

尾赤桉组织培养技术研究*

陈剑勇, 宋建英, 林 威, 苏孝同, 王宝钦, 黄信堂

(福建林业职业技术学院, 福建 南平 353000)

摘要:以根部萌蘖条的顶芽或茎段为外植体, 在不同基本培养基和不同激素及不同浓度水平下诱导尾赤桉, 进行组培研究. 结果表明: 外植体最佳诱导培养基为改良 MS + 6-BA 0.3 mg/L + IBA 0.5 mg/L, 诱导率达 71.2%; 芽增殖培养基为改良 MS + 6-BA 0.4 mg/L + NAA 0.6 mg/L; 生根培养基为改良 MS + IBA 1.0 mg/L, 生根率 98%. 移栽基质以红心土为佳.

关键词:尾赤桉; 组织培养; 无性繁殖

中图分类号:S723.132 **文献标识码:**A **文章编号:**1003-7179(2006)03-0044-03

桉树属桃金娘科 (Myrtaceae) 桉树属 (*Eucalyptus*) 树种的总称, 是世界上著名的三大速生树种之一, 也是世界上最有价值的阔叶硬质材树种之一, 原产澳大利亚. 该属树种多达 945 种, 分布跨度大, 表现差异也大, 在世界上 100 多个国家引种栽培, 均表现出适应性强、生长快、速生丰产性能好, 产量高、周期短等优良性状^[1]. 木材除用于车船、建筑、矿山和人造板工业外, 还是重要的制浆造纸工业原料, 是培育短周期工业原料林的最佳树种之一. 由于桉树是异花授粉的多年生木本植物, 常易天然杂交, 后代严重分离. 用有性繁殖方法很难保持其优良特性, 采用常规的无性繁殖如扦插、嫁接等方法繁殖苗木, 常因优树材料来源、繁殖季节、育苗环境等因素约束, 严重制约着应用推广的速度^[2-3]. 采用组培快繁技术繁殖优良母株, 既保持了母株的特性又能达到快速繁殖的目的, 是生产桉树优良无性系广泛采用的繁殖技术. 尾赤桉 (*Eucalyptus urophylla* × *E. camaldulensis*) 是尾叶桉与赤桉经天然杂交后优选而得的, 具有耐寒速生、抗青枯病和蕉枯病的特性, 是适宜较冷地区发展的优良速生树种之一. 2003 年该树种引种到福建林业职业技术学院林果场, 2003 年底起选取优良单

株进行组培快繁技术的研究, 获得了成功.

1 材料与方法

1.1 试验材料

从福建林业职业技术学院引种的尾赤桉中选取优良单株根部萌蘖条, 作为外植体来源.

1.2 试验方法

将采集回的萌蘖条于自来水下冲洗干净, 剪除叶片, 并剪成长约 2~3 cm 带茎节的小段, 置于小烧杯中, 倒入 75% 酒精迅速灭菌 15~20 s, 用无菌水漂洗 1~2 次, 然后进入无菌操作室. 在超净工作台上将材料放于经高压消毒灭菌的玻璃烧杯中, 倒入 0.1% HgCl_2 溶液, 其液面应浸没材料 1~2 cm, 用无菌的玻璃棒不断搅拌, 消毒 2~6 min 后, 倾去 HgCl_2 溶液, 用无菌水冲洗 5~6 次. 将材料用无菌滤纸吸干表面水分后, 切取顶芽和 0.5~1.0 cm 长带芽茎段, 接种于经 121 °C, 1.1 kg/cm² 高温高压灭菌的无菌培养基上.

采用 MS, 改良 MS 作基本培养基, 附加各种不同浓度的激素组合进行试验. 培养基中加入 0.7% 琼脂, pH 为 5.6~5.8, 蔗糖 3%, 培养温度 (26 ± 2) °C, 光照强度 2 000~3 000 lx, 光照时数 12 h/d.

* 收稿日期: 2005-06-21

基金项目: 福建林业职业技术学院科研基金资助项目 [院 (2004-8)].

作者简介: 陈剑勇 (1980-), 男, 福建仙游人, 助理实验师, 主要从事植物组织培养技术的研究.

2 结果与分析

2.1 外植体诱导培养

将外植体接种到附加细胞分裂素 6-BA 0.1~0.5 mg/L 和生长素 IBA 0.1~1.0 mg/L 的 MS 和改良 MS 培养基中,接种后暗培养 7~10 d,30 d 后调查诱导结果,见表 1。

表 1 不同培养基及激素组合对茎芽诱导的影响

培养基 ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	茎芽诱导率/%					
	6-BA	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
	IBA	0.1	0.3	0.5	0.7	1.0
MS		48.2	51.9	53.8	50.5	40.7
改良 MS		54.4	61.3	71.2	65.7	43.5

从表 1 中可看出,以改良 MS 为基本培养基,外植体诱导率明显高于 MS,说明尾赤桉的外植体诱导以改良 MS 作为基本培养基较为适宜。附加适量的 6-BA 和 IBA,有利于芽萌动和生长。随着 6-BA 和 IBA 浓度水平的增加,所诱导的茎芽也随之增加,当 BA 浓度增加到 0.3~0.4 mg/L,IBA 浓度增加到 0.5~0.7 mg/L 时,茎芽的诱导率有下降的趋势。在试验使用的 6-BA 和 IBA 浓度范围内,以 6-BA 0.3 mg/L + IBA 0.5 mg/L 组合最佳,外植体诱导率达 71.2%。

2.2 芽的增殖培养

当诱导出的新芽长至 1 cm 左右时,切取新芽

转接到继代增殖培养基上。培养基选用改良 MS 为基本培养基,附加适量的植物激素。由于尾赤桉用的是促进腋芽萌发的途径,单用细胞分裂素 6-BA,也可得到丛生苗,但所得的芽苗丛生,密集成球状,节间极度缩短,抽长非常缓慢,或不抽长,因此必须附加一定量的 NAA,才能在培养时取得更多的健壮小苗进入生根。试验中取 6-BA 0.1, 0.2, 0.4, 0.6 mg/L 4 种浓度水平和 NAA 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 mg/L 4 种浓度水平正交,形成 16 种不同浓度组合的增殖培养基。每种培养基接种 50 个芽,30 d 后统计结果(见表 2)。尾赤桉组培有效芽标准一般为:茎芽高度 2.5 cm 以上,芽增殖倍数 3 倍以上^[4-5]。从表 2 结果得知,当 NAA 浓度一定时,在 6-BA 0.1~0.4 mg/L 范围内,所诱导的芽苗数随 6-BA 浓度的增加而增加,当 6-BA 浓度增加到 0.6 mg/L 时,诱导的芽苗倍数有下降趋势。观察芽苗生长状况表明:当 6-BA 浓度一定时,在 NAA 0.2~0.6 mg/L 浓度范围内,随 NAA 浓度的增加,芽苗的平均高度随之增加,当 NAA 浓度增加到 0.8 mg/L 时,则明显抑制了芽苗的生长。只有 6-BA 0.4 mg/L + NAA 0.6 mg/L 浓度组合,芽苗平均增殖倍数才在 3.0 以上,平均高度 2.5 cm 以上,为最佳增殖培养基。

表 2 不同浓度激素组合对茎芽增殖的影响

NAA ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	6-BA/($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)							
	0.1		0.2		0.4		0.6	
	芽增殖倍数/倍	芽苗平均高/cm	芽增殖倍数/倍	芽苗平均高/cm	芽增殖倍数/倍	芽苗平均高/cm	芽增殖倍数/倍	芽苗平均高/cm
0.2	2.9	2.3	3.3	2.1	4.1	1.8	3.2	1.3
0.4	2.5	2.5	2.8	2.2	3.7	2.1	2.6	1.5
0.6	1.8	3.1	2.4	2.8	3.2	2.6	2.0	1.9
0.8	1.6	2.1	2.1	1.9	2.5	1.8	1.7	1.4

在试验中同时观察到,尾赤桉培养的环境条件以温度(26 ± 2)℃,光照强度 2 000~3 000 lx 为宜。温度过高、过低都不利于芽的生长分化,温度低,芽生长缓慢,周期长,影响增殖速度;温度过高,容易产生水肿状的“玻璃化苗”,影响芽的质量。昼夜温度差距大或温度时高时低,芽的叶片容易产生愈伤组织。光照对尾赤桉芽的生长影响也很大,光照太强,芽生长粗短,影响分化率;光照弱,芽生长纤细。试验中把刚接种的继代材料先置于弱光下培养,1 周后搬置正常光照下培养,这样所得到的芽苗不仅粗壮、整齐,叶片伸展,叶色浓绿,茎芽木质化也比较好,利于下一步生根培养。

2.3 生根及移栽

当继代芽培养增殖到一定数量时,就应转入生根培养。将继代培养中的有效芽单株切下,接种到附加 IBA 0.1, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 mg/L 5 种不同浓度水平的改良 MS 培养基中。芽苗进入生根培养基培养前 10 d,先在室内弱光下培养,在小苗有 70% 生根,其余小苗也明显观察到根点突出时,再移到强光下培养。结果表明:以改良 MS 为基本培养基,附加 IBA 0.1, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0 mg/L 5 种不同浓度水平的芽苗生根率分别为 77%, 91%, 98%, 83%, 62%。在 IBA 0.1~1.0 mg/L 范围内,生根率随处理浓度的增加而增加,当 IBA 浓度超

过 1.0 mg/L 时,组培苗下端便产生愈伤组织,根从愈伤组织中产生,生根率下降. 试验中,以改良 MS + IBA 1.0 mg/L 培养基对尾赤桉的生根培养效果最好,生根率达 98%.

当生根苗根系长至 0.5 ~ 1.0 cm 时,将生根瓶苗搬离培养室,置于大棚移苗处进行自然环境炼苗. 炼苗是桉树组培生根苗进入移栽阶段前必要的一环^[6]. 组培苗不仅长期处于无菌状态下培养,又在具有优越的温、湿、光条件的培养室生长,质地比较幼嫩,抵抗力差,如直接移栽,难以适应自然状态下的气候变化,影响成活率^[7]. 经过约 1 周时间的炼苗,当小苗的叶片充分展开,苗茎颜色转绿、木质化程度增强时,就应及时洗苗移栽. 移栽基质选用红心土为佳,不仅原料来源方便,成本低,移栽成活率和造林成活率均比较高,为规模化生产中比较理想的栽培基质.

3 结论与建议

(1) 以尾赤桉根部萌蘖条的顶芽或茎段为外植体,改良 MS + 6 - BA 0.3 mg/L + IBA 0.5 mg/L 为最佳诱导培养基,诱导率达 71.2%;芽增殖培养基为改良 MS + 6 - BA 0.4 mg/L + NAA 0.6 mg/L,芽繁殖倍数达 3.0 以上;改良 MS + IBA 1.0 mg/L 为最佳生根培养基,生根率 98%.

(2) 根据植物生理学理论,林木外植体越接近树干基部越具有幼态细胞特性,这类外植体褐变程度较轻,这一规律在尾赤桉组培工作中,对外植体的选取试验中表现较为明显. 试验中,除采取暗培养外,在培养基中同时加入半胱氨酸、核黄素

等抗氧化剂来抑制褐化现象的发生.

(3) 在尾赤桉的离体培养过程中,由于要保持其优良品种的遗传稳定性,通过愈伤组织分化成芽,较易引起染色体变异,不宜提倡,而只能用促进腋芽萌发的途径,这在其他木本植物优良品种的离体快繁中同样适用.

(4) 尾赤桉生根试验时,还试验 ABT(1 号)生根粉,但效果不如 IBA 理想. 生根培养时,根系随培养时间的延长逐渐由白色转为黑色,成活率下降.

(5) 移栽初期,要控制好温、湿度,温度太高或太低,湿度太低均不利于小苗成活,要注意病虫害防治,特别是病害的发生,如发现有病死植株,应及时拔除.

[参 考 文 献]

- [1] 李二波,奚福生. 林木工厂化育苗技术[M]. 北京:中国林业出版社,2003:6-78.
- [2] 谭文澄. 观察植物组织培养技术[M]. 北京:中国林业出版社,1991:84-141.
- [3] 吴丽君. 神灯白掌组织培养的研究[J]. 福建林学院学报,2001,21(2):169-172.
- [4] 陈碧华. 尾叶桉组织培养快速繁殖的研究[J]. 福建林业科技,2002,29(2):9-11.
- [5] 余小涵. 直杆蓝桉组织培养繁殖育苗试验研究[J]. 福建林业科技,2002,29(3):26-29.
- [6] 高丽琼,谢耀坚. EC21 号桉树无性系的组织培养技术研究[J]. 桉树科技,2000,(1):27-29.
- [7] 邱运亮,陈盛彬,陈志阳. 不同激素对比对赤桉组培苗生根的影响[J]. 林业科技开发,2001,15(4):35-36.

A Study on Tissue Culture of *Eucalytus urophylla* × *E. camalduiensis*

CHEN Jian - yong, SONG Jian - ying, LIN Wei, SU Xiao - tong, WANG Bao - qin, HUANG Xin - tang

(Forestry Polytechnic College of Fujian Province, Nanping Fujian 353000, China)

Abstract: By makusing use of apical buds or stem sections as the explants, the tissue culture of the stump shoots of *Eucalytus urophylla* × *E. camalduiensis* was experimented with different fundamental media, different types and different concentration levels of plant growth regulators. It was showed by the results that the optimal medium for explant induction was the improved MS + 6 - BA 0.3 mg/L + IBA 0.5 mg/L, and the induction rate reached 71.2%. The best medium for bud multiplication was the improved MS + 6 - BA 0.4mg/L + NAA 0.6mg/L and the best medium for rooting was the improved MS + IBA 1.0 mg/L, whose rooting rate reached 98%. Red - heart soil was the optimal substrate material for transplanting of the nurtured young plant.

Key words: *Eucalytus urophylla* × *E. camalduiensis*; tissue culture; vegetativepropagation