

巨桉优良无性系组培及区域试验

张梅坤

(漳州市林业中心苗圃, 福建 漳州 363000)

摘要: 通过对巨桉 11 个优良无性系组培快繁研究, 结果表明, 巨桉外植体诱导以 B_1 为基本培养基添加激素 BA $0.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 NAA $0.1 \sim 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 诱导外植体最佳, 诱导率可达 79% 以上; 丛芽苗增殖调节培养基中激素浓度和基本培养中 N、P、K、Ca、Mg、Fe 的浓度配比使其芽体健壮, 加快繁殖速度; 生根培养以 B_2 为基本培养基添加 ABT $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + IBA $0.1 \sim 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 生根率可达 80% 以上; 组培苗移栽基质选用泥炭土和竹炭肥, 成活率达 90% 以上。区域试验表明, 巨桉是较理想的速生耐寒桉树树种, 可耐寒 -4°C 左右。

关键词: 巨桉; 组培快繁; 区域试验

中图分类号: S792.39 **文献标识码:** A **文章编号:** 1002-7351(2007)03-0069-04

The tissue culture and regional tests of excellent clones of *Eucalyptus grandis*

ZHANG Mei-kun

(Zhangzhou Forestry Central Nursery, Zhangzhou, Fujian 363000, China)

Abstract: The tissue culture and rapid propagation of 11 excellent clones of *Eucalyptus grandis* were studied in this paper. The results showed the optimal explant induction medium was B_1 supplemented with $0.4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ BA and $0.1 \sim 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA, and its induction rate was more than 79%. In the cluster bud propagation medium, the proper combination of hormones and N, P, K, Ca, Mg, Fe concentration made the buds and shoots strong, and propagation quickly. The optimal rooting medium was B_2 supplemented with $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ABT and $0.1 \sim 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IBA, and its rooting rate could achieve 80%. The soil medium for transplant was peat moss and bamboo charcoal fertilizer, its survival rate reached more than 90%. The regional tests indicated that *Eucalyptus grandis* was the ideal fast-growth and cold-tolerance species which could bear -4°C .

Key words: *Eucalyptus grandis*; tissue culture and rapid propagation; regional test

巨桉(*Eucalyptus grandis*)为世界栽培面积最大的一种桉树,我国从 20 世纪 60 年代开始引种,栽培面积逐年扩大,基于这一趋势,继续对巨桉进行深入研究,特别是利用生物技术对其优良无性系快繁,以满足生产上的需求^[1]。研究证明,无性系苗木保持了母本优良遗传品质,用无性系苗木造林具有单位面积产量高,林相整齐,便于经营等优点,对此,本项目在巨桉组培快繁的基础上,对已选育成功的优良家系和优良无性系开展了不同区域试验,以期为巨桉工厂化生产和营建桉树速生丰产林基地提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

巨桉外植体取自龙岩市林科所收集的优良巨桉母树萌发的穗条经扦插繁殖培育的无性系苗木,共 11 个无性系。

1.2 试验方法

1.2.1 外植体消毒方法与培养条件 选取外植体时,于晴天选取生长健壮、无病虫害的桉树植株,剪取半木质化的幼嫩枝条作为外植体,剪去叶片(留叶柄),用加有少许洗洁精的水清洗 1~2 次,再用流水冲洗干净,然后在超净工作台上用 0.1% 的氯化汞消毒 4~6 min,并摇动数次,最后用无菌水清洗 4~5 次,将已经消毒好的材料切成约 2 cm 长段,每段留 1~2 个腋芽,然后斜插或垂直插在诱导芽的培养基上。培养条件:温度 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$, 光强度 2 000~2 500 lx, 培养时间 $10 \sim 12 \text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$ ^[5]。

收稿日期: 2007-03-31; **修回日期:** 2007-06-07

作者简介: 张梅坤(1966-),男,福建诏安人,漳州市林业中心苗圃工程师,从事森林培育研究。

1.2.2 诱导外植体与培养基选择 诱导培养基为 B₁, 添加不同浓度 BA 和 NAA, 采用单因素随机完全区组试验设计, 每组合处理接种 30 瓶, 3 次重复, 培养 30 d 后统计分析适合诱导的不同激素水平^[2]。

1.2.3 丛芽苗增殖培养 当丛芽苗长至 1 cm 时, 切取腋芽进行继代培养, 在继代过程中, 据丛芽生长情况调节培养基中激素浓度和大量元素中 N、P、K、Ca、Mg、Fe 的浓度配比, 直至其适合继代的培育材料。增殖培养基分别添加浓度为 0.3 mg·L⁻¹、0.5 mg·L⁻¹、1.0 mg·L⁻¹、1.5 mg·L⁻¹ 的 6-BA; 以及浓度为 0.1 mg·L⁻¹、0.3 mg·L⁻¹、0.5 mg·L⁻¹ 的 NAA。每瓶 10 个芽, 每个处理 30 瓶, 重复 3 次。

1.2.4 生根培养 当丛生芽长至 2 cm 左右时, 切下高 1.8 cm 左右的嫩枝作为生根材料, 接种在 B₂ 为基本培养基, 添加不同浓度 ABT 和 IBA, 试验设计采用单因素随机完全区组, 每组合接种 30 瓶, 3 次重复, 先在室内弱光条件下培养 10 d, 发根率到 50% 时转入炼苗大棚自然散射光下培养 10~15 d, 并以生根率和生根数进行结果分析, 见表 2。

待生根小苗充分木质化, 叶片舒展, 叶色浓绿, 苗茎紫红, 茎轴伸长, 苗高 3 cm 左右时即可进行移栽。移栽时倒出培养基, 取出小苗, 用水洗净残留在根上的培养基, 并截去过长的根系, 保留 2~2.5 cm

长, 移栽于经 0.2% 高锰酸钾消毒过的营养袋中, 淋透水, 覆盖薄膜保持一定的温度和湿度, 并要避免阳光直射。

1.2.5 区域试验 由龙岩市林业研究所等单位提供 11 个巨桉新品系选放在福建省闽中南进行区域试验, 通过物候、生长量、抗性 etc 定位观测, 经生长量、抗性 etc 指标统计分析, 提出巨桉适宜栽培范围。

2 结果与分析

2.1 芽诱导频率

各无性系芽的诱导情况如表 3。从表中可以看出 P₄、P₅ 及 P₆ 芽诱导频率较高, 均在 79% 以上, 对不同无性系诱导频率均值为 83.35%、91.24%、89.02%。方差分析结果表明, 无性系间在不同激素组合下的芽诱导频率有一定差异, 但差异不明显; 不同激素组合处理对无性系的芽诱导频率差异明显, 达极显著水平。

表 3 各无性系在不同激素组合下的芽诱导频率

无性系	芽诱导频率/%								
	P ₁	P ₂	P ₃	P ₄	P ₅	P ₆	P ₇	P ₈	P ₉
巨桉 A ₁	58.3	60.2	56.8	79.1	92.6	86.5	80.6	68.8	63.5
巨桉 A ₂	65.3	63.8	60.0	85.6	89.8	92.4	74.6	62.3	70.2
巨桉 A ₃	55.9	65.2	52.6	84.6	95.3	90.1	78.6	65.1	65.3
巨桉 A ₄	58.1	59.8	58.1	88.2	89.7	92.3	80.7	67.9	61.5
巨桉 A ₅	59.4	66.1	54.6	79.5	90.8	88.9	77.3	75.6	70.0
巨桉 A ₆	60.1	67.2	58.3	79.8	93.0	87.6	70.0	74.3	68.2
巨桉 A ₇	54.6	58.6	51.9	83.1	87.6	88.2	79.1	71.6	66.9
巨桉 A ₈	52.9	56.3	59.0	84.5	88.7	89.3	80.6	69.8	65.1
巨桉 A ₉	57.2	54.9	56.8	86.7	95.1	92.1	79.4	75.2	63.2
巨桉 A ₁₀	51.6	57.2	57.6	79.6	87.7	85.2	73.6	71.8	62.3
巨桉 A ₁₁	56.4	61.5	54.7	85.7	88.6	84.3	72.1	70.1	64.1
均值	57.58	60.54	55.92	83.35	91.24	89.02	77.72	70.42	65.53

表 1 诱导外植体不同激素组合 单位: mg·L⁻¹

激素组合	处 理								
	P ₁	P ₂	P ₃	P ₄	P ₅	P ₆	P ₇	P ₈	P ₉
BA	0.2	0.2	0.2	0.4	0.4	0.4	0.6	0.6	0.6
NAA	0.1	0.3	0.5	0.1	0.3	0.5	0.1	0.3	0.5

表 2 生根培养不同激素组合 单位: mg·L⁻¹

激素组合	处 理								
	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇	R ₈	R ₉
ABT	0.3	0.3	0.3	0.5	0.5	0.5	0.7	0.7	0.7
IBA	0.1	0.3	0.5	0.1	0.3	0.5	0.1	0.3	0.5

表4 双因素方差分析表

差异源	SS	df	MS	F	F _{0.05}	F _{0.01}
无性系	155.0921	11	14.09928	1.10276	1.9153	2.4871
激素组合	16915.94	7	2416.563	189.0088**	2.1310	2.8807
误差	984.4796	77	12.78545			
总计	18055.51	95				

2.2 丛芽继代培养

桉树组培苗有效茎高度 1.5 cm 以上继代,调节不同激素浓度和基本培养基的 N、P、K、Ca、Mg、Fe 的浓度对丛芽继代培养影响,其结果见表 5。

表5 6-BA 和 NAA 对茎芽生长分化的影响

处理号	生长调节剂浓度/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$		转入芽苗数 /个	转入芽苗 平均高/cm	30 d 后芽 苗数/个	30 d 增殖 倍数/倍	芽苗平均高 /cm
	6-BA	NAA					
1	0.3	0.1	100	1.0	115	1.15	1.1
2	0.3	0.3	100	1.0	123	1.23	2.3
3	0.3	0.5	100	1.0	121	1.21	2.2
4	0.5	0.1	100	1.0	265	2.65	1.4
5	0.5	0.3	100	1.0	281	2.81	2.0
6	0.5	0.5	100	1.0	237	2.37	2.3
7	1.0	0.1	100	1.0	297	2.97	1.2
8	1.0	0.3	100	1.0	289	2.89	1.6
9	1.0	0.5	100	1.0	273	2.73	1.9
10	1.5	0.1	100	1.0	367	3.67	1.3
11	1.5	0.3	100	1.0	379	3.79	1.5
12	1.5	0.5	100	1.0	412	4.12	1.8
均值						2.63	1.72

从表 5 可知,6-BA 和 NAA 对茎芽生长 30 d 增殖倍数为 1.15~4.12 倍,均值 2.63 倍,即生长调节剂对茎芽生长均产生影响,其中 6-BA $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ + NAA $0.3\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 组合的茎芽平均高达 2.0 cm,并且增殖倍数达 2.81,符合要求,因此选择 B₁ + 6-BA $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ + NAA $0.3\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 为巨桉的增殖培养基。

2.3 生根培养

各无性系生根情况如表 6,从表中可以看出,同一无性系中,R₄、R₅ 及 R₆ 的生根率均比其它培养基的生根率高,均值分别为 80.77%、83.11%、75.61%。方差分析表明,不同无性系与不同激素组合间差异均达极显著水平,见表 7。

表6 各无性系在不同激素组合下的生根率

无性系	生根率/%								
	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄	R ₅	R ₆	R ₇	R ₈	R ₉
巨桉 A ₁	48.3	50.2	59.8	73.1	80.6	80.5	60.6	58.8	53.5
巨桉 A ₂	45.3	53.8	57.0	85.6	78.8	72.4	64.6	62.9	50.2
巨桉 A ₃	45.9	47.2	50.6	81.6	85.3	70.1	57.6	45.1	40.3
巨桉 A ₄	41.1	53.8	68.1	78.2	81.7	72.3	60.7	58.9	49.5
巨桉 A ₅	43.4	50.1	50.6	79.5	80.8	78.9	70.3	65.6	60.0
巨桉 A ₆	48.1	52.2	53.3	77.8	83.0	63.6	60.0	54.3	51.2
巨桉 A ₇	46.6	52.6	61.9	83.1	80.6	68.2	59.1	55.6	50.9
巨桉 A ₈	42.9	46.3	49.0	84.5	80.7	79.0	70.6	63.3	55.1
巨桉 A ₉	47.2	44.9	56.0	81.7	82.1	62.1	59.4	55.2	43.2
巨桉 A ₁₀	49.6	54.2	66.6	78.0	87.1	85.8	73.0	67.8	62.9
巨桉 A ₁₁	50.4	61.5	64.7	85.7	85.6	83.1	70.1	66.1	60.1
均值	46.42	51.71	57.93	80.77	83.11	75.61	66.00	60.51	53.58

表 7 双因素方差分析表

差异源	SS	df	MS	F	F _{0.05}	F _{0.01}
无性系	1822.385	11	165.6714	6.8461**	1.8992	2.4561
激素组合	16833	8	2104.125	86.9490**	2.0454	2.7202
误差	2129.558	88	24.19952			
总计	20784.94	107				

2.4 试管苗移栽

待生根苗充分木质化后,以红心土、泥炭土和竹炭肥进行移栽,移栽 30 d 后统计成活率,结果见表 8。从表中可知,选用竹炭肥为基质,长势好,成活率高达 93%,红心土移栽成活率为 89%,LSD 多重比较表明,两者差异显著。

表 8 不同基质对试管苗成活率比较

基质	移栽苗数	成活数	成活率 %	生长势
红心土	100	89	89.0	一般
竹炭肥	100	93	93.0	较好
泥炭土	100	92	92.0	较好

2.5 区域试验

宁德福鼎市白琳试验点桉树生长情况见表 9,从表中可知,巨桉 A₄ 平均树高达 4.4 m(超过 DH32-29 品种 20%),平均地径达 6.34 cm(超过 DH32-29 品种 30%)。这 5 个优良无性系较适应闽东地区造林。

表 9 福鼎市白琳试验点桉树生长情况

生长性状	品 种						
	巨桉 A ₄	巨桉 A ₂	柳隆桉	尾细桉 T ₅	巨桉 A ₁	DH32-29	DH184
平均树高/m	4.4424	2.92	2.71	2.5258	3.8367	3.5097	3.59
平均胸径/cm	6.3394	4.6533	5.2567	3.7903	6.3233	4.8548	5.6267

*:栽植时间为 2004 年 4 月,调查时间为 2004 年 12 月 11 日。

南平延平区太平试验点桉树生长情况见表 10,从表中可知,巨桉 A₃ 的高、径生长量均超过 DH32-29。

表 10 延平区太平试验林场桉树生长情况

品 种	平均树高/m	平均胸径/cm	平均冠幅/m	最大树高/m	最大胸径/cm	最大冠幅/m
巨桉 A ₃	7.84	7.5	2.72	9.2	9.0	3.5
邓恩桉	5.35	5.9	2.56	8.7	8.8	3.1
DH184	7.69	7.32	2.85	8.4	8.4	3.6
DH201-2	8.28	6.9	2.58	9.5	8.2	3.1
巨桉 A ₁	7.15	6.3	2.45	8.4	7.5	2.9
赤桉 ₃₄	4.5	4.2	1.8	5.3	7.3	2.42
尾细桉 T ₅	7.43	5.8	2.17	8.56	7.0	2.75
小果灰桉	6.51	4.6	1.63	7.65	5.6	2.10
DH32-29	7.68	7.2	2.33	9.05	8.6	2.9
柳桉	6.23	6.8	2.56	8.14	8.3	3.4

*:栽植时间为 2004 年 4 月,调查时间为 2004 年 12 月 29 日。

3 讨论

1)从所使用的材料进行组培研究的情况来看,参试无性系材料的芽诱导频率均较高,说明使用龙岩市林科所改良的 B₁ 培养基进行巨桉芽诱导和增殖培养是可行的;使用龙岩市林科所改良的 B₂ 培养基进行生根培养,对大部分无性系来说还是有效的,都能有较高的生根率。

2)通过攻关,选育出 11 个速生耐寒巨桉优良无性系,解决了组培快繁难题,其中芽诱导率在 85.5% 以上,生根率 80% 以上。

3)栽培试验表明,巨桉是较理想的速生耐寒桉树树种,在闽西北、闽东部分地区生长量超过 DH32-29,且耐寒性可达 -4℃ 左右。在极端低温 -1~-4℃ 的区域,营建桉树速丰林基地以选择巨桉较适合。

(下转第 81 页)

王永强等^[3]研究表明,20 mg·L⁻¹和40 mg·L⁻¹的多效唑处理后,花箭高度严重降低,影响了植株整体的美观。与本试验浓度上存在一定的差异,经分析可能有以下原因:首先,试验材料中的供试蝴蝶兰品种不同,不同的品种对药剂的反应结果有差异;其次,灌根时的施入剂量不同,施用剂量是植物生长延缓剂施用中极为关键的一个环节;再次,处理时期和管理措施也存在区别。

本试验证明,采用多效唑能有效抑制蝴蝶兰的花箭高度,延长花期,但处理后对蝴蝶兰生长产生的后续影响,以及不同浓度的多效唑残效期的长短是否有差异,及其作用机理有待于更进一步的观察研究。

3.2 B₉对蝴蝶兰花箭高度和花期的调控作用

试验结果表明,采用B₉能有效抑制蝴蝶兰花箭高度,并且随着浓度的增加抑制作用也加强,但延迟花期1~5 d,花径和花朵数略有减少,但影响不大,适当的浓度可调控花箭高度和花期,以达到预期效果。使用B₉的适宜浓度为1 000 mg·L⁻¹左右,2500 mg·L⁻¹和5 000 mg·L⁻¹处理对其抑制作用太强,使其观赏性下降。

W.Y.T等^[4]试验结果显示,使用丁酰肼(2 500 mg·kg⁻¹,5 000 mg·kg⁻¹,7 500 mg·kg⁻¹)分别浸泡蝴蝶兰小苗5 s,可使其开花期比对照推迟5~13 d,而喷施同样浓度的丁酰肼对花期的影响不大。这与本试验施加B₉能使蝴蝶兰花期延迟是一致的。本试验证明,采用B₉能有效抑制蝴蝶兰的花箭高度,调节花期,但B₉处理后对蝴蝶兰生长产生的后续影响,以及不同浓度的B₉残效期的长短是否有差异,及其B₉调控作用机理有待于更进一步的观察研究。

3.3 PBO对蝴蝶兰花箭高度和花期的调控作用

本试验结果表明,采用PBO能有效调节蝴蝶兰的花箭高度,延长花期,使始花期提前2~7 d,花径略有增大,使叶片增厚,叶色加深,适当的浓度可调控花箭高度和花期,以达到预期效果。综合考虑,PBO处理蝴蝶兰的最适宜浓度为2 000~5 000 mg·L⁻¹,这个浓度范围能安全有效地控制蝴蝶兰花箭高度,延长花期,使其叶片增厚,从而提高蝴蝶兰的花卉品质。

参考文献:

- [1]卢思聪.中国兰与洋兰[M].北京:金盾出版社,1994:12.
- [2]朱根发.蝴蝶兰[M].广州:广东科技出版社,2004:1.
- [3]王永强,王四清.多效唑调控蝴蝶兰花期的研究[J].安徽农业科技,2005,33(3):438.
- [4]Ying-Tung Wang. Flowering and Growth of Phalaenopsis Orchids following growth Retardant Applications [J]. Hortscience, 1994,29(4):285-288.
- [5]汪景艳,钦少华.综述PBO在果树、蔬菜和花卉上使用效果及方法[J].中国果菜,2004(5):23-24.
- [6]韦三力.花卉化学控制[M].北京:中国林业出版社,2000:8.

(上接第72页)

参考文献:

- [1]祁述雄.中国桉树[M].北京:中国林业出版社,2002:43.
- [2]石大兴,王米力,石铁松.巨桉芽器官离体与快繁体系建立的研究[J].林业科学,2003,39(1):69-74.
- [3]裘珍飞,曾炳山,立湘阳,等.6-BA的动态效应对桉树组培出苗率的影响[J].浙江林业科技,2005,25(3):6-9.
- [4]刘有成,陈研华,陈小洁.巨桉组培育苗技术研究[J].广东林业科技,2005,21(3):30-32.
- [5]陈碧华,李乾振,吴丽君,等.巨桉组织培养及工厂化育苗技术研究[J].福建林业科技,2006,33(1):61-63.
- [6]张梓萍.不同基质和施肥对尾巨桉组培苗的影响[J].福建林业科技,2003,30(3):65-67.