

## 欧洲白桦优良无性系试管苗生根与移栽的研究

王进茂<sup>1</sup>, 杨敏生<sup>1</sup>, 杜克久<sup>1</sup>, 刘素洁<sup>1</sup>, G. Naujoks<sup>2</sup>

(1. 河北农业大学 林学院, 河北 保定 071000; 2. Federal Research Centre of Forestry and Forest Products, Institute for Forest Genetics and Forest Tree Breeding, Eberswalder Chaussee 3, D-15377 Waldsiedersdorf, Germany)

**摘要:**欧洲白桦各无性系试管苗诱导生根的能力从易到难依次为: 2/86、1/86、4N、G1; 以 1/2MS 为基本培养基。对于无性系 4N, 单独使用 NAA ( $0.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 比单独使用 IBA 和同时使用 NAA 与 IBA 更有利于试管苗不定根诱导;  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  NAA 与  $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  IBA 配合使用, 诱导无性系 1/86、2/86 的试管苗生根, 效果最佳。白桦试管苗木质化程度越高, 其生根率有下降的趋势。试管苗移栽采用腐殖土: 细沙: 园土 (1: 1: 1) 或腐殖土: 园土 (2: 1) 作栽培基质效果较好。试管苗在生根培养基上培养的天数以及生根试管苗的生长状况对移栽成活率影响明显, 试管苗不定根伸长最快的时期, 移栽成活率最高。

**关键词:**欧洲白桦; 试管苗生根; 移栽

**中图分类号:** S 792.153

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1001-7461(2005)04-0067-05

Studies on Rooting in Vitro and Transfer of *Betula pendula*

Superior Clones from Germany

万方数据

WANG Jin-mao<sup>1</sup>, YANG Min-sheng<sup>1</sup>, DU Ke-jiu<sup>1</sup>, LIU Su-jie<sup>1</sup>, G. Naujoks<sup>2</sup>

(1. College of Forestry, Agricultural University of Hebei, Baoding, Hebei 071001, China;

2. Federal Research Centre of Forestry and Forest Products, Institute for Forest Genetics and Forest Tree Breeding, Eberswalder Chaussee 3, D-15377 Waldsiedersdorf, Germany)

**Abstract:** It has been proposed that there were many factors affecting *Betula pendula* clone seedling rooting in vitro. Genotype is an important factor which influence the ability of shoot rooting. The results demonstrated that clone 2/86 had the highest rooting ability, while G1 had the lowest rooting ability among all the tested materials. 1/2 MS medium was the most suitable for multiplied shoot rooting. For the clone 4N, NAA alone was enough to induce multiplied shoot rooting and the suitable concentration of NAA was  $0.3 \text{ mg/L}$ . Whereas for the clone 1/86 or 2/86, 1/2 MS medium supplemented with  $0.1 \text{ mg/L}$  NAA and  $0.1 \text{ mg/L}$  IBA was optimum. Percentage of rooting is related to wooden level of *B. pendula* seedling, and the more the wooden, the less the percentage of rooting. The plantlets in vitro were finally transferred to soil with 1/3 humus soil + 1/3 sand + 1/3 stand soil or 2/3 humus soil + 1/3 stand soil. The days when plantlets cultured in rooting medium and growth status of the rooting plantlets were key factors to improve the survival rate of plantlets. The highest survival rate of transplant was in the period of quickest elongating of adventitious root.

**Key words:** *Betula pendula*; rooting in vitro; transfer

白桦(*Betula pendula*)为桦木科落叶乔木,我国有 31 种 6 变种,东北、华北、西南、青海、西藏等地均有分布,在世界范围内,主要分布在东北亚与北欧一

些国家<sup>[1]</sup>。白桦生长速度快,木材材质优良,可做胶合板材、纸浆材、工艺材、家具材、航空用材等。20 世纪 80 年代以后,国际白桦木材的消费量呈持续上升

收稿日期: 2004-12-23

基金项目: 中德合作项目“欧洲白桦、刺槐等用材阔叶树种引种、微繁殖及气候适应性研究”(2002~2005)

作者简介: 王进茂(1969-),男,河北深州人,副教授,主要从事林业生物技术方面的研究。

的趋势<sup>[2]</sup>。芬兰、加拿大等国家先后对白桦的组织培养、体细胞胚诱导及原生质体培养进行了研究,并实现了个别树种的商品生产<sup>[3,4]</sup>。现在北欧一些国家已经将研究重点放在对白桦木材材质的研究上<sup>[2,4]</sup>。“九五”期间,我国白桦组织培养的研究取得了突破性进展,分别从培养基和外植体的选择、激素的影响、内源激素的变化等多个方面对白桦的再生体系进行了系统的研究<sup>[5~10]</sup>。本文以从德国引进优良用材白桦无性系(1/86、2/86)及三倍体白桦(G1)和四倍体白桦(4N)为试材,对白桦优良无性系组培快繁过程中试管苗的生根与移栽进行了研究。

1 材料与方法

1.1 材料

以优良白桦无性系 1/86、2/86、G1、4N 组培苗

为材料。1/86 和 2/86 为德国林木遗传育种研究所从具有优美曲纹纹理材质的欧洲白桦变种(*Betula pendula* var. *carelica*)和直干速生欧洲白桦(*Betula pendula*)的杂交子代试验林中选出的,具有速生直干和优美曲纹纹理材质的特性。

1.2 生根培养

从 4N、G1、1/86、2/86 无性系壮苗培养阶段的无菌试管苗中,选取生长状况一致的试管苗,剪取 1.5~2.0 cm 茎尖(有 3~4 片完全展开叶),接种在不同处理的生根培养基上(表 1),观察记录生根情况,并对结果进行统计分析,确定适于白桦各无性系试管苗生根的最佳培养基及激素、蔗糖的最佳浓度。将茎尖按照生长状况分为 3 级:

I 级 叶片浓绿、厚,宽 $\geq 1.0$  cm;茎直径 $\geq 0.8$  mm,木质化程度高。

表 1 实验用培养基

Table 1 The medium of treatment

培养基号	基本培养基	外源激素浓度/mg·L <sup>-1</sup>		培养基号	基本培养基	外源激素浓度/mg·L <sup>-1</sup>	
		NAA	IBA			NAA	IBA
万前数据	WPM	0.3	—	B7	1/2MS		0.3
B2	1/2WPW	0.3	—	B8	1/2MS	0.1	0.1
B3	MS	0.3	—	B9	1/2MS	0.3	0.1
B4	1/2MS	0.1	—	B10	1/2MS	0.5	0.1
B5	1/2MS	0.3	—	B11	1/2MS	0.1	0.3
B6	1/2MS	0.5	—	B12	1/2MS	0.1	0.5

II 级 叶片鲜绿、较薄,宽 0.5~1.0 cm;茎直径 0.5 mm~0.8 mm,半木质化。

III 级 叶片鲜绿、较薄,宽 0.3~0.5 cm;茎直径 $\leq 0.5$  mm,未木质化。

分别接入生根培养基中,每个处理 6 瓶,每瓶接 5 个茎尖,20 d 后统计生根情况。

1.3 生根试管苗的移栽

4~5 月份,将已生根的试管苗在日光下炼苗 2~3 d 后,在荫棚内移栽到不同的营养杯中(表 2),扣上小拱棚,注意土壤和棚内杀菌,保持空气湿度在

90%以上,温度 20~25℃,20 d 后练苗。最后统计移栽成活率,观察苗木生长状况。表 3 为生根试管苗的分级标准。

表 2 栽培基质成分

Table 2 Component of planting

编号	腐殖土	细沙	园土	蛭石
C <sub>1</sub>	1	1	1	—
C <sub>2</sub>	1	1	—	1
C <sub>3</sub>	1	—	1	1
C <sub>4</sub>	2	—	1	—

表 3 生根试管苗分级标准

Table 3 Grade standard of rooted plantlets

分类	根数/条	根长/cm	苗高/cm	苗茎直径/mm	叶片数/片	叶片颜色	茎木质化程度
I 级	$\geq 5$	$\geq 1.5$	$\geq 2.5$	$\geq 0.8$	$\geq 5$	深绿	高
Ⅱ级	3~5	1.0~1.5	2.0~2.5	0.5~0.8	4~5	嫩绿	中等
Ⅲ级	$\leq 3$	$< 1.0$	$< 2.0$	$\leq 0.5$	3	绿	低

上述培养基中均含有1%蔗糖,0.6%琼脂,灭菌前pH调至5.8。组培室培养条件:温度25±3℃,光照1500~2000 lx,光照时间15 h/d。

2 结果与分析

2.1 基本培养基对白桦试管苗生根的影响

以白桦无性系4N为试材,取其茎尖转入B1、B2、B3、B5 4种生根培养基中,结果表明,培养30 d后,在4种培养基上,试管苗生根率均达95%以上,1/2WPM、1/2MS可达100%,但试管苗生根的快慢、生长状况有较大差异(图1、表4)。WPM、1/2WPM培养基上试管苗的生根主要集中在6~10 d,1/2MS生根略晚,生根高峰期在7~12 d,三者在20 d时生根率基本达到最高峰,侧根开始生长;MS诱导试管苗生根最早,没有出现生根较集中时期,在5~25 d持续增加。WPM、1/2WPM两种培养基生根快,生根率也高,但生根试管苗的生长状况较差,有1/3的苗黄化,个别植株死亡;MS培养基上,试管苗节间长、植株高且茎较细,根短,无侧根且条数少。1/2MS培养基生根率高,生根植株生长健壮,没有黄化现象,为白桦无性系4N最适宜生根培养基。

表4  白桦无性系4N在不同培养基上的生根生长情况<sup>①</sup>

Table 4  Growth and rooting of the clone 4N shoot rooting cultivated in different medium

培养基	生根率/%	苗高/cm	茎粗/cm	根条数/条	根长/cm	黄化株数/株
WPM	96	2.4	0.6	6	2.4	12
1/2WPW	100	2.5	0.7	5	2.4	10
MS	96	3.0	0.5	3	0.4	5
1/2MS	100	2.6	0.7	5	2.5	0

①样本数为30。

表5  不同外源激素及浓度对试管苗生根的影响<sup>①</sup>

Table 5  Effect of kinds and concentration of hormone on the clone 4N shoot rooting

培养基号	外源激素浓度/mg·L <sup>-1</sup>		生根率/%		培养20 d时生长状况				
	IBA	NAA	15d	20d	根数/条	根长/cm	侧根*	苗高/cm	苗长势
B4		0.1	73.3	93.3	2	0.6	1	2.6	叶绿,茎粗
B5		0.3	90.0	100.0	6	1.1	3	2.6	叶片深绿,苗健壮
B6		0.5	86.7	100.0	4	0.8	1	2.5	嫩绿,长势一般
B7	0.3		80.0	95.0	3	0.3	2	2.3	深绿,苗健壮
B8	0.1	0.1	92.0	96.0	3	0.7	2	2.2	深绿,苗健壮
B9	0.1	0.3	80.0	92.0	4	0.7	1	2.1	深绿,苗健壮
B10	0.1	0.5	66.7	93.1	3	0.9	0	2.1	叶绿,苗弱
B11	0.3	0.1	92.0	100.0	3	1.0	1	2.0	叶绿,茎细弱
B12	0.5	0.1	73.3	90.0	5	0.5	2	2.2	绿,长势一般

①按侧根多少将侧根生长情况分为4级:0级:无侧根;1级:1~5条侧根;2级:5~10条侧根;3级:10条以上侧根。下表相同。

2.3 基因型对试管苗生根的影响

分别以培养基B5、B8为白桦各无性的生根培

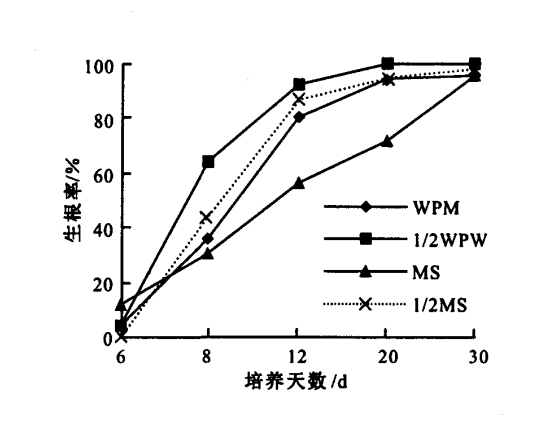


图1  基本培养基对四倍体白桦生根的影响  
Fig. 1  Effect of different medium on the clone 4N shoot rooting

2.2 不同外源激素及浓度对白桦试管苗生根的影响

将白桦无性系4N茎尖转入添加不同生长素的生根培养基中。从表5可以看出,在9种培养基中,经20 d培养均能获得90%以上的生根率,这也说明白桦试管苗生根对激素有较强的适应性。B5、B8、B11培养基诱导生根较快,15 d生根率可达90%。无论是从生根条数、生根速度、苗高、根长,还是试管苗的生长情况,B5培养基即附加NAA0.3 mg·L<sup>-1</sup>对白桦无性系4N的生根诱导效果最佳。同时,表5还表明,单独使用NAA比只用IBA和同时使用NAA与IBA更有利于白桦试管苗不定根的诱导。

养基,研究基因型对试管苗生根的影响(表6)。实验表明,各无性系在两种培养基上表现类似。不同基因

型的白桦试管苗生根能力不同,1/86、2/86 生根能力最强,在培养基 B8 上 9 d 时生根率即高达 100%;各无性系诱导生根的速度、生根率按顺序排列为:2/86、1/86、4N、G1。2/86、1/86 诱导产生的不定根,其根长、根数、侧根数量均较多,4N 略好于 G1,G1 诱导生根所需时间最长。另外,由表 6 也能看出,1/86、2/86 在培养基 B8 上生根时间较集中,这样利于管理;4N、G1 则在培养基 B5 上表现较好。

表 6 基因型对生根的影响  
Table 6 Effect of genotype on rooting

培养基号	无性系	生根率/%				生长状况(20 d)			
		7 d	9 d	12 d	15 d	根数/条	根长/cm	侧根	苗高/cm
B5	1/86	40.0	73.3	80.0	100.0	4	2.5	2	3.3
	2/86	73.3	80.0	93.3	100.0	4	2.5	3	3.0
	4N	13.3	46.7	73.3	93.3	5	0.8	1	2.0
	G1	6.7	26.7	66.7	93.3	2	2.3	3	2.7
B8	1/86	56.0	100.0	100.0	100.0	5	2.2	2	3.5
	2/86	63.3	100.0	100.0	100.0	5	1.8	3	3.2
	4N	4.0	44.0	64.0	92.0	3	0.5	0	2.1
	G1	0	8.0	36.0	84.0	2	0.8	1	2.5

2.4 试管苗生长状况与生根的关系

将白桦无性系 4N 试管苗茎尖按照生长状况分为 5 级(表 3),分别接入生根培养基 B5,结果表明(表 7),木质化程度高的 I 级苗生根较慢,且生根率

低,II、III 级苗生根率高。结合生根苗的生长状况,II 级苗表现最好,不仅根的条数多,且苗生长健壮。III 级苗生根率虽高,但幼苗生长较弱。I 级苗不仅生长较弱,而且还有黄化枯死现象。

表 7 茎尖生长状况对生根的影响

Table 7 Growth condition of different grade shoot in rooting medium

嫩茎分级	不同培养天数生根率/%				20 d 生长状况			
	7 d	9 d	12 d	20 d	苗高/cm	根数/条	根长/cm	黄化株数
I	4.2	38.0	65.0	75.0	1.5~2.0	2~3	0.6~1.0	15
II	10.0	55.0	80.0	100.0	1.7~2.5	4~5	1.0~1.5	1
III	14.0	73.0	91.2	98.0	1.5~2.0	2~4	0.5~0.9	0

2.5 生根试管苗的移栽

2.5.1 基质对移栽成活率的影响 选择苗高 3~4 cm,木质化程度一致,有 3 片以上叶片,3~5 条根,生长健壮的白桦无性系 2/86 生根试管苗,移栽到不同基质中(表 2),5 周后成活率基本趋于稳定,C1、C4 的成活率均在 90%以上,优于其他二者(图 2),且苗木生长健壮,70%开始展叶生长。因此,C1 或 C4 即腐殖土:细沙:园土(1:1:1)或腐殖土:园土(2:1)对试管苗移栽效果最佳。腐殖土营养丰富,细沙通透性好,利于白桦试管苗生长,发新根率高,根量多。

2.5.2 苗木生长状况与移栽成活率的关系 将白桦各无性系生根试管苗按生长状况分为 3 个等级,分别进行移栽,统计成活率(图 3)。虽然前 4 周成活率都

稳定在 90%左右,但这不一定代表白桦生根试管苗真正成活。只有成活率连续 2 周内不再下降时,才能认为白桦生根试管苗真正移栽成活。据观察,要判断白桦无性系 1/86、2/86 生根试管苗移栽是否成活需 3 周的时间,G1 需 4 周,4N 则需 5 周。在 4N 不同等级试管苗中,II 级苗成活率最高,一直稳定在 97%,III 级苗成活率次之,I 级苗成活率最低,为 79%。进一步研究表明,移栽成活率在一定程度上与移栽试管苗根的活动状态有关,I 级苗茎的木质化程度高,叶片数多,根较长,但其根的生命活动不如 II 级和 III 级苗,据测算,II、III 级试管苗在瓶内根的日生长量可达 0.4 cm,为 I 级苗的 3~4 倍。另外由于 I 级苗根较长,移栽时容易造成过根现象,这样更加限制了根的活动,因此 I 级苗的移栽成活率相对较低。

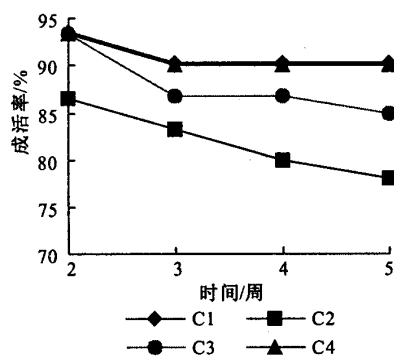


图 2 试管苗在不同基质中前 5 周的成活率  
Fig. 2 The survival rate of the birch plants five week after transfer to different soils

如果将上述情况与试管苗在生根培养基中培养的时间结合在一起,可以看出,培养 10~12 d 的试管苗移栽成活率最高,其次为 20 d 的,随着培养天数的增加,移栽成活率反而降低。

3 结论与讨论

试验结果表明,诱导白桦无性系 1/86、2/86、4N、G1 不定根的发生,其最合适的培养基、激素种类、浓度的配比均存在差异,2/86、1/86 比 4N、G1 诱导不定根较容易。同一品种不定根的形成能力与试管苗的发育程度密切相关,不定根发生的首要条件是必须存在具有分裂能力的细胞<sup>[11]</sup>。白桦无性系木质化程度高的 I 级试管苗的生根率较低,植株黄化萎蔫,和试管苗基茎的细胞分裂能力弱有关<sup>[12]</sup>。樊国盛在西南桦(*Betula alnoides*)组织培养中也有类似报道<sup>[13]</sup>。在胡杨试管苗生根过程中,同样存在这种现象,叶片浓绿、节间短的老态试管苗在诱导生根过程中易黄萎,生根率低<sup>[14]</sup>。

不同的植物对培养基的要求不一样,DKW 培养基在核桃离体培养中是最常用的培养基,可是却不适用于黑核桃(*Neumanetal*, 1993)<sup>[15]</sup>。有时即便是同一种植物,外植体不同或所处的发育时期不同、要求不同,则适宜的培养基也不同。詹亚光等<sup>[7,8]</sup>的研究表明,诱导白桦离体嫩茎不定根分化的适宜培养基是 1/2MS。本实验表明,不同基本培养基对白桦试管苗生根的诱导能力不同,WPM、1/2WPM、MS 以及 1/2MS 培养基均能诱导试管苗分化不定根,以 1/2MS 培养基效果最好。

研究表明,诱导白桦各无性系嫩茎生根,只需添加低剂量的生长素即可,不同的无性系对激素的种类和浓度的要求不同。石福臣等研究认为,0.02~

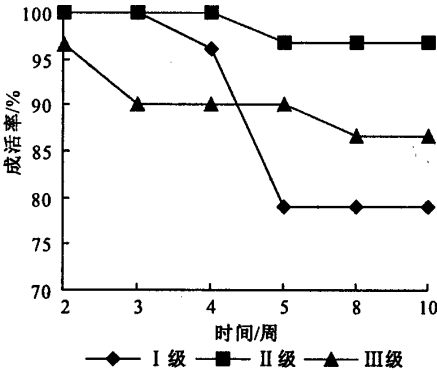


图 3 不同生长状况的白桦试管苗移栽成活率  
Fig. 3 The survival rate of different grade birch plants ten week after transfer to soils

0.2 mg · L<sup>-1</sup>NAA 适宜白桦试管苗生根<sup>[9]</sup>。陶静<sup>[8]</sup>则倾向于使用 0.2 mg · L<sup>-1</sup>IBA。本研究认为,对于无性系 4N,单独使用 NAA 比单独使用 IBA 和同时使用 NAA 与 IBA 更有利于试管苗不定根诱导,NAA 的最适浓度为 0.3 mg · L<sup>-1</sup>,而诱导无性系 1/86、2/86 的试管苗生根,0.1 mg · L<sup>-1</sup>NAA 与 0.1 mg · L<sup>-1</sup>IBA 配合使用效果最佳。

白桦试管苗移栽采用腐殖土:细沙:园土(1:1:1)或腐殖土:园土(2:1)效果较好。移栽成活率在在一定程度上与移栽试管苗的根的活动状态有关,试管苗在生根培养基上培养的天数以及生根试管苗的生长状况对移栽成活率影响明显,产生这种影响主要原因是在这两种情况下根的生长活动存在差异,2/86 在生根培养基上培养 10~12 d 时,正是试管苗不定根伸长最快的时期,因而移栽成活率最高。而不定根较长(≥3.5 cm)、根的伸长生长较慢、苗叶健壮的试管苗成活率反而低。笔者在进行杨树、月季等试管苗移栽过程中也证实了这一点。生根方式不同直接影响移栽成活率的高低。如果不定根起源于嫩茎基部的愈伤组织,则根中的输导组织与茎中的输导组织有一个贯通的过程。此时移栽时期应选择在这之后。白桦试管苗不定根主要起源于茎基部的韧皮部<sup>[12]</sup>,所以生根试管苗移栽的最佳时期为生根培养 10~12 d。另外,加强栽后管理也是提高白桦试管苗移栽成活率的关键因素。

参考文献:

[1] 关文彬. 中国东北地区白桦林植被生态学的研究——桦属植物与中国白桦林的地理分布[J]. 北京林业大学学报, 1998, 20 (4): 104-109.

