

中国沙棘组织培养两步成苗技术研究

韩 德 伟

(辽宁农业职业技术学院, 辽宁 营口 115009)

摘 要:以中国沙棘休眠茎段为外植体,进行了组织培养二步成苗的技术研究。结果表明:茎段嫩梢萌发生长最适宜的培养基为 $B_5 + BA\ 0.5\ \text{mg/L} + IBA\ 0.05\ \text{mg/L}$,将其剪切成嫩梢的方式接种进行生根培养效果最好,最佳的生根培养基为 $1/2B_5 + IBA\ 0.05\ \text{mg/L}$ 。

关键词:中国沙棘;组织培养;二步成苗

中图分类号:S 793.622.3⁺7 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)03-0114-02

中国沙棘 (*Hippophae rhamnoides* L. subsp. *sinensis* Rousi) 属胡颓子科沙棘属落叶灌木或乔木,抗旱、耐寒、耐贫瘠,是防风、固沙和保持水土的最佳树种之一,同时又是轻工、食品和医药工业的重要原料,具有较高的医用价值、食用价值和经济价值,备受世人瞩目。目前,中国沙棘苗木常用的繁殖方式几乎都存在着一些限制因素,如成活率、繁殖系数、生根率以及移栽成活率普遍偏低,组培增殖难等问题,导致不能大量获得优良沙棘种苗而满足市场需求^[1]。该文利用中国沙棘休眠茎段进行了二步成苗的深入研究,先诱导茎段发芽形成嫩梢,然后将嫩梢进行生根培养,取得了良好效果。

1 材料与方法

1.1 试验材料

2009年3月从辽宁农业职业技术学院教学基地选取芽饱满的1a生休眠枝条,先用自来水冲洗,再用洗衣粉刷洗,最后用流水冲洗50 min。拿到超净工作台上进行灭菌,70%酒精浸泡50 s,0.1% HgCl_2 加吐温-20 灭菌10 min,无菌水冲洗5遍,备用。以 B_5 或 $1/2B_5$ 作为基本培养基,添加蔗糖30 g/L、琼脂粉8 g/L, pH 5.8,附加各种外源激素,温度21~23℃,光照时间16 h/d,光照强度2 000 lx。

1.2 试验方法

1.2.1 中国沙棘休眠茎段的培养 将消毒好的材料剪切成2.5 cm左右带3腋芽茎段接种于以 B_5 为基本培养基添加不同浓度的BA、IBA的培养基上进行培养,25 d后,以萌发长度大于2 cm的嫩梢作为有效嫩梢进行统计,研究不同培养基对中国沙棘休眠茎段嫩梢萌发生长

的影响。

1.2.2 中国沙棘生根培养 将中国沙棘休眠茎段诱导的嫩梢剪切成1.5 cm长带顶芽嫩梢和不带顶芽的嫩茎段分别接种于以 $1/2B_5$ 为基本培养基添加不同浓度的IBA的培养基上进行培养,每个处理接种30个材料,2次重复,20 d时进行观察统计。

2 结果与分析

2.1 不同培养基对中国沙棘休眠茎段嫩梢萌发生长的影响

外植体材料接种后,A2、A3、A4培养基中6 d腋芽开始萌动,A1、A5培养基中10 d开始萌动,继续培养腋芽生长形成嫩梢(图1),25 d时按有效嫩梢数量统计萌发率。



图1 休眠茎段萌发嫩梢

由表1可看出,此时的外植体材料极易萌动,但在不同培养基上萌动早晚、生长速度、质量不同,在不添加IBA的A5培养基上,不仅萌动晚,而且生长速度也最慢,在添加IBA的其它培养基中,萌动时间变早,生长速度加快,表明IBA对嫩梢的生长有明显的促进作用,但其浓度超过0.1 mg/L时,腋芽萌动后部分愈伤化;在添加BA的培养基中,随BA浓度(0.1~1.0 mg/L)的上升,材料萌动时间提前,生长速度加快,但超过1.0 mg/L时材料出芽数变多,但苗质量下降,不利于后期的生根培养。综上所述,中国沙棘休眠茎段嫩梢萌发生长最适宜的培养基为 $A2:B_5 + BA\ 0.5\ \text{mg/L} + IBA\ 0.05\ \text{mg/L}$ 。

作者简介:韩德伟(1979-),男,辽宁盖州人,本科,实验师,现从事花卉与蔬菜组织培养及无土栽培技术工作。E-mail: handewei79@126.com。

收稿日期:2011-11-28

表 1 不同培养基对中国沙棘休眠茎段嫩梢萌发生长的影响

序号	培养基/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	萌动情况	萌发率/%	生长状况
A1	$B_5 + BA 0.1 + IBA 0.05$	晚	30	单芽/腋,腋芽均萌发,生长速度慢
A2	$B_5 + BA 0.5 + IBA 0.05$	早	94	单芽/腋,腋芽均萌发,生长速度快
A3	$B_5 + BA 0.5 + IBA 0.10$	早	83	单芽/腋,每腋芽均萌发,生长速度快
A4	$B_5 + BA 1.0 + IBA 0.05$	早	46	1~2个芽/腋,每腋芽均萌发,细弱,有玻璃化苗
A5	$B_5 + BA 0.5$	晚	28	单芽/腋,每腋芽均萌动,生长速度较慢

注:萌发率(%) = 萌发有效嫩梢数/未污染腋芽数 $\times 100$ 。

2.2 不同浓度的 IBA 及不同剪切方式对中国沙棘组培苗生根的影响

材料接种到添加不同浓度 IBA 的 $1/2B_5$ 培养基中,15 d 时嫩梢高 2.5 cm 左右,嫩茎段高 1.5 cm 左右(图 2),嫩梢基部开始形成根基;继续培养,25 d 时嫩梢在 IBA 浓度为 0.01 和 0.05 mg/L 的培养基中高 3~4 cm,长出 2~5 条、长 0.5 cm 以上的根(图 3),在 IBA 浓度为 0.1 mg/L 的培养基中,多数苗死亡,个别长根,而嫩茎段既未向上生长,也未长根。综上所述,将休眠茎段诱导出的嫩梢剪切成 1.5 cm 长直接接种到 $1/2B_5 + IBA 0.05 \text{ mg/L}$ 中生根效果最好。



图 2 生根培养 15 d 的嫩梢、嫩茎段

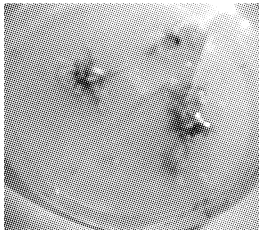


图 3 嫩梢的根

表 2 不同浓度的 IBA 及不同剪切方式对中国沙棘组培苗生根的影响

IBA/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	接种材料数/个	嫩梢生根嫩梢数/个	生根率/%	嫩茎段生根嫩茎段数/个	生根率/%
0.01	30	13	40.3	0	0
0.05	30	28	91.3	0	0
0.10	30	4	13.3	0	0

2.3 试管苗的生根诱导及驯化移栽

将根长 0.5 cm 以上的生根苗移至自然光下 2~3 d,再打开瓶口放置 2 d,最后取出试管苗,洗去根部培养基,移栽至消毒过的草炭:珍珠岩=1:1 基质中,保持一定的湿度,30 d 后统计移栽成活率为 89%。

3 结论与讨论

该试验于 2009 年 3 月份选取中国沙棘休眠茎段作为外植体,在培养过程中污染、褐变率极低,由于茎段体内含有较多的营养成分,可直接供腋芽吸收利用,因此萌动率高,嫩梢健壮、生长速度快,周期短,25 d 即可;同时第 1 步萌动的健壮嫩梢促使第 2 步生根培养嫩梢生根率高、成活率高,解决了中国沙棘组培过程中生根率低、成活困难等问题。

中国沙棘可以利用休眠茎段两步一次成苗,休眠茎段在 $B_5 + BA 0.5 \text{ mg/L} + IBA 0.05 \text{ mg/L}$ 中诱导嫩梢,再将嫩梢剪切成 1.5 cm 长直接接种到 $1/2B_5 + IBA 0.05 \text{ mg/L}$ 培养基中可以直接诱导根,从而成为完整植株。

参考文献

[1] 李俊,夏新莉,刘翠琼. 中国沙棘体细胞胚胎间接发生与植株再生[J]. 北京林业大学学报,2009(3):89-95.

Study on Technique of Two-step-seedling Formation from Tissue Culture of *Hippophae rhamnoides* L. subsp. *sinensis* Rousi

HAN De-wei

(Liaoning Agricultural Vocation-technical College, Yingkou, Liaoning 115009)

Abstract: The technique of two-step-seedling formation from tissue culture of *Hippophae rhamnoides* L. subsp. *sinensis* Rousi was studied, with the dormant stem segments as explants. The results showed that the $B_5 + BA 0.5 \text{ mg/L} + IBA 0.05 \text{ mg/L}$ was the most suitable medium for germination and growth of a little tender stem; To cut into its tender for a little way to rooting culture inoculated best, $1/2B_5 + IBA 0.05 \text{ mg/L}$ was the best rooting medium.

Key words: *Hippophae rhamnoides* L. subsp. *sinensis* Rousi; tissue culture; two-step-seedling formation