

毛白杨离体繁殖技术

郑永娟¹, 王国强²

(1. 黑龙江农垦林业职业技术学院, 黑龙江 庆安 152443; 2. 黑龙江省安达畜牧场)

毛白杨属杨柳科杨属, 是我国特有树种, 树干通直, 高大, 适应性强, 生长快, 是用材林和城乡绿化的优良树种, 其优株的无性系苗木, 生长速度比普通毛白杨快15%~20%, 经济价值更高。但用常规无性繁殖时, 如扦插、压条等, 很难生根, 加之繁殖材料有限, 不仅用材多, 费工费时, 而且成活率低, 繁殖系数不大, 很难在短期内繁殖大量苗木。试管快繁对于毛白杨来说, 无论在理论上和生产实践上均具有重要的意义。目前, 毛白杨的试管快繁技术已在造林育苗的生产实践中推广应用。我们用植物组织培养法进行毛白杨的快速繁殖, 在短时间内收到了良好的效果。

1 外植体的选择与灭菌

1.1 外植体脱毒

选择品种优良、健壮的植株进行盆栽, 温度逐渐提高到35~38℃。在这温度下培养2个月, 这期间要注意肥水的管理, 以减轻高温处理造成的死苗现象。剥取茎尖和腋芽。切取顶芽或腋芽3cm左右大小, 去掉叶片, 保留嫩叶柄。用清水反复冲洗干净。用70%的酒精浸10s, 用无菌水冲洗3次。0.1%氯化汞浸5min 倒出后用无菌水冲洗3~5次。取出用滤纸进行吸干。在解剖镜下, 将材料置于无菌的滤纸上, 剥嫩苞叶, 露出锥形体, 切取0.5mm长度的茎尖, 带有2个叶

原基, 迅速接种到培养基上, 防止茎尖脱水再要注意的一点是不要倒置。

茎尖剥离的大小是脱毒效果的关键技术。茎尖剥离越小, 脱除病毒的效果越好, 但接种不易成活; 茎尖剥离得越大, 接种成活越高, 但脱除病毒的效果差。结合热处理进行茎尖培养, 操作简便, 容易掌握, 脱除病毒的效果好。

1.2 休眠芽的外植体的选择与灭菌

毛白杨在初代培养时也可以采用休眠芽作为外植体, 取当年形成的直径在5mm左右健康无病虫害的枝条, 用解剖刀切成长度为1.5~2.0cm的节段, 每个节段带休眠芽。

将切段先用自来水冲洗干净, 再用70%~75%酒精浸泡30s同时不断用玻璃棒搅动, 目的是能够使外植体的表面能够充分与酒精接触进行消毒。倒掉酒精后, 立即用无菌水冲洗3~5遍, 冲洗去残留的酒精。然后用5%的次氯酸钠溶液或用0.1%氯化汞溶液进行浸泡7~8min, 倒掉这些消毒液, 再用无菌水冲洗3~5遍。在无菌操作台上将外植体取出放在已灭好菌的滤纸上吸去残留的水分, 放在另一张已灭菌的滤纸上进行切割成带有1个叶芽的茎段。

1.3 叶片外植体的选择与灭菌

5.2.1 浇水。屋顶因干燥、高温、光照强、风大, 植物蒸腾量大, 失水多, 夏季易发生日灼, 枝叶焦边或干枯, 必须经常浇水, 创造较高的空气湿度, 减少蒸腾。因此每日应多次喷水和浇水降温、增湿, 春季每日1~2次。

5.2.2 施肥。多年生的植物, 在较浅的土层上生长, 施肥是保证植株生长的必要手段, 目前多用腐熟人粪尿或饼肥做追肥, 使用化肥时, 浓度必须小, 以防止烧伤苗木。施肥应于傍晚进行。

5.2.3 防寒及补充人造土。冬季风大、气温低, 由于栽植层浅, 有些在地面能安全越冬的植物, 在屋顶可能受冻害, 对易受冻害种类, 可用稻草进行卷干防寒, 盆栽的可搬入温室越冬。由于经常不断的浇水, 使人造土少量流失和体积收缩、破裂, 日渐减少, 种植层厚度不足。一段时期后应添加人造土。另外, 要经常拔草, 保持花坛清洁, 做好病虫害的防治。屋顶栽植的植物, 养护管理比地面栽植的要精细、及时, 随时观察植物的生长情况, 及时合理的做好管理工作。

作者简介: 付芬云(1964—), 女, 藏族, 甘肃临潭县人, 主要从事园林植物栽培与管护工作。E-mail: mazhong1232000@sina.com

操作为冷操作, 利用废橡胶改性沥青天作为防水层和防水粘结材料。具有不透水性、粘结性强和耐老化等优点。另外, 橡胶薄膜“三元乙丙防水布”也是近年来研制出的一种防水性能较好的防水材料, 它也是采用冷操作, 可用于-40~80℃。但这种防水层的造价较高。

屋面排水系统应完整, 通畅无阻, 各个花坛、园路的人水孔必须与女儿墙排水口或天沟连接成一整体, 使雨水和灌溉的水能及时顺利排走, 减轻屋顶重量和防止渗漏。

5 植物栽植与养护管理

5.1 栽植

栽植前首先用粉笔在屋面上根据设计要求划出花坛、花架、道路, 排水孔道, 浇灌设备的位置, 然后在屋面铺设5~10cm的排水层, 然后在过滤层上铺设轻质人造土种植层, 厚依植物而定。花坛或种植槽内的排水孔, 事先必须用碎片, 或尼龙窗纱将其盖住, 然后才能铺排水层与种植层。栽植树木或花草时, 必须使根系舒展, 修剪去过长的长根, 使土壤与植物根系紧密结合。栽后立即浇水1次。

5.2 养护管理

毛白杨在初代培养时也可以采用叶片做为外植体。

将叶片先用自来水冲洗干净,再用70%~75%酒精浸泡10s同时不断用玻璃棒搅动,目的是能够使外植体的表面能够充分与酒精接触进行消毒。倒掉酒精后,立即用无菌水冲洗3~5遍,冲洗去残留的酒精。然后用5%的次氯酸钠溶液或用0.1%氯化汞溶液进行浸泡7~8min,倒掉这些消毒液,再用无菌水冲洗3~5遍。在无菌操作台上将外植体取出放在已灭好菌的滤纸上吸去残留的水分,放在另一张已灭菌的滤纸上将叶片切成5mm×5mm。

2 外植体的接种

2.1 操作人员需着经灭菌物白色工作服,戴口罩。进行人接种室前,工作人员的双手必须进行灭菌,用肥皂水充分洗涤,操作前再用70%的酒精擦洗双手。

2.2 操作期间经常用70%的酒精擦拭双手和台面。特别注意防止“双重传递”的污染。

2.3 在打开培养瓶、三角瓶或试管时,最大的污染危险是管口边沿沾染的微生物落入管内。解决这个问题,可在打开前用火焰烧瓶口。

2.4 工具用后及时灭菌,避免交叉污染。

2.5 由于空气中有灰尘,因此在操作时,仍要注意避免灰尘的落入。尽量把盖子盖好,当打开瓶子或试管时,应在酒精灯前与水平面成45°角,右手将已切割好的外植体用镊子放在培养基中(但是外植体不夹的过紧或过松),之后将瓶盖在火焰上烧一下盖上即可。

3 培养基的成分

预培养所用的培养基的成分是:MS+0.5mg/L BA+100mg/L 水解乳蛋白,经1周的观察将没有被污染的外植体转接正式诱导分化的培养基:MS+0.5mg/L KT+0.02mg/L NAA+100mg/L 赖氨酸+3%蔗糖。培养室的温度在25~27℃,日光灯连续照射16h,光强为1500 lx左右;经1个月培养茎段(茎尖大约在2~3个月)可以分化出芽,愈伤培养基:MS+0.2mg/L BA+0.02mg/L NAA+100mg/L 将叶片放在愈伤培养基上进行愈伤的诱导,产生后将其愈伤组织放在分化培养基上进行分化培养。壮苗培养基为:1/2MS+1.5%蔗糖;两周左右培养,即可长成带有4~5个叶健壮的无根小植株。生根培养基为:1/2MS+0.2mg/L IBA+0.02mg/L NAA+3%活性炭+1.5%蔗糖;12h的光照与黑暗交替;光强为1500 lx经1个月左右培养,即可长成带有6~7个叶健壮完整小植株。

4 扩大繁殖

4.1 茎切段生芽扩大繁殖法

将由茎尖(茎段)诱导出的幼芽从基部切下,转接到新配制的壮苗培养基上。壮苗培养基为1/2MS+1.5%蔗糖。经1个月左右培养,即可长成带有4~5个叶健壮的小植株。将小苗进行切割成带有叶的茎段再次分别插入分化培养基中如此反复循环即可获得大

批的无根苗。这时将这些无根苗分别插入生根培养基中进行生根。

4.2 叶切块生芽扩大繁殖法

每片叶从基部中脉处切取1cm×1cm并带有约0.5cm长叶柄的叶切块,转接到分化培养基上进行培养,注意的是要将叶的被面贴在培养基上。可从叶柄的切口处观察到有芽出现。之后逐渐增多成簇。每个叶切块可得20余个丛芽。将这些芽切下,转入生根培养基中可得到完整的小植株。

5 诱芽的影响因素

5.1 不同无机盐浓度的影响

不同无机盐浓度的对比试验,采用MS和1/2MS大量元素两种浓度。对比结果,以高浓度的无机盐对诱芽的效果为好,在低盐浓度的培养基上芽的诱导率几乎减少一半。

5.2 不同激素水平的影响

进行了3种激素水平的对比试验,KT用量全同,只NAA的用量不同。从添加NAA 0.002 mg/L处理看,诱芽率皆低,只NAA的用量加大到NAA 0.02mg/L时,则表现最好,当NAA 0.1mg/L时则诱芽率又都有下降的趋势。

5.3 不同培养瓶的诱芽情况

从100ml三角瓶和500ml广口瓶的诱芽对比试验看,经1个月培养,广口瓶诱芽情况大大优于三角瓶,芽数几乎多1倍。

5.4 不同途径培养对比

以0.5mm长的茎尖培养得到大量正常的植株,在添加一些生长素等物质。表面具有分生能力的愈伤组织,重复继代培养仍可保持植株再生能力。大大超过传统的方法,且比用诱导侧芽的方法也高得多。

6 移栽与管理

6.1 嫩茎试管生根

切取3cm左右试管苗无根嫩茎,转插到1/2MS+NAA(IBA) 0.1~0.5 mg/L培养基上,经7~10d即可达到生根率80%,12d生根率可达100%。在无植物生长物质的培养基上,生根率90%~100%

6.2 无根嫩茎的扦插

将试管苗无根嫩茎切段,直接扦插到介质中生根。切段基部经生根粉处理,2周后生根率达90%.,免去试管生根的这一环节,降低了成本,缩短生产时间,提高了生产效率。

试管苗生根后,连瓶苗一起放入室,以适应光照和温湿度。3~5d后,打开瓶口取出试管苗,按一定株行距置于细砂或粗蛭石介质中,加盖拱棚覆膜保持温度和湿度。5d后逐渐揭膜见光,及时通风换气,定期喷肥和喷药,防止有菌类的污染,提高试管苗的成活率。

作者简介:郑永娟(1971-),女,原籍黑龙江省大庆市,林业工程师,专业:环境科学,主要研究成果:参加全国教育科学“十五”规划教育部重点课题《职业指导和创业教育的研究与实验》子课题《职业教育教学改革中实践类课程的研究与实验》和《园林与花卉创业方法》研究。E-mail:nkwwgq@126.com