

沙棘辽阜一号茎尖组织培养

田晓艳¹, 刘延吉², 薛岩², 宫在强¹

(1. 辽宁石油化工大学 环境与生物工程学院, 辽宁 抚顺 113001; 2. 沈阳农业大学 生物科技学院, 辽宁 沈阳 110161)

摘要:以辽阜一号水培芽茎尖为试材, 在 1/3MS 培养基中添加不同生长调节物质诱导茎尖及腋芽生长, 研究沙棘的离体培养技术。结果表明: 最佳诱导期为 3 个月, 最佳诱导培养基为 1/3MS+6-BA 0.2 mg/L+NAA 0.05 mg/L, 茎尖生长最好, 褐变率低; 继代培养基为 1/3MS+6-BA 0.5 mg/L+IBA 0.3 mg/L, 诱导生根培养基为 1/3MS+NAA 0.2 mg/L+IBA 0.5 mg/L。

关键词:沙棘; 茎尖; 组织培养

中图分类号:S 793.603.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2010)05-0136-02

沙棘(*Hippophae rhamnoides* L.)为胡颓子科沙棘属植物, 是一种具有很高经济效益和生态效益的绿化树种^[1], 广泛分布于全国, 特别是“三北”干旱、半干旱地区^[2]较多。沙棘雌雄异株, 主要通过种子和枝条扦插进行繁殖^[3], 远远满足不了生产上对苗木的需求。为了加快沙棘良种繁育推广, 建立完善的沙棘组织培养快繁体系具有十分重要的意义。

1 材料与方法

1.1 试验材料

沙棘为辽阜一号。采集外植体时间为 2006 年 3 月, 剪取 6 cm 左右带有腋芽的短枝作为试验材料。

1.2 试验方法

1.2.1 初代培养 以沙棘茎尖为外植体, 不同基本培养基(1/3MS 培养基、1/2MS 培养基和 MS 培养基)做单因素试验, 3 种培养基中均添加 6-BA 0.2 mg/L+NAA 0.02 mg/L, 以 MS 培养基作对照。每个处理接种 30 瓶, 每瓶接种 2~3 个茎尖, 20~25 d 后调查萌发情况。以 1/3MS 培养基为基础培养基, 设计 3 因素 3 水平的正交试验(6-BA 浓度: 0.1; 0.2; 0.3 mg/L; 蔗糖浓度: 20、30、40 g/L; NAA 浓度: 0.0、0.05、0.1 mg/L), 选用 $L_9(3^4)$ 正交试验表。每处理 5 瓶, 每瓶约 4 个茎尖, 重复 3 次。光照强度 1 500~2 000 lx, 光周期 14 h/d, 培养室内温度控制在 $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$ 。培养基中琼脂 0.7%, pH 5.8(下同)。

1.2.2 继代增殖培养 以 1/2MS、1/3MS、1/4MS 为基本培养基与不同浓度的 IBA、6-BA 按 $L_9(3^4)$ 正交设计表安排各因素和水平(6-BA 浓度: 0.2、0.5、0.8 mg/L; IBA 浓度: 0.1、0.3、0.5 mg/L)。每瓶 4 个 1 cm 左右的茎段, 每处理 5 瓶, 重复 3 次。增殖率($\%$)= $(25\text{ d 增殖后株数}/\text{接种数}) \times 100$ 。

1.2.3 生根培养 以 1/2MS、1/3MS、1/4MS 为基本培养基与不同浓度的 IBA、NAA 按 $L_9(3^4)$ 正交设计表安排各因素和水平(IBA 浓度: 0.1、0.3、0.5 mg/L; NAA 浓度: 0.1、0.2、0.3 mg/L)。每瓶 4 个 2~3 cm 的新梢, 每处理 5 瓶, 重复 3 次。

2 结果与分析

2.1 沙棘辽阜一号基本培养基的确定

由表 1 可以看出, 1/3MS 培养基的萌发率最高, 显著高于 1/2MS 培养基, 极显著高于 MS 培养基。

表 1 3 种基本培养基对沙棘茎尖萌发的影响

培养基	接种数	萌发数	萌发率/%	平均值±标准差
MS	75	6	8.8	8.8±0.8 ^B
1/2MS	60	36	60.4	60.4±0.4 ^{AB}
1/3MS	68	61	89.3	89.3±0.3 ^A

注: 同列肩标小写字母不同表示差异显著($P < 0.05$), 大写字母不同表示差异极显著($P < 0.01$)。

2.2 沙棘辽阜一号初代培养基的确定

该试验中, 6-BA 为主要因素, 其次是 NAA, 最后是蔗糖。沙棘辽阜一号初代培养选取的最佳培养基组合为 $A_2B_2D_2$ (生长情况见图 1), 即: 1/3MS 培养基+0.2 mg/L 6-BA+NAA 0.05 mg/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 0.7%, pH 5.8。

2.3 沙棘辽阜一号继代增殖培养基的确定

试验结果表明, 6-BA 的浓度是主要因素, 其次是基本培养基种类, 再次是 IBA 浓度; 增殖培养选取的最佳

第一作者简介:田晓艳(1971-), 女, 硕士, 讲师, 研究方向为细胞工程学。E-mail: maggieltian2002@163.com。

通讯作者:刘延吉(1959-), 男, 博士, 副教授, 研究方向为细胞工程及细胞信号转导。E-mail: yanjiliu@yahoo.com.cn。

基金项目:国家高新技术“863”计划资助项目(2004AA247010)。

收稿日期:2009-11-20



图1 辽阜一号茎尖萌发

培养基组合为 A₂B₂C₂ (生长情况见附图 2), 即: 1/3MS 培养基+IBA 0.3 mg/L+6-BA 0.5 mg/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 0.7%, pH 5.8。



图2 辽阜一号茎尖增殖

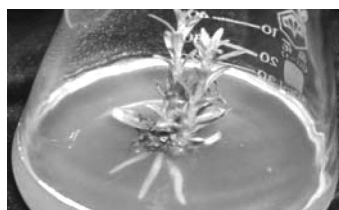


图3 沙棘试管苗基部生根

2.4 沙棘辽阜一号生根培养基的确定

试验结果表明, NAA 的浓度是主要因素, 其次是 IBA; 再次是基本培养基种类。生根培养选取的最佳培养基组合为 A₂B₂C₃ (生长情况见附图 3), 即: 1/3MS 培养基+NAA 0.2 mg/L+IBA 0.5 mg/L+蔗糖 30 g/L+琼脂 0.7%, pH 5.8。

3 讨论

沙棘辽阜一号茎尖在 MS 培养基上培养时容易发生褪绿死亡, 其基本培养基采用大量元素减为原来的 1/3, 微量元素含量不变的 1/3MS 培养基, 与孙兰英^[1]提出的将 MS 培养基中的无机盐浓度降低到原浓度的 1/3 时, 有利于提高沙棘成活率这一报道相吻合。另外, 核果类对于 NH₄⁺ 敏感, 这与该试验在增殖阶段降低大量元素含量结果相符。诱导生根是木本植物组织培养繁殖苗木的关键问题^[4], 孙兰英^[1]筛选的生根培养基为 MS+NAA 0.002 mg/L+KT 1.0 mg/L; 赵国林^[5]在 1/2B₅+IBA 0.2 mg/L+INN 0.2 mg/L 上诱导沙棘幼苗生根, 可见诱导沙棘幼苗生根的最适培养基还有待于进一步筛选。

参考文献

- [1] 孙兰英 单金友, 王春艳 等. 沙棘组织培养培养基筛选试验[J]. 沙棘, 1998, 11(3): 14-16.
- [2] 赵汉章. 俄罗斯沙棘育种概况与我国沙棘育种现状和展望[J]. 世界林业研究, 1997(2): 65-70.
- [3] 朱健. 经济林地技术手册[M]. 西安: 陕西科学技术出版社, 1990: 350.
- [4] 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: 303-310.
- [5] 赵国林 刘金郎 朱滨. 沙棘的组织培养和植株再生[J]. 植物生理学通讯, 1989, 25(1): 42.

Tissue Culture on Apexes Buds of Liao-fu No. 1 (*Hippophae rhamnoides* L.)

TIAN Xiao-yan¹, LIU Yan-ji², XUE Yan², GONG Zai-qiang¹

(1. Environmental Technology and Biotechnology College, Liaoning University of Petroleum and Chemical Technology, Fushun Liaoning 113001; 2. Biotechnology College, Shenyang Agriculture University, Shenyang Liaoning 110161)

Abstract: The studying is micropropagation system on Liao-fu No. 1 (*Hippophae rhamnoides* L.) with stem apexes as explants under water culture *in vitro*. Research axillary buds and stem apexes induction through adding different growth regulating material in 1/3MS medium. The results showed the best time of inoculation was March, the inducing medium that stem apexes gets the best growth and the lowest proportion of browning was 1/3MS+6-BA 0.2 mg/L+NAA 0.05 mg/L, the multiplication medium was 1/3MS+6-BA 0.5 mg/L+IBA 0.3 mg/L, the rooting medium was 1/3MS+NAA 0.2 mg/L+IBA 0.5 mg/L.

Key words: *Hippophae rhamnoides* L.; stem apexes; tissue culture