

沙棘组织培养

刘文萍 南相日 刘丽艳
吕晓波 孙兰英 单金有
王春艳 宋德禄

沙棘 (*Hippophae rhamnoides*) 属胡颓子科沙棘属, 雌雄异株, 是一种具有重要经济价值的浆果植物和防风林用树种。其根系发达, 抗逆性强, 有防风、固沙、固氮、改良和培肥地力的作用, 果实可广泛应用于饮料、食品、化妆品和医药中。随着科技进步, 人们对沙棘的认识逐渐深化, 它已成为山区、沙区、盐碱滩涂地区的重要生态型经济树种, 在农、林业生产上占有重要地位。

目前, 沙棘主要靠扦插进行繁殖, 速度慢, 效率低, 难以满足生产推广和品种选育的需要。利用组织培养方法, 离体繁殖优良单株, 速度快, 又不受环境因素的影响, 还可以通过生物技术手段, 直接获得遗传变异, 创造新类型。近年来, 国内外都在研究沙棘组织培养和快速繁殖的方法, 但未见成功报道。

我们从 1996 年起开始沙棘组织培养的研究, 获得了再生植株, 本文简要报道沙棘组织培养的方法。

1 材料和方法

试验材料采自黑龙江省农科院浆果研究所沙棘试验园。品种及品系分别为卡尼娅, 90-3-2, 90-2-1, HS-1 等。取材时间分别为 4 月 26 日, 5 月 24 日, 6 月 25 日和 7 月 9 日, 接种外植体分别为茎段、腋芽、叶片、花芽、茎尖等。外植体消毒灭菌, 然后无菌操作, 接种到培养基上。

以 MS 培养基为对照, 进行不同离子浓度的多种基本培养基试验, 并附加 NAA、IAA、IBA、2, 4-D、KT 和 6-BA 等不同种类, 不同浓度组合的激素。培养基中蔗糖 2%, 琼脂 0.7%, pH5.8。培养条件为恒温培养室, 温度(27±1)℃, 每日光照 16h, 光照度 2000LX。在 2 年试验中, 共试验 50 个处理接种近 2000 个外植体。

2 试验结果

2.1 取材时间的选择 试验材料采自多年生有一定树龄的沙棘树, 取当年抽出的嫩枝。结果表明, 4 月份取材, 嫩枝还未抽出, 大部分顶端为花芽, 不能再生, 而 6 月末至 7 月初取材, 部分生长点已经退化成刺, 不能用于接种。所以一年中取材的最适时间应为 5 月下旬至 6 月上旬, 这时嫩枝刚刚抽出, 生长旺盛, 最适宜做接种的外植体。

2.2 适宜接种的外植体筛选 结果表明, 沙棘组织培养的适宜外植体为茎尖分生组织, 其它部位的外植体

接种后都不能萌动和再生。茎尖分生组织的大小也影响再生效果, 切割过大不仅容易污染, 而且萌动时间过长; 切割过小, 容易使生长点受伤害, 不利再生。切割 0.3~0.5cm 大小的茎尖为外植体较为合适。

2.3 培养基的筛选与植株再生 经过试验, 离体培养的适宜外植体为顶端分生组织即茎尖生长点, 在培养基的筛选试验中, 外植体全部采用顶端分生组织。外植体在 MS 及其它标准培养基上培养 2~3 周后, 观察到外植体膨胀, 形状改变, 并逐渐褐化死亡。外植体的这种变化与基本培养基的组成有关, 主要是无机盐浓度过高, 引起过饱和的中毒现象所致, 改用低无机盐培养基, 降低大量元素和微量元素的用量, 能较好地改善外植体的生存条件, 在本试验中, 当培养基中大量元素的总量由 MS 的 4520mg/L 降至 1300mg/L 时, 培养外植体 10~15d 后, 观察到分生组织的生长活动。据研究, 外植体的生长发育取决于培养基中外源生长素和细胞分裂素的绝对浓度和平衡, 外植体在不加任何激素的培养基上 100% 死亡。

结果表明, 当培养基中以 NAA 和 KT 组合, 且 NAA 0.03~0.05mg/L, KT 0.3~0.5mg/L 时, 培养 6~7d 观察到 85% 的外植体体积增大, 长度增加, 到 10~15d 时, 已经有初始叶片生成, 用同浓度的 6-BA 代替 KT, 外植体也能成活, 但成活率降低。而当 NAA 升至 0.1mg/L, KT 为 0.5mg/L 时, 在外植体的基部发生大量的愈伤组织, 外植体不生长并随愈伤组织一起变褐, 最终死亡。本研究表明, 顶端分生组织的生长不仅需要低无机盐的培养基, 而且需要较低水平的激素物质, 无激素或激素偏高, 都将导致外植体死亡。

外植体在含有 NAA 0.03~0.05mg/L, KT 0.3~0.5mg/L 的低盐培养基上继续培养 30d 左右, 表现为茎继续伸长, 叶片展开, 并不断有新的叶片出现, 同时观察到根的分化, 形成完整植株。

3 讨论

沙棘组织培养与植株再生是实现沙棘快速无性繁殖的第一步。在进行顶端分生组织培养过程中, 在外植体的基部出现少量的愈伤组织, 并不影响顶端的生长。但当激素偏高, 愈伤组织过度增长时, 就限制了顶端的生长, 而这些愈伤组织也很快变褐色死亡。

不同品种对组织培养的条件要求不同, 在同一培养方法下, 90-3-2 和卡尼娅获得了再生植株, 而 90-2-1 和 HS-1 没有获得再生植株, 排除取样的差异, 主要还是培养基和激素不适造成的, 所以在研究不同品种对不同培养基的适应性的同时, 研究具有广泛适应性的培养基组成也是必需的。

(1、2、3、4 作者为黑龙江省农科院生物技术中心 150086; 5、6、7、8 作者为黑龙江省农科院浆果研究所 152000)