37 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2008)08-0176-03

随着社会的发展,园林绿化水平已成为评价城市物质文明和精神文明程度的重要标志<sup>[1]</sup>。白桦树(*Betula platyphylla* Suk)是落叶乔木,树皮白色,多层纸状剥落,枝叶稀疏,姿态优美,适合我国北方作为行道树和园林风景树种<sup>[2,3]</sup>。由于植物组织培养技术具有培养条件可以人为控制、生长周期短、繁殖率高、管理方便、利于自动化控制等优点<sup>[4]</sup>,因此,利用组织培养技术可以满足园林绿化所需的大量苗木,解决育苗圃占用空间大、繁殖系数低、费时费力等问题<sup>[5]</sup>。但桦树的组织培养起步较晚,1974年,芬兰的Huhtinen和Yahyabghu首次报道了利用幼苗进行欧洲白桦(*Betula Pendula* Roth.)的组织培养,日本、加拿大、美国也相继进行了研究<sup>[6,7]</sup>,而国内关于桦树的组培研究较少<sup>[8-10]</sup>。试验用白桦的腋芽和种子为外植体进行培养,以建立较完善的再生体系,为桦树的组培快繁及其遗传转化研究奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

白桦种子及腋芽,取自张家口。

### 1.2 方法

**1.2.1 培养基的制备** 诱导培养基采用MS基本培养基(蔗糖30 g/L,琼脂6 g/L),附加不同浓度的BA和

NAA,共设10个处理(表1)。在诱导培养的基础上,适当调整,做继代培养基。生根培养基采用1/2 MS培养基(蔗糖20 g/L+琼脂5 g/L),附加不同浓度的NAA,共设3个处理,分别为0.02 mg/L、0.05 mg/L和0.1 mg/L。灭菌前将培养基的pH值调至5.8,封口后高压灭菌(121℃,20 min),冷却凝固后备用。

**1.2.2 材料消毒与接种** 将种子和腋芽先用自来水冲洗20 min,然后在洁净工作台上,用75%乙醇浸泡30 s,再用0.15%的氯化汞(加1~2滴吐温)处理10 min,最后用无菌水冲洗4~5次。接种到不同处理的诱导培养基中。每瓶接种3个芽,每个处理接6瓶,种子每瓶10粒,每个处理接3瓶,各设3次重复。

**1.2.3 培养** 接种的种子先暗培养,萌动后再转到光/暗周期12h/12h条件下培养,接种的芽直接在光/暗周期12h/12h条件下培养。培养温度:(24±2)℃,光照度2 100~2 200 lx。待萌发展叶后,继代培养。芽苗长到2~3 cm时,选取生长健壮的芽苗接种于生根培养基中诱导生根。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同的植物生长调节剂比对种子培养的影响

培养基中植物生长调节剂配比不同,种子的发芽率和生长状态不同(表1),在处理2(BA 0.2 mg/L+NAA 0.05 mg/L)中,接种1周后种子开始发芽,1个月后,统计发芽率,该处理发芽率最高,为25.6%,而且幼苗的生长状态也最佳。在处理3和10这2个处理中,种子的发芽率也较高,分别为15.6%和18.9%,但幼苗长势弱小或徒长。处理1、5、8种子发芽率极低。其它处理有不同程度的发芽,但发芽率均较低。因此,试验认为,适合于白桦种子萌发生长的植物生长调节剂配比为BA

第一作者简介:张学英(1972-),女,博士,副教授,主要从事园艺植物育种学教学和果树生物技术研究工作。E-mail:zhxy97421@yahoo.com.cn

通讯作者:张钢。E-mail:zhanggang1210@126.com。

基金项目:河北农业大学留学回国人员科研启动基金资助项目(200406)。

收稿日期:2008-02-27

0.2 mg/L+NAA 0.05 mg/L。

表 1 培养基中不同植物生长调节剂配比  
对种子培养的影响

处理 序号	BA / mg · L <sup>-1</sup>	NAA / mg · L <sup>-1</sup>	发芽率 / %	生长状态
1	0	0	1.1	苗细弱
2	0.2	0.05	25.6	发芽最早 有嫩根 苗高 3~4 cm 左右
3	0.5	0.05	15.6	苗小 子叶肥大
4	1.0	0.05	12.2	愈伤组织多, 苗高 1~2 cm
5	2.0	0.05	2.2	愈伤组织多, 苗小
6	0.5	0.10	11.1	有少量愈伤组织 苗细弱
7	1.0	0.10	8.9	有愈伤组织, 苗高 2~3 cm, 子叶较黄
8	2.0	0.10	3.3	有愈伤组织, 苗小
9	0.5	0.20	11.1	有少量愈伤组织 苗高 1~2 cm
10	1.0	0.20	18.9	有愈伤组织, 苗较高, 子叶很小

2.2 不同植物生长调节剂配比对腋芽诱导的影响

由表 2 可见, 在所设 10 个处理组合中, 处理 4: 植物生长调节剂组合为 BA 1.0 mg/L+NAA 0.05 mg/L 时, 芽的诱导率最高, 为 87.0%, 其次是处理 5 从芽苗生长状态来看, 处理 4 的芽苗长势最好, 鳞芽片展开, 苗较高, 叶色鲜绿。处理 5 中芽苗长势也较好, 但苗较矮。处理 7 中芽苗分化率也较高, 但芽苗叶色发黄。诱导率最低的是未加任何植物生长调节剂的处理 1, 仅为 31.5%。由此认为, 适合白桦腋芽诱导的植物生长调节剂配比为 BA 1.0 mg/L + NAA 1.0 mg/L。

表 2 不同植物生长调节剂配比对腋芽诱导的影响

处理 序号	BA / mg · L <sup>-1</sup>	NAA / mg · L <sup>-1</sup>	诱导率 / %	生长状态
1	0	0	31.5	芽萌动 叶片展开, 苗生长弱
2	0.2	0.05	46.3	苗弱小
3	0.5	0.05	53.7	苗较弱 叶片展开, 叶色浓绿
4	1.0	0.05	87.0	苗健壮 叶色鲜绿
5	2.0	0.05	68.5	叶形态好, 但苗较矮
6	0.5	0.10	42.6	苗形态不好
7	1.0	0.10	77.8	苗生长状态较好, 但叶色浅
8	2.0	0.10	64.8	基部有愈伤, 叶片黄
9	0.5	0.20	35.2	苗细弱 多不正常
10	1.0	0.20	42.6	叶片肥大

2.3 继代培养

在诱导培养中, 4、5、7、8 号处理诱导分化率较高, 因此, 以这 4 个处理为继代培养基探讨它们对芽苗增殖的影响。结果表明, 处理 5 (BA 2.0 mg/L + NAA 0.05 mg/L) 既有增殖生长又有伸长生长, 增殖率最高, 繁殖系数可达到每 4 周 4~5 倍, 处理 4 和处理 7 仅有伸长生长, 处理 8 有增殖生长, 但芽苗伸长较少, 而且基部愈伤组织多。因此, 试验认为, BA 2.0 mg/L+NAA 0.05 mg/L 的植物生长调节剂组合适合白桦芽苗的增殖培养。

2.4 生根培养

当芽苗生长至 4~5 片叶, 苗高大于 2 cm 时, 将其接种在附加不同浓度 NAA 的 1/2 MS 培养基上进行生

根培养, 结果发现, 15 d 即可诱导出不定根, 进一步培养可形成完整植株。而且在 NAA 浓度为 0.02~0.1 mg/L 范围内, 生根率均达到 90% 以上(表 3)。当 NAA 为 0.05 mg/L 时, 平均生根数为 4.5 条, 最多根数为 8 条, 根系发达; NAA 为 0.02 mg/L 时, 平均生根数为 2.6 条, 根系发育较弱; 当 NAA 为 0.1 mg/L 时, 生根率反而有所下降 根系较粗短。因此, 尽管 NAA 浓度在 0.02~0.1 mg/L 范围内, 芽苗生根率均较高, 但综合生根数和根系的生长状态, 认为适合白桦组培苗生根的培养基为 1/2 MS+NAA 0.05 mg/L。

表 3 不同浓度 NAA 对根诱导的影响

NAA 浓度/ mg · L <sup>-1</sup>	平均生根数	生根率/ %
0.02	2.6	91.6
0.05	4.5	96.7
0.1	3.7	93.4

2.5 试管苗移栽

将根系发育良好的试管苗取出, 用清水洗掉根上附着的基础基, 移植于装有腐熟锯末 : 土 : 沙 (3 : 1 : 1) 混合基质的营养钵中, 用 0.1% 的多菌灵水浇透 置于温室, 注意遮荫保湿, 湿度控制在 90% 左右。以后每隔 1 d 喷 1 次多菌灵水, 经过 2 周左右, 新叶长出, 成活率在 90% 以上。

3 结论

建立了适用于白桦种子和腋芽为外植体的再生体系, 以 MS 为基本培养基 附加蔗糖 30 g/L、琼脂 6 g/L, 适合于白桦种子萌发生长的植物生长调节剂配比为 BA 0.2 mg/L+NAA 0.05 mg/L; 适合白桦腋芽诱导的是 BA 0.5 mg/L + NAA 1.0 mg/L; 利于芽苗的增殖的植物生长调节剂配比为 BA 1.0 mg/L+NAA 0.05 mg/L; 适于芽苗生根的培养基为 1/2 MS+NAA 0.05 mg/L。

参考文献

[ 1 ] 苏金乐. 园林苗圃学[ M ]. 北京: 中国农业出版社, 2003: 1-6.  
[ 2 ] 郑万均. 中国树木志[ M ]. 北京: 中国林业出版社, 1983.  
[ 3 ] 孙立元, 任宪威. 河北树木志[ M ]. 中国林业出版社, 1997: 106-110.  
[ 4 ] 李浚明. 植物组织培养教程[ M ]. 北京: 北京农业大学出版社, 1992.  
[ 5 ] 陈正华. 木本植物组织培养及应用[ M ]. 北京: 高等教育出版社, 1986: 24-27.  
[ 6 ] 陶静, 闫淑兰, 刘丹, 等. 国内外桦树育种和遗传转化研究的现状及前景展望[ J ]. 吉林林业科技, 1998(3): 33-37.  
[ 7 ] Ryyanen L, Ryyanen M. Propagation of adult curly-birch succeeds with tissue culture[ J ]. Silva Fennica 20(2): 139-147.  
[ 8 ] 陶静, 詹亚光, 姜静, 等. 白桦组培再生系统的研究(I) [ J ]. 东北林业大学学报, 1998, 26(5): 6-9.  
[ 9 ] 詹亚光, 陶静, 杨传平, 等. 白桦组培再生系统的研究(II) [ J ]. 东北林业大学学报, 1998, 26(6): 1-5.  
[ 10 ] 陶静, 詹亚光, 由香玲, 等. 白桦组培再生系统的研究(III) [ J ]. 东北林业大学学报, 1998, 26(6): 6-9.

# 黄桃新品种‘黄金冠’亲缘关系分析研究

孟庆杰, 王光全

(聊城大学 生命科学院, 山东 聊城 252059)

**摘 要:** 采用聚丙烯酰胺凝胶电泳, 研究了黄桃新品种‘黄金冠’与‘锦绣’桃过氧化物酶同工酶谱的数量和活性相对含量, 结果表明: ‘黄金冠’与‘锦绣’的过氧化物酶同工酶谱酶带数量相同, 级别相似。与其它品种比较, 不同器官间酶带的数量、级别、活性相对含量都存在着较为明显的差异, 说明黄金冠和锦绣的同源性较强, 亲缘关系较近。同时, ‘黄金冠’与‘锦绣’在过氧化物酶同工酶谱上, 酶活性有差异, 证明黄金冠已不同于锦绣, 在遗传上发生了变异。该研究对于桃品种分类、选育及生产应用等具有一定的参考价值和借鉴意义。

**关键词:** 黄桃; 品种; 亲缘关系

**中图分类号:** S 662.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2008)08-0178-03

自 20 世纪 60 年代起, 我国选育出的罐藏黄桃‘丰黄’、‘黄露’、‘锦绣’等品种, 以及从国外引进的‘金童’、‘罐 5’等罐藏系列黄桃品种由于果实有红晕, 近核处红色素增加, 加工品质及其利用率低, 渐渐在国际市场上失去竞争优势。而黄桃罐头是国际市场畅销产品, 鲜食黄桃果实营养丰富、香味浓、耐储运。因此, 针对目前我国加工桃品种资源短缺及现有品种存在的缺点, 选育综合性状优异的罐藏、鲜食兼用黄桃新品种是当前生产急需, 也是桃育种的主要方向之一。同时, 对实生选育的品种进行亲缘关系的鉴定, 了解遗传性状变异特点和变

化规律, 在进行新品种选育及其优势利用等方面亦具有重要意义。

黄桃新品种‘黄金冠’(原名‘聊黄’)是聊城大学生命科学院于 20 世纪 90 年代中期从山东省平邑县引种栽培的‘锦绣’黄桃自然杂交实生种中选出的罐藏、鲜食兼用黄桃优系, 经多年在山东、江苏的多点区域试验和生产栽培, 性状稳定, 综合性状表现优良。2006 年 9 月通过山东省科技厅组织的专家鉴定。

‘黄金冠’桃易成花, 花粉量大, 自花结实力高, 早期丰产性极强。嫁接苗栽后第 2 年结果, 株产 6.6 kg 左右, 667 m<sup>2</sup> 产量第 3 年为 1 655 kg, 第 4 年为 3 014 kg。果实近圆形, 中大匀称, 平均单果重 167 g, 最大果重 275 g。果皮色泽金黄, 向阳面有红晕亦呈金黄色。果肉金黄色, 近核处无红色素, 肉质细, 韧性强, 属不溶质类型。果实硬度大, 加工可采期长, 可达 25 d 以上。果实含可溶性糖 12.5%~14%。风味酸甜, 有浓郁的杏香

**第一作者简介:** 孟庆杰(1960-), 女, 副教授, 主要从事植物功能及果树新品种的选育研究工作。E-mail: wgq@lcu.edu.cn

**基金项目:** 国家自然科学基金资助项目(306771242); 聊城大学重点科研基金资助项目(X061006)。

**收稿日期:** 2008-02-23

## Study on the Tissue Culture of *Betula platyphylla* Suk.

ZHANG Xue-ying, LIU Yan-meng, HU Shu-ming, ZHANG Gang

(Agricultural University of Hebei, Baoding, Hebei 071001, China)

**Abstract:** This study took seeds and axillary buds of *Betula platyphylla* Suk as explants, the effects of different plant growth regulator on induction and multiplication and rooting of plantlet were researched. The optimal medium for *Betula platyphylla* Suk was selected. The main results were as follows: The basic medium was MS supplemented with sugar 30 g/L+agar 6 g/L, was the optimal medium. For seed induction was BA 0.2 mg/L+NAA 0.05 mg/L, BA 1.0 mg/L+NAA 0.05 mg/L was the optimal medium. For axillary buds induction, and induction rate was 87.0%. The optimal multiplication medium was BA 1.0 mg/L+NAA 0.05 mg/L, the optimal medium for rooting was 1/2 MS+NAA 0.05 mg/L, and the average number of root was 4.5, then transplanted. The survival rate of them was above 90%.

**Key words:** *Betula platyphylla* Suk; Tissues culture; Plant growth regulator