

桉树离体快繁研究

祁芳斌

(福建广播电视大学教学管理处, 福建 福州 350003)

摘要:以细尾桉为试材进行离体快繁研究。结果表明:通过二步消毒法,0.1%升汞能有效控制褐变,提高芽苗成活率;芽苗增殖较适宜的培养基为 $MS + 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{BA} + 0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NAA}$;生根较适宜的培养基为 $1/2 \text{ MS} + 0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NAA}$,生根率达96%以上。

关键词:桉树; 细尾桉; 离体快繁

中图分类号: S792.39

文献标识码: A

文章编号: 1673-0925(2006)01-0015-03

In vitro rapid propagation of eucalyptus

QI Fang-bin

(Dean's Office, Fujian Radio-Television University, Fuzhou, Fujian 350003, China)

Abstract: The *Eucalyptus urophylla* × *E. tereticornis* cultivar was used for *in vitro* rapid propagation in this study. The result showed that two-step sterilizing by 0.1% mercuric chloride was available for browning control, which also improved the rate of shoot survival. The optimum media for shoot propagation was $MS + 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{BA} + 0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NAA}$. The rooting medium $1/2 \text{ MS}$ supplemented with $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} \text{NAA}$ resulted in rooting rate of more than 96%.

Key words: eucalyptus; *E. urophylla* × *E. tereticornis*; *in vitro* rapid propagation

桉树为世界三大速生树种之一,其用途广,除了广泛用于建筑、车船、家具和人造板工业外,还是重要的优质制浆造纸工业原料。据不完全统计,我国现有桉树人工林总面积达150万 hm^2 ,位居世界第二,仅次于巴西^[1]。近10年来,广东、广西、海南、福建、湖南、云南等省区广泛种植桉树杂交良种,用于短期速生丰产材料林建设,这些良种表现出生长快、抗性强、材质优良、耐瘠薄等特性。随着人工林的不断扩大,桉树已成为我国南方发展速生丰产林的战略树种。桉树良种,特别是速生丰产、适应各地生长的无性系需求量大,需大量培育以满足当前营造速生丰产林的需要^[2]。利用植物组织培养技术进行桉树离体快繁,既有利于保持树种的优良性状又能满足当前营造速生林的种苗需求,具有良好的经济效益和发展前景。

细尾桉(*Eucalyptus urophylla* × *E. tereticornis*)是尾叶桉与细叶桉的杂交种,具有生长快、适应性广、经济价值高等特点,是桉树品种中具有较大发展前景的树种之一。采用优质外植体诱导,培养丛生芽,生产优良性状种苗,确保繁殖材料的纯化及防止变异,是桉树产业化的必要前提^[3,4]。为此,本试验开展了以细尾桉为试材的离体快繁研究,探索无菌体系建立模式,以及细胞分裂素、生长素浓度配比对芽苗增殖与生根的影响,旨在为工厂化生产桉树组培苗提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

供试细尾桉外植体采自永安林业集团种苗中心。取优良单株上的粗壮、茎微红或黄绿、叶片充分伸展的半木质化嫩枝为试材。

1.2 方法

1.2.1 材料处理 枝条用自来水冲洗15 min后,用0.5%洗衣粉溶液浸泡15 min,用自来水冲洗干净。在超净工作台上用75%酒精浸20 s后,用超声波或0.1%升汞消毒,再用无菌水冲洗3~5次,最后用消毒滤纸吸干表面水分。将枝条切成0.5~0.8 cm长的单芽茎段接种于诱导培养基,诱导芽苗形成;将形成的无

收稿日期:2005-11-15

作者简介:祁芳斌(1970-),男,讲师,研究方向:农业技术推广。

菌芽苗继代增殖,然后诱导生根,再生完整植株。

升汞消毒方法有2种:一是常规消毒,即直接用0.1%升汞消毒10 min;二为二步消毒法,即用0.1%升汞浸泡外植体6 min,无菌水冲洗1-2次后,再倒入0.1%升汞,摇床振荡4 min,最后用无菌水冲洗5-6次。

1.2.2 培养基 以MS为基本培养基,附加不同浓度的BA、NAA、IBA,蔗糖浓度为 $30\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 。所有的培养基均在 $121\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下消毒15 min。诱导培养基附加 $2.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ BA、 $0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA。继代增殖的培养基设6种激素浓度配比,分别为 $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ BA + $0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA、 $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ BA + $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA、 $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ BA + $0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA、 $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ BA + $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA、 $2.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ BA + $0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA、 $2.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ BA + $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA。生根诱导以1/2MS为基本培养基,设4种激素浓度配比,分别为 $0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA、 $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA、 $0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ IBA、 $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ IBA。

1.2.3 培养条件 培养室温度为 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$,湿度为70%,光照度为 1500 lx ,每日光照12 h。

2 结果与分析

2.1 无菌体系的建立

从表1可见:超声波对外植体表面消毒有一定效果,超声波处理15 min的效果较好,外植体污染率较低,且芽苗成活率最高,达85.1%;0.1%升汞消毒10 min可有效降低外植体污染率,但因处理时间太长,杀伤外植体幼嫩组织,造成严重褐变,影响成活率;二步消毒法既有效控制污染率,又保护外植体不易受伤害而褐变,诱导成活率最高,达90.8%。

表1 不同消毒处理对外植体诱导的影响

Table 1 Effect of different sterilization on the induction of sterile explants

消毒处理	消毒时间 min	接种数	褐变率 %	污染率 %	成活率 %
超声波	8	80	7.6	25.3	78.3
	15	80	11.6	8.6	85.1
0.1%升汞	10	80	49.7	4.4	69.2
	6 + 4 ¹⁾	80	5.3	5.9	90.8

¹⁾ 为二步消毒法,升汞消毒时间分别为6和4 min。

2.2 芽苗的继代增殖

将诱导出的无菌芽苗切成小段,接入不同的继代增殖培养基中,每30 d继代1次。结果(图1)表明:以MS + $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ BA + $0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA增殖效果最好,增殖系数最高,达5.07,且芽苗生长势最强,芽苗高2.68 cm;其次是MS + $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ BA + $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA,增殖系数为3.90,芽苗高2.19 cm;而MS + $2.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ BA + $0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA增殖效果最差,增殖系数最小,仅为2.80,芽苗生长势弱,苗高仅1.81 cm,且连续培养4代之后芽苗叶片变尖、叶形扭曲,产生畸形苗。

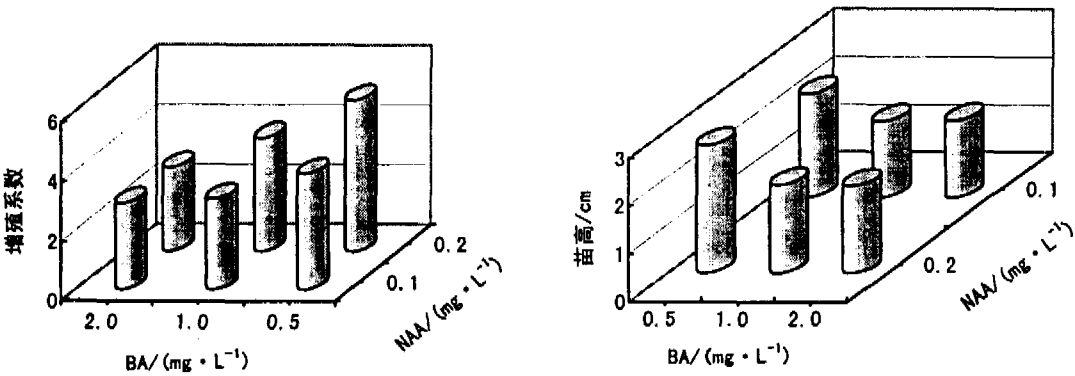


图1 激素对芽苗继代增殖的影响

Fig.1 Effect of phytohormone on the proliferation of shoots

2.3 芽苗的生根培养

将健壮芽苗接种于生根培养基中,结果(图2)表明:20 d后4种生根培养基均可诱导芽苗生根。其中, $0.2\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ NAA诱导芽苗生根率最高,为96.67%,平均每株生根5.6条; $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ IBA诱导芽苗生根效果不好,生根率仅为50%。

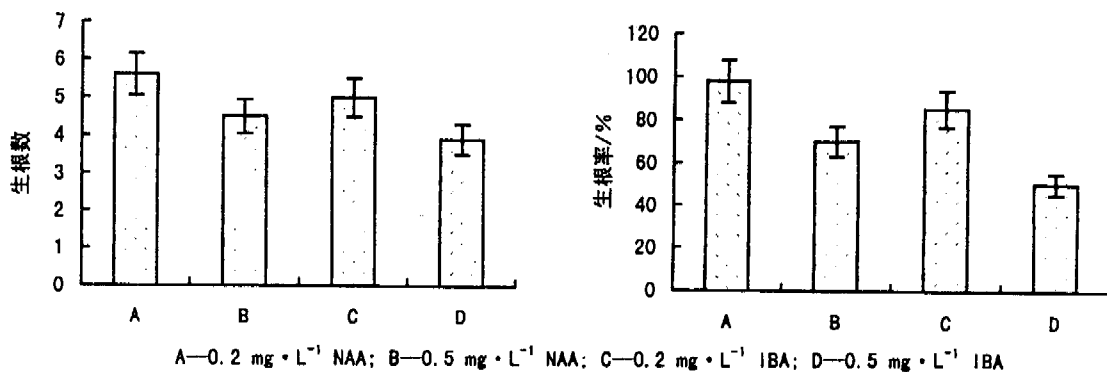


图2 激素对芽苗生根的影响

Fig.2 Effect of phytohormone on the rooting of shoots

2.4 炼苗移栽

试管苗生根后,在温室经过7-10 d的自然散射光炼苗,小苗叶片充分展开,茎转红色,表明芽苗木质化程度增强。取出小苗,洗净根部培养基(尽量避免伤根),小心植入河沙为基质的穴盘内,置散射光下培养。60 d后,苗高达15 cm以上,叶片达8-9片,此时可移栽大田或作为商品苗出售。

3 讨论

迄今,已有60个品种桉树组织培养获得成功。利用桉树枝条的萌芽、接穗芽和生长旺盛的顶芽等外植体成功地建立了桉树微繁途径^[3]。本试验以细尾桉半木质化枝条为外植体较易诱导无菌苗,这与高丽琼等^[5]报道一致。

植物体中含有大量多酚类化合物,切芽时的创伤会激活组织中的多酚氧化酶。多酚氧化酶物质易被氧化为棕褐色的醌类物质,使外植体的切口处发生褐变,并渗透到培养基中,导致培养基褐化,严重影响培养物的生长和分化,甚至造成培养物的死亡^[6]。防止褐变是桉树组织培养无菌体系建立的关键。本试验采用二步消毒法取得了良好效果,既减少组织褐变,又大大提高芽苗成活率。培养时,选用无机盐含量较低,不加肌醇的培养基,并在较弱的光线下培养,可有效减少褐化。此外,在培养基中加入抗氧化剂如抗坏血酸、柠檬酸、半胱氨酸、二硫苏糖醇和聚乙烯吡咯烷酮(PVP)等,也是防止褐化的有效措施。在培养基中加入0.5%-1.0%活性炭,可吸附对生长有抑制作用的醌类物质^[3]。

芽苗增殖是桉树快繁系统中一个非常重要的环节,培养基中激素种类与组合水平是影响桉树芽苗增殖和伸长的重要因素。曾少玲等^[4]报道,当细胞分裂素与生长素比例过高时,易导致玻璃苗产生。细胞分裂素促进芽的分化,打破顶端优势,促进腋芽发生。本试验结果表明,细尾桉芽苗增殖较适宜的培养基为MS+0.5 mg · L⁻¹ BA+0.2 mg · L⁻¹ NAA。

激素对桉树芽苗生根影响很大。陈江平^[7]认为,NAA作生根剂效果最佳,桉树芽苗基部形成愈伤组织少,生根率高,须根多。本试验结果表明,0.2 mg · L⁻¹ NAA对芽苗的生根效果较好。

参考文献:

- [1] 刘奕清,王大平. 细尾桉的组织培养和快速繁殖[J]. 西南农业大学学报:自然科学版,2005,27(2):237-239.
- [2] 曾少玲,方良,全吉文,等. 桉树的组培工厂化生产[J]. 桉树科技,2003(1):28-40.
- [3] 谢耀坚. 桉树组织培养研究进展[J]. 世界林业研究,2000,13(6):14-19.
- [4] 曾少玲,方良,全吉文,等. 桉树组织培养中的玻璃化现象及克服措施[J]. 桉树科技,2002(1):30-31.
- [5] 高丽琼,谢耀坚,陆春花. EC2号桉树无性系的组织培养技术研究[J]. 桉树科技,2000(1):27-29.
- [6] 王蒂. 植物组织培养[M]. 北京:中国农业出版社,2004.
- [7] 陈江平. 不同植物生长素对桉树不同无性系组培生根影响的试验[J]. 广西林业科学,2003,32(1):54-55.