

四倍体刺槐试管苗的耐盐筛选

高凤菊

(德州市农业科学研究院 山东 德州 253015)

摘要:以继代4次的四倍体刺槐试管苗为外植体,用不同浓度的NaCl对试管苗进行了处理。结果表明:随着NaCl浓度的升高和培养天数的延长,试管苗受害率、死亡率呈上升趋势,并筛选出了耐0.5%NaCl的植株。

关键词:四倍体刺槐;试管苗;耐盐;筛选

中图分类号:S 792.27 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2010)05-0151-02

四倍体刺槐(Tetraploid *Robinia pseudoacacia*)是1997年从韩国引进的刺槐新品种,它生长速度快,各种生长指标远远超过普通刺槐,虽然有一定的抗旱、耐瘠薄、耐盐碱能力,但由于德州及周边地区土壤盐渍化严重,因此影响了速生型四倍体刺槐的发展。有关四倍体刺槐试管苗组培快繁,主要是离体培养和快速繁殖方面^[1-2],虽然孟凡娟^[3]对四倍体刺槐的抗盐性进行了试验,但主要是利用2 a生的苗木在温室内进行的。前人应用组织培养技术已筛选出40种植物的耐盐细胞系与变异体或突变体,并再生了植株,如烟草、玉米、水稻、棉花、苹果砧木等^[4-9],筛选方法有应用诱变剂、直接筛选、固体培养、悬浮培养、原生质体培养等,但四倍体刺槐的耐盐筛选尚未见报道。现应用固体培养的方法,研究不同浓度的NaCl对四倍体刺槐试管苗生长、生根的影响,并筛选出耐盐的植株。

1 材料与方法

以继代4次的四倍体刺槐试管苗为外植体,挑选健壮单株,切割成1.5 cm长的茎段,分别接种于含不同浓度NaCl(w/v)的继代、生根培养基上(插入培养基约0.5 cm),培养室温度28℃,光照强度2 500 lx,光照时间16h/d。试验设5个处理,NaCl浓度分别为:0%(对照)、0.3%、0.5%、0.7%、1.0%,每个处理转接7瓶,每瓶接种6株,重复4次,定期(30、60、90 d)调查受害率(盐害株数/总株数)、死亡率、株高、生根数等。继代培养基:MS+BA 0.5 mg/L+NAA 0.4 mg/L(单位下同)+蔗糖3%+琼脂0.7%,pH 6.0;生根培养基:1/2MS+IBA 0.1+NAA 0.1+蔗糖2%+琼脂0.7%,pH 5.8。

作者简介:高凤菊(1969-),女,高级农艺师,现主要从事生物技术方面的研究工作。E-mail: gfg1970@126.com。
收稿日期:2009-12-28

2 结果与分析

2.1 不同浓度NaCl胁迫对试管继代苗生长的影响

由表1可看出,30 d调查结果表明,对照生长正常,分化系数4,株高5 cm,而其它4个处理在NaCl胁迫下生长均不同程度地受到抑制,基本不生长;60、90 d的调查结果表明,NaCl浓度为0.3%、0.5%处理的植株生长趋于正常,而NaCl浓度0.7%、1.0%处理的植株基本不生长,受害严重,受害率、死亡率明显上升,这说明在整个盐胁迫过程中,随胁迫时间延长,继代苗生长缓慢,受害程度加重,受害率、死亡率呈上升趋势。随着培养基中NaCl的浓度升高,试管苗生长受抵制加重,浓度越高,正常苗率越低,异常苗越多。在NaCl胁迫下,试管苗基本不分化,当浓度达到0.7%以上时,试管苗基本不生长,而且茎部褐化严重,受害率、死亡率上升。

2.2 不同浓度NaCl对试管苗生根的影响

由表2可看出,30 d调查结果表明,对照株高6.2 cm,且生根正常,平均生根6.6条,嫩梢生长量大;NaCl浓度0.3%、0.5%处理生根分别为5.4和4.2条,影响不大,且植株生长正常,而NaCl浓度0.7%、1.0%2个处理在NaCl胁迫下生根受到抑制,基本不生根。60、90 d的调查结果表明,在整个盐胁迫过程中,随胁迫时间延长,生根苗受害程度加重,根部褐化严重,受害率、死亡率呈上升趋势。随着培养基中NaCl浓度的上升,试管苗生根变细,根量减少,根部褐化加重,愈伤组织增多,上部叶变黄,嫩梢生长量减少。当浓度达到0.7%以上时,试管苗不生根、不生长,受害率、死亡率上升。

2.3 继续含盐培养的观察

90 d后,经初步筛选成活的植株,挑选生长正常的120株,接种到NaCl浓度0.5%的继代培养基中,3个周期(1个周期30 d)后,仍有21株生长正常。

表 1 不同浓度 NaCl 胁迫对试管苗生长的影响						
NaCl 浓度 / %	调查时间/ d	接种数/ 株	受害率/ %	死亡率/ %	株高/ cm	叶片颜色
0	30	40	0	0	5	深绿色
	60	—	—	—	—	—
	90	—	—	—	—	—
0. 3	30	42	12. 50	0	1. 10	深绿色
	60	42	16. 67	0	1. 92	深绿色
	90	42	22. 02	2. 38	2. 75	深绿色
0. 5	30	41	16. 46	2. 44	1. 03	绿色
	60	41	22. 56	10. 98	1. 15	绿色
	90	41	31. 71	18. 29	1. 76	绿色
0. 7	30	43	19. 77	4. 65	0. 98	黄绿色
	60	43	30. 23	13. 95	1. 06	黄绿色
	90	43	44. 19	23. 84	1. 14	黄绿色
1. 0	30	42	23. 81	7. 14	0. 95	黄绿色
	60	42	36. 31	19. 05	0. 95	黄绿色
	90	42	57. 74	34. 52	0. 95	黄绿色

注: 此表结果为 4 个处理的平均数, 接种数即为一个处理的调查株数。对照 1 个月即需接转, 故 60、90 d 没有调查结果。下表同。

表 2 不同浓度 NaCl 胁迫对试管苗生根的影响							
NaCl 浓度/ %	调查时间/ d	接种数/ 株	受害率/ %	死亡率/ %	株高/ cm	生根/ 条	叶片颜色
0	30	42	0	0	6. 2	6. 6	深绿色
	60	—	—	—	—	—	—
	90	—	—	—	—	—	—
0. 3	30	41	12. 20	0	1. 55	5. 4	深绿色
	60	41	16. 46	0	2. 34	5. 4	深绿色
	90	41	21. 95	1. 83	3. 10	5. 4	深绿色
0. 5	30	42	16. 67	2. 38	1. 06	4. 2	绿色
	60	42	22. 62	10. 12	1. 36	4. 2	绿色
	90	42	31. 55	17. 26	1. 75	4. 2	绿色
0. 7	30	42	19. 64	4. 76	1. 02	0	黄绿色
	60	42	30. 36	13. 69	1. 16	0	黄绿色
	90	42	44. 64	23. 81	1. 50	0	黄绿色
1. 0	30	43	23. 84	6. 98	1. 02	0	黄绿色
	60	43	36. 63	19. 19	1. 02	0	黄绿色
	90	43	57. 56	34. 30	1. 02	0	黄绿色

2. 4 继续含盐培养和无盐培养的比较

取生长正常的 11 株转入 NaCl 浓度 0. 5% 的继代培养基中, 另外 10 株转入无盐继代培养基中, 植株生长均正常; 但无盐培养基中植株生长不如含 NaCl 0. 5% 培养基中植株生长旺盛, 说明可能已筛选出四倍体刺槐的耐盐突变体, 这与周荣仁等的耐盐细胞系的生长效率需要在盐渍条件下才能达到最高, 在无盐条件下生长效率低的结论一致^[9]。

3 结论

在 0. 5% NaCl 逆境中经过 6 个月的筛选, 四倍体刺槐尚有 21 株生长正常, 由此可以推测, 可能筛选出了四倍体刺槐的耐盐株系, 使四倍体刺槐的早期耐盐筛选成为可能。四倍体刺槐试管苗生根后是否适应盐碱地有

待于进一步试验研究。

参考文献

[1] 林海, 王正颖, 姜金仲. 我国四倍体刺槐研究综述[J]. 饲草研究, 2008 (1): 10-14.

[2] 李云, 姜金仲. 我国饲料型四倍体刺槐研究进展[J]. 草业科学, 2006 23(1): 41- 46.

[3] 孟凡娟, 王秋玉, 王建中, 等. 四倍体刺槐的抗盐性[J]. 植物生态学报, 2008, 32(3): 654-663.

[4] 张宝红, 李秀兰, 李凤莲. 棉花耐盐变异体的筛选与再生(简报)[J]. 植物生理学通讯, 1993, 29(6): 423- 425.

[5] 孙建设, 王海英, 刘冬云. 利用苹果砧木组培苗进行耐盐筛选和诱变技术研究[J]. 中国农学通报, 2000, 16(2): 25- 27.

[6] 周荣仁, 杨燮荣, 余叔文. 利用组织培养研究植物耐盐机理与筛选耐盐突变体的进展[J]. 植物生理学通讯, 1989(5): 11-19.

Salt-endurance Screening of Tetraploid Locust Test-tube Seedling

GAO Feng-ju

(Dezhou Agricultural Science Research Institute, Dezhou, Shandong, 253015)

Abstract: Test-tube seedlings of tetraploid locust were treatmented on different concentration NaCl solution. The results showed that by NaCl solution raising and adding days of culture, damage and death percent demonstrated increasing trend, and plants of endurance to 0. 5% NaCl solution were screened.

Key words: tetraploid locust; test-tube seeding; salt-endurance; screening