

文章编号:1002-2724(2006)06-0007-02

沙柳组织培养快繁技术研究

杜喜梅^{1,2}, 燕丽萍¹, 王太明¹, 夏阳¹, 张俊莲², 詹伟³

(1. 山东省林业科学研究院, 济南 250014; 2. 甘肃农业大学农学院; 3. 日照大沙洼林场)

摘要:采用1年生沙柳春季萌发嫩枝,经脱毒处理后,选取健壮的带芽茎段进行组织培养,结果表明:适宜的分化增殖培养基为MS+6-BA 0.5 mg/L + NAA 0.05mg/L;继代培养基为MS+6-BA 0.2 mg/L + KT 0.2mg/L + NAA 0.1mg/L;生根培养基为1/2MS。

关键词:沙柳;组织培养;快繁技术

中图分类号:S722.3

文献标识码:A

沙柳(*Salix psammophila*)又称黄柳,别名西北沙柳、北沙柳,为杨柳科柳属植物,是草原地带典型的沙生中旱生落叶灌木或小乔木,目前它主要分布在我国的内蒙、陕西、宁夏、甘肃、新疆等省(区)。耐旱、耐寒、耐盐碱、抗风沙等特性,是防风固沙的优良树种。同时,它可用作燃料、优质的家畜饲料及纤维板、刨花板、纺织、造纸的重要原料。对沙柳人工丰产栽培技术及扦插育苗等方面的研究已有大量报道^[1-6]。在组织培养方面,关于柳树的研究国内外有相关报道^[7],但未见沙柳的研究,因此本研究采用组织培养技术,筛选出适宜于沙柳组培快繁的增殖培养基及生根培养基,在短期内快速繁殖出大量的试管苗,为沙柳基因工程育种奠定基础,同时,为实现沙柳快速繁殖和工厂化育苗,加快在我省的推广提供育苗技术。

1 材料和方法

1.1 试验材料

沙柳由山东省林科院从内蒙古引进,试验材料采自本院苗圃。

1.2 试验方法

1.2.1 外植体的消毒

将采回的萌条剪去大部分叶片,用洗衣粉漂洗10min后于自来水中冲洗2~3个小时左右,在超镜工作台上,用70%的酒精消毒30~40s,无菌水洗3次;再用0.1%升汞消毒4~15min,用无菌水冲洗5~6次,将外植体用无菌的滤纸吸干,切成带1~2个侧芽的小茎段接种于空白MS(仅加琼脂)培养基上。约7d后,茎段侧芽开始萌动,25d左右长成1~1.5cm的嫩梢。把芽从茎段上切下转入分化、增殖培养基上培养。

1.2.2 培养基

基本培养基为MS、WPM和B5固体培养基,附加不同浓度配比的细胞分裂素6-BA、KT和生长素NAA或IBA(激素浓度配比见表3),蔗糖3%;琼脂0.65%;pH调整为5.8~6.0,取1cm长带一个腋芽的无菌茎段接种于上述培养基上。

1.2.3 培养条件

培养温度为白天(25±1)℃,夜晚(18±1)℃。光周期/暗周期为16/8h,光照强度1000~2000Lx。

2 结果与分析

2.1 无菌外植体的获取

表1 不同外植体类型及相应消毒方法对消毒效果的影响

外植体类型	0.1%升汞(min)	70%酒精(s)	接种外植体数	污染数(个)	污染率(%)
休眠枝	10~20	40~50	36	21	58.6a A
嫩枝	5~10	30~40	36	3	8.3b B

由表1可见,两种不同取材其初代培养污染率具有显著差异。当年春季萌生的嫩枝作为外植体进行初代培养时污染率仅为8.3%,并且不影响其生长;而休眠枝的污染率达58.6%,消毒完毕后,要剪去切口处再接入空白MS培养基,避免因消毒而影响外植体的萌发和生长。上述结果说明,采用春季萌发嫩枝可以快速大量的获得无菌材料。同时在本实验中发现将采来的外植体放在4℃冰箱中低温处理1~2

周后再进行消毒,可以降低污染率,并且不影响芽的萌发。

2.2 不同基本培养基对芽分化、增殖的影响

由表2可见,在3种培养基上腋芽均可萌发,但WPM、B₅培养基枝条的腋芽萌发和生长缓慢,分化的丛生芽少,平均每个腋芽分生1~2个小芽,且叶片的颜色成淡黄色,弯曲;而MS培养基上每个腋芽分生3个左右小芽,生长较快。因此以下选用MS培养基附加不同浓度配比的6-BA、KT和

NAA 或 IBA 进行分化增殖培养基的筛选。

表 2 不同基本培养基对芽分化、增殖的影响 cm

培养基	茎段数 (个)	分化芽数 (个)	增殖倍数	生长状况
MS	25	75	3.0	叶色较绿,生长较快
WPM	25	47	1.9	基本不长高,叶发黄
B5	25	43	1.3	芽发黄,植株萎蔫

2.3 不同浓度激素对芽分化、增殖的影响

由表 3 可以看出,当培养基中添加 IBA 时,其繁殖系数均在 6 以下,并且,组培苗生长势弱,且叶色发黄,不宜作为沙柳组培苗的生长。在 NAA 与 BA、KT 的组合中,在 NAA 浓度相同的情况下,当 BA 在 1.0mg/L 以上时,植株生长缓慢,分化芽数明显减少;NAA 浓度为 0.2mg/L 时,在茎基部产生大量愈伤组织块,芽增殖系数均在 4.0 以下。可见 BA 的浓度和生长素的种类及浓度对沙柳试管苗的生长影响较大,这与 SANTS. BHOJWANI^[8] 在杂交柳上的研究结果一致。同时发现,长期使用一种配方沙柳小芽生长异常,出现玻璃化、叶片弯曲、叶色发黄、有的甚至坏死。而在几种激素的组合中,KT 的加入可以促进植株伸长,使叶色变绿。本实验选用高、低浓度细胞分裂素和低、高浓度的生长素配比交替使用,即 MS+6-BA 0.5 mg/L + NAA0.05mg/L 和 MS+6-BA 0.2 mg/L + KT0.2mg/L + NAA0.1mg/L 交替使用,能使沙柳保持较高的繁殖系数,又可促使芽长长,小芽叶片伸展,为深绿色。这与黄华艳^[9] 等采用高、低浓度细胞分裂素和低、高浓度的生长素配比交替使用的研究中,10 年生柳隆桉继代 10 次以上仍然保持较高的分化率、苗生长健壮的研究结果一致。

表 3 不同激素浓度对芽分化、增殖的影响

6-BA (mg/L)	KT (mg/L)	NAA (mg/L)			IBA(mg/L)		
		0.05	0.1	0.2	0.05	0.1	0.2
0.2	0.2	7.3	7.8	3.8	4.9	3.7	3.1
0.5	0	13.7	6.8	3.3	5.4	4.3	2.1
1.0	0	5.5	4.6	2.1	4.5	3.2	1.4
2.0	0	1.7	1.3	1.1	2.0	1.5	1.2

2.4 根的诱导

2.4.1 生根苗的选择:用于生根的继代苗的质量,对生根有很大的影响,用作生根的苗培养时间不能太长,一般选高度在 1.5cm 以上的健壮试管苗,则生根率、不定根的质量均高,容易移栽,成活率高。

表 4 不同基本培养基对生根的影响

培养基	根原基形 成时间(d)	根长(cm) (15d后)	生根率 (%)	生根情况
1/2MS	10	1.5	100	根系发达、均匀
MS	15	1.3	100	根细、侧根少

2.4.2 培养基的筛选:将健壮芽培养生长至 2~3cm 的健壮芽从基部剪下,去掉下部叶片,接种到 MS、1/2MS 培养基上,20 天后,统计结果,以确定适合诱导生根的基本培养基,结果见表 4。

由表 4 可见,MS 和 1/2MS 的生根率均达 100%,但 1/2MS 根源基形成时间为 10d,明显的早于 MS 培养基的 15d;同时 1/2MS 培养基形成的根系发达,均匀。因此本实验选用 1/2MS 为生根培养基。

2.4.3 植株的移栽

当根长达到 1~1.5cm 时,将已生根的健壮幼苗在温室打开瓶口,逐渐降低湿度,并增强光照,锻炼 3~4d 后,洗净根部琼脂,将其移栽到通气无菌的基质中炼苗,经过驯化炼苗 15~20d 后栽入营养钵,成活率达 100%。

3 结论

3.1 采用 1 年生沙柳春季萌发嫩枝,最佳消毒时间为 70% 酒精 30~40s,0.1% 升汞 5~10min,消毒完毕后,要剪去切口处再接入空白 MS 培养基,以免影响外植体的萌发和生长。

3.2 本实验选用高、低浓度细胞分裂素和低、高浓度的生长素配比交替使用,即 MS+6-BA 0.5 mg/L + NAA0.05mg/L 和 MS+6-BA 0.2 mg/L + KT0.2mg/L + NAA0.1mg/L 交替使用,能使沙柳保持较高的繁殖系数,又可促使芽长长,小芽叶片伸展,为深绿色。

3.3 在生根诱导上选用苗高 2~3cm、生长 25d 左右的健壮苗接种于 1/2MS 培养基上,可使生根率达 100%,并且形成的根系发达,均匀,移栽成活率可达 100%。

参考文献:

- [1] 苍久和. 沙柳的人工栽培丰产技术. 中国林副特产, 2004 (2):34
- [2] 王开芳,赵萍等. 沙柳引种扦插育苗试验. 山东林业科技, 2006(3):37~38
- [3] 安保,白永祥,田志. 沙柳生物学特性与造林技术研究. 内蒙古林业科技, 2003. 24~26
- [4] 丽君,慈志玲,李健军. 沙柳茎叶结构的比较解剖学观察. 内蒙古农业大学学报, 2000. 21(1):129~132
- [5] 许凤,钟新春,孙润仓, GWYNNLL. JONES. 沙柳的超微结构及其木素微区分布的研究. 中国造纸学报, 2005. 20(1):6~9
- [6] 宁明世,李奇,侯春艳. 以无性系育种与等位酶技术对沙柳优良无性系的选择研究. 内蒙古农业大学学报, 2004. 25 (3):18~23
- [7] M. Liesebach&G. Nauioks. Approaches on vegetative propagation of difficult - to - root Salix caprea . Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 2004. 79:239~247
- [8] SANTS. BHOJWANI. Micropagation method for a hybrid willow (Salix matsudana alba NZ - 1002). New Zealand Journal of Botany, 1980. 18:209~214
- [9] 唐效蓉,李午平,黎玉才,左海松,殷元良. 杂交柳优良无性系组培快繁技术研究. 湖南林业科技, 29(4):28~30