

沙棘组织培养体系建立的研究进展

吴彤¹, 赵英^{1,2}, 韩晓燕³

(1. 新疆农业大学, 新疆乌鲁木齐 830052; 2. 新疆林业厅林果办, 新疆乌鲁木齐 830000; 3. 阿勒泰小浆果研究中心, 新疆阿勒泰 836500)

摘要 介绍了沙棘组织培养技术中无菌系的建立、外植体的选择、不同部位外植体的培养及生根驯化等方面的研究现状, 总结出沙棘组织培养的条件和目前存在的问题, 并提出今后的展望, 为今后沙棘组培快繁技术及工厂化育苗奠定基础。

关键词 沙棘; 组织培养; 体系

中图分类号 S 723.1 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2019)18-0010-03

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2019.18.002



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Research Advances on Establishment of Seabuckthorn Tissue Culture System

WU Tong¹, ZHAO Ying^{1,2}, HAN Xiao-yan³ (1. Xinjiang Agricultural University, Urumqi, Xinjiang 830052; 2. Fruit Office of Xinjiang-Forestry Department, Urumqi, Xinjiang 830000; 3. Altay Berries Research Center, Atai, Xinjiang 836500)

Abstract This paper introduced the establishment of aseptic system, selection of explants, cultivation of different parts of explants and rooting and domestication in seabuckthorn tissue culture technology, and summarized the conditions and current problems of seabuckthorn tissue culture. This paper put forward the future prospects, and lay the foundation for the future rapid development of seabuckthorn tissue culture and planting and breeding.

Key words Seabuckthorn; Tissue culture; System

沙棘(*Hippophae rhamnoides* L.) 又称酸刺、醋柳, 属胡颓子科(Elaeagnaceae) 多年生灌木、小乔木植物。沙棘有 6 种 12 亚种 268 个品种, 且呈逐年扩张趋势^[1]。沙棘是雌雄异株植物, 单性花, 腋生总状花序, 通过风媒传粉。果实为小浆果, 呈椭圆或球状, 大多为橙色, 少橙红色或红色^[2]。沙棘对生长环境要求较低, 在地表厚度仅 5 cm 的土壤、pH 9.0 以上的强碱地、含盐量 110% 以上的盐地、极寒酷热等极端环境条件下均能存活^[3]。沙棘分布地带十分广泛, 主要分布在寒温带和欧亚温带地区。在亚洲, 沙棘属植物分布最为广泛, 类群也最为丰富, 横断山至青藏高原及其边缘地区是沙棘属植物类群最为丰富的地区^[4]。在我国沙棘有 6 种 8 亚种, 分别为分布在新疆天山以北的蒙古沙棘和天山以南的中亚沙棘、昆仑山脉的中亚沙棘、青藏高原的西藏沙棘和肋果沙棘、西藏东南部的柳叶沙棘、云贵高原等地区的云南沙棘、青藏高原东部的江孜沙棘^[5]。

沙棘的生命力顽强、适应性强, 具有广泛的生态环境改造作用, 是我国建设“三北防护林体系工程”林业生态工程中的先锋树种^[6]。沙棘在防止水土流失、荒漠化等综合治理方面具有重要的生态效益, 每年在防止水土流失量上可达 740 t/hm², 每年在防风固土量上可达 660 t/hm²^[7]。另外, 沙棘为非豆科类固氮植物, 一年生沙棘苗木中有 30% 以上的根系带有根瘤组织, 沙棘林的根瘤可固氮 180 kg/hm², 相当于 375 kg 尿素的肥力^[8]。沙棘除具有较高的生态价值外, 还具有很高的营养价值和药用价值, 是联合国特用经济林树种, 广泛应用于食品、医疗、保健等方面^[9]。沙棘被称为第三代果实, 在所有水果和蔬菜中, V_C 和 V_E 含量最高, 微量元素含

量在所有水果和蔬菜中也居首位。沙棘叶、果实、种子中含有高成分的黄酮, 有较高的医疗价值。沙棘果实和叶片中活性成分已达 200 余种^[10], 营养丰富, 蛋白质含量高, 也可以作为优良的家畜牧草。综上所述, 沙棘是一种集生态价值、食用价值、药用价值等于一体的优良树种, 具有广泛的开发应用前景。

由于沙棘自身高效益、高价值的优越性, 自 1985 年以来, 我国沙棘种植及相关系列产品的开发利用得到迅速发展, 但迄今为止沙棘在种植方面仍存在苗木品种杂乱、雌雄柱分布不均、长势参差不齐等现象, 严重制约了沙棘产业的发展, 随着沙棘生产发展的加快, 对沙棘低产低效林进行品种更替改良、加快良种沙棘快速繁殖显得尤为重要^[11]。组织培养技术是实现沙棘规模化生产有效的技术手段, 也是开展沙棘基因遗传转化育种、保存种质资源、抗寒耐盐等机理研究的重要前提^[12]。尽管沙棘适应性强, 分布广泛, 但组织培养技术可以使沙棘的繁殖不受时间和地域的限制, 通过组织培养技术手段可在较短时间内获得优良单株, 提高繁殖系数, 实现优良品种的快速繁殖, 尤其在沙棘定性繁育方面具有很大的发展前景^[13]。笔者对沙棘组织培养技术中外植体的选择、无菌系的建立、不同部位外植体的培养及生根驯化等关键技术的研究现状进行综述, 总结沙棘组织培养的条件和目前存在的问题, 以期今后沙棘组培快繁技术及工厂化育苗奠定基础。

1 外植体的消毒

初代外植体的消毒处理是组织培养建立的一步, 也是最关键的一步, 选择合适的消毒试剂、浓度、处理时间对组织培养的初步成功起着重要作用。周松坤等^[14]对几个不同时期不同部位的沙棘外植体设计了 9 种消毒方式, 发现 9 种处理方式均对木质化茎段消毒不佳, 调整成分后也未得到改善, 而加入冰块发现污染率下降, 但外植体生长不旺盛; 使用升

基金项目 中央财政林业科技推广示范项目(ZYLYKJTG2015014)。

作者简介 吴彤(1994—), 男, 河南洛阳人, 硕士研究生, 研究方向: 森林培育技术。

收稿日期 2019-04-23

汞和乙醇混合处理后污染率降低,污染率也随着消毒时间的增加而降低;几个不同消毒处理对叶片污染率的影响均不大,但随着消毒时间的增加,成活率污染率明显加大,最佳方法为使用乙醇处理 30~40 s,升汞处理 3~4 min。杨丽萍等^[15]用 0.1%的升汞、次氯酸钠、双氧水、乙醇 4 种消毒试剂,设计出 6 种不同消毒处理对 4—10 月的沙棘茎段消毒,得出使用 0.1%升汞加 20%乙醇混合处理 5~10 min 污染率最低。

由上述研究可知,沙棘初代外植体消毒处理主要使用升汞、次氯酸钠、双氧水、乙醇作为消毒试剂,但单独使用乙醇消毒效果并不好,使用升汞及升汞与乙醇混合处理消毒效果较好。

2 外植体的取材时间

由于不同时期外植体的成熟度、活力、细菌携带量、营养成分和内源激素水平不同,因此不同采集时期也对外植体初代培养结果有很大影响。张建全等^[16]以当年生不同时期的沙棘嫩枝为材料进行试验,发现 5—6 月上旬是接种外植体的最佳时期。徐虹等^[17]通过 1 年生水培茎尖为外植体进行培养,结果 1 月的外植体材料分化率最高,且褐化率与污染率低,生长旺盛。郑子成等^[18]采集各个季节的沙棘腋芽为外植体,发现在 3—4 月采集的外植体材料接种后萌发率最高可达 100%,由此得出此时期为最佳培养时间;5 月的外植体材料污染率高,玻璃化高;7—9 月外植体褐化严重,9 月至次年 2 月的外植体萌发率最低、污染率极高。张广军等^[19]和康冰等^[20]也得出类似的结论,认为最适接种时间为 3 月。吕月玲等^[21]对俄罗斯大果沙棘进行培养,发现最易培养的是 2 月末至 3 月下旬刚接触休眠的枝条。

由上述研究可知,外植体适宜的采集时期会由于生长环境、地理位置等而有不同,但总的趋势是选择萌动期和发育早期的外植体。

3 外植体的培养

茎尖组织在沙棘组织培养中应用最为广泛,其优点在于其幼嫩、易消毒、对基本培养基和激素适应性广、接种后生长迅速、发芽能力强。吕月玲等^[21]研究发现茎尖外植体的萌发率在 1/2B₅+6-BA 0.5~1.0 mg/L+IAA 0.3~0.5 mg/L 培养基中均达到 90%以上。孙兰英^[22]研究发现茎尖外植体在培养基 1/2MS+KT 0.3~0.5 mg/L+NAA 0.03~0.05 mg/L 中,腋芽诱导率达 85%,使用 BA 替代 KT 发现腋芽诱导率降低。郭春华等^[23]研究表明在顶端分生组织的培养中不需要过高的激素,低浓度的 BA 配合 IBA 有利于沙棘茎尖组织的分化。董敬超^[24]研究发现,在使用 1/2MS 基本培养基的情况下,BA 浓度在 0.10~0.25 mg/L 时茎尖分化率较高。霍川等^[25]研究发现沙棘品种深秋红的茎尖组织在培养基 1/2MS+6-BA 0.5 mg/L 中诱导良好,分化芽数达 2.53。宋维秀等^[26]对西藏沙棘茎尖进行研究,结果发现在 1/2MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L 时,苗高均值达 2.82 cm。

茎段也是沙棘组织培养的重要材料,茎段营养成分含量较高,可直接供腋芽吸收利用,诱导出的芽生长旺盛,但作为初代外植体材料进行培养时会出现消毒不彻底、褐化严重的

现象。董敬超^[27]通过对几个沙棘品种的茎段进行培养,发现实优茎段部位的最佳培养基为 1/3MS+6-BA 0.75 mg/L+IAA 0.3 mg/L,深秋红和状元黄茎段最佳培养基为 1/3MS+6-BA 0.5 mg/L+IAA 0.05 mg/L。韩德伟^[28]研究发现我国沙棘茎段的最佳培养基为 B₅+BA 0.5 mg/L+IBA 0.05 mg/L。于亚军等^[29]以茎段为材料进行研究,结果表明,当使用 1/2 B₅作为基本培养基时,0.2 mg/L 6-BA 有利于茎段的增殖,浓度太高,易出现玻璃化苗;周洁等^[30]研究发现,使用 1/2MS 基本培养基单独添加 6-BA 或 NAA 时,腋芽诱导率较低,当 6-BA 配合 NAA 时,诱导率显著增加。刘洪涛^[31]将无菌茎段接种在 1/2MS+6-BA 0.5~1.0 mg/L+IAA 0.5 mg/L 中繁殖系数达 2.9。

愈伤组织培养在植物组织培养中占有重要地位,通过对外植体进行愈伤组织诱导,诱导的愈伤组织可分化出不定芽,大大提升繁殖系数。刘杰^[32]以沙棘无菌苗的子叶为外植体培养后发现,在 1/2MS 基本培养基下添加 BA 0.3 mg/L+NAA 0.02 mg/L 子叶诱导良好,芽生长正常。李师翁等^[33]研究发现,激素 TDZ 配合 NAA 有利于幼嫩叶片的诱导,分化芽数最高可达 18 个。周松坤^[34]研究发现无菌叶片和茎段愈伤组织在培养基 WPM+BA 0.5 mg/L+2,4-D 0.5 mg/L 中分化良好,愈伤组织分化形成大量绿色不定芽点最终培养出一定高度的健壮新梢。刘志红等^[35]研究发现最适合中国沙棘和蒙古沙棘愈伤组织诱导的培养基为 1/3MS+6-BA 0.5 mg/L+IBA 1.0 mg/L,诱导率可达 75.9%。

由上述研究可知,沙棘的各部位培养多选择以较低浓度的无机盐 1/2MS、1/2B₅ 为基本培养基,添加一定量的细胞分裂素和生长素。生长素多以 IAA、IBA、NAA 为主,浓度大多控制在 0.1~0.5 mg/L。细胞分裂素多以 BA、6-BA、KT 为主,浓度大多在 0.2~1.0 mg/L。但不宜添加过量生长素和细胞分裂素,过量的生长素易引发褐化现象,而过量的细胞分裂素则易导致植株玻璃化。

4 生根诱导

生根诱导是植物组织培养中重要的一步,生根诱导分为瓶内生根与瓶外生根 2 种方式,瓶内生根是沙棘组培主要生根形式。康冰等^[20]使用 6-BA 配合 NAA 在无根苗基部的愈伤组织中成功诱导出不定根。周松坤等^[14]研究发现无根苗在 1/2 B₅+6-BA 0.1 mg/L+IBA 0.4 mg/L 培养基中生根率达 83.8%。徐虹等^[17]对无根苗基部进行生根剂处理 15 min 后,再接至培养基后生根率明显提高。田新华等^[36]对沙棘品种深-杂进行生根培养,发现在 1/4MS+6-BA 0.3 mg/L+IBA 0.5 mg/L 的培养基中生根率达 87.5%,基部生根,根系粗壮。王莉等^[37]通过使用添加适量 IBA 的培养基,成功诱导出根系,根长达 2.5 cm,生根数在 6~8 条。

瓶外生根是将无菌无根苗的生根诱导与生根苗的移植驯化结合起来的生根技术,瓶外生根简化了瓶内生根的再驯化和移植过程,节约成本,提高了出苗时间。在沙棘组织培养中主要还是以瓶内生根为主,瓶外生根技术的研究不多。郭春华等^[23]将沙棘无根苗浸于 50 mg/kg 的 IBA 中处理 18 h

后,成功诱导出根系,根长在2 cm左右。陈宗礼等^[38]研究认为蛭石是瓶外生根的良好基质,可以提高沙棘无根苗的生根率及生根质量。徐航等^[39]在瓶外生根试验中,发现沙棘继代无根苗在IBA中浸泡处理10 min后,生根率可达95%,且生根苗长势良好。

由上述研究可知,在生根培养的研究中大多是通过高浓度生长素类来诱导无根苗生根,其中生长激素大多以IBA为主,瓶内生根需要配合一定量的细胞分裂素来完成。

5 驯化移栽

生根苗的驯化移植是组织培养中试管苗离体快繁体系最后的关键步骤。周洁等^[30]先将生根苗置于河沙中,15 d后移到河沙与腐殖质混合的基质中,30 d后再移栽至土壤中,成活率达60%以上。张端伟^[40]将组培生根苗置入珍珠岩和草炭2:3混合基质中,发现成活率达66.67%。YAO^[41]在组培生根苗的移栽试验中成功获得了根瘤,经过40 d的培养后幼苗可长高30 cm。赵晓翠^[42]将生根苗置于温度20~25℃、湿度60%~70%的大棚中,经过炼苗和营养供给后,大部分移栽成活。

由上述研究可见,驯化移植中生根苗基质需具有一定的透气性。另外无根苗的存活程度不仅在于基质的选择,还与生根苗的状态、高度、根系的数量和外界影响情况有关。

6 展望

国内近年来对沙棘组织培养方面的研究获得了一些成效,大大推进了沙棘良种产业化的进程。但至今为止沙棘在组织培养方面的研究结果仍差异较大,其原因可能是地区差异、使用不同的组培方法以及不同来源的沙棘品种对培养基各激素成分的耐受程度不同而引起,总体而言,目前沙棘在组织培养技术应用中仍处于快繁体系完善阶段,为了更好地推进沙棘的开发利用和生态建设的发展,建议以后研究中可根据当地沙棘的特性,因地制宜地筛选出不同来源、不同品种的最适培养条件,更好地完善沙棘的组织培养繁殖体系。

参考文献

- [1] 柳俊先.浅谈沙棘资源开发与利用的效益[J].中国集体经济,2018(31):86-87.
- [2] 刘文浩.沙棘果肉油脂含量与果色的相关性分析[J].吉林农业,2019(5):55.
- [3] 闫双虎.沙棘种植技术及其资源开发与利用的研究[J].农业开发与装备,2019(1):220-221.
- [4] 陈学林,廉永善.沙棘属植物的分布格局及其成因[J].沙棘,2007,20(4):1-5.
- [5] 朱佳妮,郭静.沙棘种植技术及其资源开发与利用探索[J].农业开发与装备,2017(3):171.
- [6] 段爱国,张建国,罗红梅,等.生态经济型沙棘良种“森森”[J].林业科技通讯,2017(5):54.
- [7] 吴汪洋,张登山,田丽慧,等.高寒沙区人工沙棘对风沙危害的生态响应[J].水土保持通报,2018,38(3):1-7,13.
- [8] 李利坤,刘回民,刘树英,等.沙棘根瘤菌对沙棘植株生长的影响[J].黑龙江畜牧兽医,2018(23):152-156.
- [9] 李清花,弓子敬,侯立功.沙棘功效研究及产业发展措施探索[J].种子科技,2017,35(12):80-81.
- [10] 陈燕玲.沙棘药用成分的研究及其活性初步探讨[D].无锡:江南大学,

2017.

- [11] 黄焕仪,游娜.沙棘产业发展前景广阔亟需深耕——中国林业产业联合会沙棘产业分会在京成立[J].中国林业产业,2018(4):25-26.
- [12] 刘丽颖.沙棘苗木繁殖技术研究综述与展望[J].国际沙棘研究与开发,2006,4(2):37-42,48.
- [13] 孙文娟,黄汉爱.沙棘丰产栽培及果实采收技术试验研究[J].林业科技通讯,2016(8):51-52.
- [14] 周松坤,宋西德,张宗勤,等.良种沙棘“实优一号”组织培养研究[J].西北林学院学报,2006,21(3):67-71.
- [15] 杨丽萍,张虎林,赵秀梅.沙棘离体快速繁育技术研究[J].国际沙棘研究与开发,2004,2(1):12-16.
- [16] 张建全,全文娟,孙兰英.沙棘离体培养试验研究[J].中国林副特产,2009(2):33-34.
- [17] 徐虹,梁宗敏.沙棘组织培养技术的研究[J].西北植物学报,2001,21(2):267-272.
- [18] 郑子成,何淑勤.大果沙棘组织培养技术[J].中南林学院学报,2003,23(4):42-45.
- [19] 张广军,康冰,吕月玲,等.引进俄罗斯良种沙棘的组培系统研究与构建[J].沙棘,2002,15(1):8-9.
- [20] 康冰,张广军,吕月玲,等.俄罗斯大果沙棘组织培养技术研究[J].西北农林科技大学学报(自然科学版),2002,30(6):162-166.
- [21] 吕月玲,张广军,康冰,等.俄罗斯大果沙棘离体快繁研究[J].湖南农业大学学报,2002,28(5):405-407.
- [22] 孙兰英.沙棘组织培养与植株再生研究[J].国际沙棘研究与开发,2004,2(2):28-30.
- [23] 郭春华,徐玉霞.沙棘优良品系茎尖组织培养技术初探[J].沙棘,2000,13(1):26-27.
- [24] 董敬超.沙棘品种“实优1号”的组织培养技术[J].北方园艺,2012(19):127-130.
- [25] 霍川,赵英,张西珍,等.沙棘品种深秋红茎尖组织培养[J].安徽农业科学,2016,44(18):127-129.
- [26] 宋维秀,昂毛吉,朋毛卓玛.西藏沙棘茎尖组织快繁技术初步研究[J].安徽林业科技,2016,42(3):23-26.
- [27] 董敬超.沙棘组织培养快繁技术研究[J].农业科技通讯,2015(6):160-162,291.
- [28] 韩德伟.中国沙棘组织培养两步成苗技术研究[J].北方园艺,2012(3):114-115.
- [29] 于亚军,夏新莉,尹伟伦.沙棘优良抗旱品种离体再生体系的建立和优化[J].北京林业大学学报,2010,32(2):52-56.
- [30] 周洁,岳冬梅,陈贵,等.沙棘组培快繁技术研究[J].安徽农业科学,2005,33(2):236-237,249.
- [31] 刘洪涛.沙棘品种实优1号茎段组培技术研究[J].农业科技通讯,2018(6):145-147.
- [32] 刘杰.沙棘组织培养与扦插繁殖技术的研究[D].北京:北京林业大学,2004.
- [33] 李师翁,范小峰,卢东平.大果良种沙棘愈伤组织诱导及植株再生的研究[J].西北植物学报,2001,21(2):262-266,392.
- [34] 周松坤.两个沙棘优良无性系组织培养的研究[D].杨凌:西北农林科技大学,2006.
- [35] 刘志红,解庆,李周岐.沙棘胚状体诱导分化技术研究[J].山西农业大学学报(自然科学版),2018,38(8):15-19.
- [36] 田新华,卢慧颖,曹焱,等.杂交沙棘新品种深-杂的组织培养研究[J].中国林副特产,2015(2):13-15.
- [37] 王莉,徐慧霞,郭雪,等.沙棘茎段组织培养体系优化研究[J].大连民族大学学报,2016,18(5):466-468.
- [38] 陈宗礼,薛皓,冯晔,等.影响狗头枣组培苗试管外生根的若干因素初探[J].延安大学学报(自然科学版),1996,15(4):41-49.
- [39] 徐航,赵英,韩晓燕,等.沙棘组培苗瓶外生根技术研究[J].经济林研究,2018,36(3):182-186.
- [40] 张端伟.沙棘优良无性系组培技术优化研究[D].杨凌:西北农林科技大学,2008.
- [41] YAO Y M. Micropropagation of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) [J]. Agricultural and food science, 1995, 4(5/6): 503-512.
- [42] 赵晓翠.北方沙区大果沙棘繁育及栽培技术[J].防护林科技,2018(3):85,95.