

邓恩桉丛生芽的诱导

蒋淑磊, 徐刚标

(中南林业科技大学, 湖南 长沙 410004)

摘要: 为了建立优良邓恩桉无性系组织培养与再生体系, 为该优良无性系的推广提供大规模的商品化苗木, 并在此基础上, 进一步建立桉树转基因系统, 培育速生耐寒转基因桉树新品种, 扩大其栽培区域, 以湖南省植物园选育出的优良邓恩桉 *Eucalyptus dunnii* 无性系为材料, 采取 1 年生苗上部带饱满腋芽的茎段作为外植体, 诱导芽的分化及丛生芽的产生。通过不同质量浓度的生长素 NAA 和细胞分裂素 6-BA 的组合对比试验, 确定了邓恩桉茎芽分化的最佳培养基为 MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.2 mg/L, 芽继代增殖最佳培养基为改良 MS+6-BA 0.3 mg/L+NAA 0.05 mg/L。

关键词: 植物生理学; 邓恩桉; 组织培养; 丛生芽; 诱导

中图分类号: S792.39

文献标识码: A

文章编号: 1003-8981(2008)02-0069-04

Induction of Multiple Buds from Stem Segments in *Eucalyptus dunnii*

JIANG Shu-lei, XU Gang-biao

(Central South University of Forestry & Technology, Changsha 410004, Hunan, China)

Abstract: In order to establish tissue culture and regeneration system of fine *Eucalyptus dunnii* clone selected out by Hunan Botanical Garden, to provide large-scale commercial seedlings for extending the clone, and to establish transgenic system and cultivate new fast-growing and hardy varieties, differentiation of buds and proliferation of multiple buds were induced from stem segments with an axillary bud, taking 1-year-old seedlings in *E. dunnii* as materials. The results showed that the better medium for differentiation of buds was MS supplemented with 6-BA 0.5 mg/L and NAA 0.2 mg/L, and the better medium for proliferation of multiple buds was MS supplemented with 6-BA 0.3 mg/L and NAA 0.05 mg/L.

Key words: plant physiology; *Eucalyptus dunnii*; tissue culture; multiple buds; induction

桉树 *Eucalyptus* 原产于澳大利亚及其邻近岛屿, 因其速生丰产、用途广泛而被广为引种^[1]。在我国, 除南亚热带以南地区的气候较适合多种桉树生长外, 其偏北地区因气候较寒冷, 桉树冻害发生严重, 很难找到适生的桉树品种^[2]。因此, 在难以利用外界条件防治桉树冻害发生的情况下, 培育抗寒的桉树优良品种具有重要的理论和实际意义。邓恩桉 *Eucalyptus dunnii* Thunb 是我国广泛栽培的桉树, 其生长速度快, 心材白色, 木材纹理通直, 制浆漂白容易, 是优质的纸浆材树种^[3]。开展本试验的目的是建立湖南省植物园选育出的优良邓恩桉无性系组织培养与再生体系, 为该优良无性系的推广提供大规模的商品化苗木, 并在此基础上, 进一步建立桉树转基因系统, 培育速生耐寒转基因桉树新品种, 扩大其栽培区域。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本试验中所采用的材料是湖南省植物园选育出的优良邓恩桉无性系苗。取盆栽苗上部半木质化的带饱满

收稿日期: 2008-01-15

基金项目: 中南林业科技大学人才引进项目(2003)。

作者简介: 蒋淑磊(1981-), 女, 河北博野人。硕士研究生, 研究方向: 林木基因工程育种。

通讯作者: 徐刚标(1965-), 男, 安徽枞阳人。教授, 博士, 研究方向: 森林遗传学与林业生物技术。

腋芽茎段作为外植体。

1.2 试验方法

1.2.1 材料的预处理

先用 75% 的酒精对外植体进行表面杀菌 30 s, 再用 0.1% 的次氯酸钠浸泡 5 min, 2 次灭菌处理之间及灭菌处理之后均用无菌水冲洗外植体 5 次。灭菌后的材料去掉顶芽, 切成 1~2 cm 长茎段, 每段带 1 个芽, 接种到培养基上。

1.2.2 培养条件

参照参考文献[4~20]中的培养条件, 在此基础上设置培养温度(26±2) °C, 光照强度 2 000~3 000 lx, 光照时数 10~12 h/d^[4]。

1.2.3 初代培养

选择 MS 为基本培养基, 附加不同质量浓度的 6-BA 和 NAA, 每个处理 10 瓶, 重复 3 次。统计分析各处理的出芽数, 并计算萌芽率。

1.2.4 增殖培养

以 MS 和改良 MS 为基本培养基, 添加不同质量浓度的 6-BA 和 NAA, 观察芽的生长和增殖情况, 并计算增殖系数。

$$\text{增殖系数} = \text{增殖总苗数} / \text{接种数}$$

2 结果与分析

2.1 激素不同质量浓度组合对腋芽萌发的影响

激素不同质量浓度组合对邓恩桉茎段腋芽萌发的影响结果见表 1。由表 1 可知, 附加不同质量浓度的生长素 NAA 和细胞分裂素 6-BA 的培养基均可诱导腋芽的萌发, 但不同质量浓度的 6-BA 和 NAA 的组合对腋芽萌发与新芽生长的影响不同。当激素质量浓度为 6-BA 0.4 mg/L、NAA 0.2 mg/L 或 6-BA 0.3 mg/L、NAA 0.1 mg/L 时, 萌芽率最低, 只有 60%; 当激素质量浓度为 6-BA 0.5 mg/L、NAA 0.3 mg/L 或 6-BA 0.4 mg/L、NAA 0.3 mg/L 时, 萌芽率最高, 达 85%, 长势均较旺盛, 但是芽的生长状况为新芽较小, 叶片较小, 或新芽叶大, 色淡黄。从表 1 可看出, 最佳激素浓度组合是 6-BA 0.5 mg/L 与 NAA 0.2 mg/L, 其芽生长状况是新芽叶大, 色绿, 叶片舒展, 长势旺盛, 萌芽率达 75% (见图 1)。

表 1 不同质量浓度激素对芽分化的影响

Table 1 Effects of different mass concentrations of hormones on bud differentiation

培养基 Medium	激素质量浓度 Mass concentration of hormones/(mg · L ⁻¹)		接种数 Number of inoculation	萌芽数 Number of bud germination	萌芽率 Rate of buding /%	芽生长状况 Growth status of buds
	6-BA	NAA				
MS	0.3	0.1	20	12	60	切口处发生愈伤组织, 新芽丛生芽, 长势较弱
MS	0.3	0.2	20	14	70	新芽叶小, 叶色淡黄, 叶片较小
MS	0.3	0.3	20	16	80	切口处发生愈伤组织, 叶色淡黄, 稍微卷缩
MS	0.4	0.1	20	13	65	新芽叶小, 色黄, 长势较弱
MS	0.4	0.2	20	12	60	新芽叶大, 色淡黄, 长势较弱
MS	0.4	0.3	20	17	85	新芽叶大, 色淡黄, 长势较旺盛
MS	0.5	0.1	20	16	80	新芽叶小, 色淡黄, 叶片舒展
MS	0.5	0.2	20	15	75	新芽叶大, 色绿, 叶片舒展, 长势旺盛
MS	0.5	0.3	20	17	85	新芽较小, 色绿, 叶片较小, 长势较旺盛

2.2 培养基对茎段芽苗增殖的影响

培养基种类对邓恩桉茎段芽苗的增殖影响结果见表 2。由表 2 可知, 使用改良 MS 培养基芽的增殖率比使用 MS 培养基高。可以看出改良 MS 培养基与 MS 培养基存在明显的差异, 需进一步分析改良 MS 培养基与 MS 培养基大量元素成分的不同。经分析得知, 提高培养基中硝态氮含量降低铵态氮含量, 提高培养基中钾离子和磷离子的含量, 有利于邓恩桉丛生芽的生长, 有利于邓恩桉的继代增殖 (见表 3)。

表 2 基本培养基对芽苗增殖的影响

Table 2 Effects of different culture media on bud proliferation

培养基 Medium	接种数 Number of inoculation	增殖总苗数 Number of proliferative seedlings	增殖系数 Coefficient of proliferation	芽增殖情况 Status of bud proliferation
MS	20	52	2.60	腋芽细小,色淡黄,丛芽少
改良 MS Improved MS	20	64	3.20	腋芽粗,色绿,丛芽多

2.3 激素不同质量浓度组合对茎段芽苗增殖的影响

各种质量浓度的激素组合对芽苗增殖的影响结果见表 4。从表 4 可以看出,当细胞分裂素 6-BA 与生长素 NAA 质量浓度比值高时,易产生愈伤组织,影响了芽苗增殖,例如处理 1 和处理 7;处理

6 中丛生芽生长状况较理想,芽健壮,抽生快,80%的单芽分化成 2~3 芽(见图 2),因此可以确定最佳培养基激素质量浓度组合是 6-BA 0.3 mg/L +NAA 0.05 mg/L。

表 3 改良 MS 与 MS 培养基中大量元素的比较

Table 3 Comparison between major elements contents in improved MS and MS mg/L

培养基 Medium	各物质的质量浓度 Mass concentration of each matter			
	NH ₄ NO ₃	KNO ₃	KH ₂ PO ₄	MgSO ₄ · 7H ₂ O
MS	1 650	1 900	170	370
改良 MS Improved MS	1 100	1 774	210	370

表 4 不同质量浓度激素对丛生芽诱导的影响

Table 4 Effects of different mass concentration of hormones on multiple bud induction

处理 Treatment	培养基 Medium	激素质量浓度 Mass concentration of hormone/(mg · L ⁻¹)		接种数 Number of inoculation	增殖总苗数 Number of proliferative seedlings	增殖系数 Coefficient of proliferation	丛生芽生长状况 Status of multiple buds
		6-BA	NAA				
1	改良 MS	0.1	0.01	20	55	2.75	芽的分化差,基部逐渐长成愈伤组织
2	改良 MS	0.1	0.05	20	62	3.10	芽健壮且长,分支多,生长旺盛,苗修长
3	改良 MS	0.1	0.10	20	54	2.68	芽短,抽生较慢,少数叶片长出愈伤组织
4	改良 MS	0.3	0.10	20	56	2.80	芽短,抽生较慢,单芽,分化少
5	改良 MS	0.3	0.01	20	60	3.02	芽健壮,抽生较快,约 75%的单芽分化成 2~3 芽
6	改良 MS	0.3	0.05	20	68	3.40	芽健壮,抽生快,80%的单芽分化成 2~3 芽
7	改良 MS	0.5	0.01	20	58	2.95	腋芽抽生慢,基部长出愈伤组织
8	改良 MS	0.5	0.05	20	64	3.25	芽矮而健壮,分支较多
9	改良 MS	0.5	0.10	20	54	2.70	芽健壮,抽生较快,仅 15%的单芽分化 2~3 芽



图 1 丛生芽的诱导

Fig. 1 Multiple bud induction from stem segments in *E. dunnii* Thunb



图 2 继代培养

Fig. 2 Subculture of stem segments in *E. dunnii* Thunb

3 小 结

在邓恩桉的组织培养试验中,芽诱导最佳培养基为 MS+6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.2 mg/L,在此培养基上,茎段腋芽长势旺盛,叶大,色绿,叶片舒展,萌芽率达 75%,以腋芽形成丛生芽的方式进行增殖,这一途径对

保持该无性系优良遗传性状的稳定性十分有利。其最佳增殖培养基为改良 MS+6-BA 0.3 mg/L+NAA 0.05 mg/L,在此培养基上,丛生芽生长状况较理想,芽健壮,抽生快,80%的单芽分化成 2~3 芽。

参考文献:

- [1] 祁述雄. 中国桉树[M]. 北京: 中国林业出版社, 1989.
- [2] 罗建中. 耐寒桉树良种——邓恩桉[J]. 桉树科技, 2002, (2): 1-7.
- [3] 林彦. 邓恩桉组培快繁体系的建立及应用[D]. 北京: 中国林业科学研究院, 2004.
- [4] 易敏, 冉隆贤, 汤历. 邓恩桉的组织培养技术研究[J]. 广西林业科技, 2005, 21(2): 19-21.
- [5] 关亚丽, 黄敏仁, 王明麻. 赤桉叶片的离体培养与植株再生[J]. 南京林业大学学报: 自然科学版, 2005, 29(3): 45-48.
- [6] 蔡能, 易自力, 黄丽芳. 安祖花离体培养快速繁殖技术的优化[J]. 中南林学院学报, 2005, 25(3): 85-88.
- [7] 屈云慧, 熊丽, 张素芳, 等. 虎眼万年青离体快繁体系及无糖生根培养[J]. 中南林学院学报, 2003, 23(5): 56-58.
- [8] 陈发棣, 滕年军, 房伟民, 等. 三个菊花品种花器官愈伤组织辐射效应的研究[J]. 中南林学院学报, 2003, 23(5): 49-52.
- [9] 仇键, 谭晓风. 蒙花 1.2 号金银花的组织培养与快速繁殖[J]. 中南林学院学报, 2005, 25(4): 53-56.
- [10] 范成明, 李校林, 何月秋. 兰花组织培养及分子生物学研究进展[J]. 园艺学报, 2003, (4): 487-491.
- [11] 何业华, 胡芳名, 谢碧霞, 等. 枣树愈伤组织培养时不定根的分化[J]. 经济林研究, 1999, 17(3): 11-13.
- [12] 何业华, 胡芳名, 谢碧霞. 经济林木离体培养研究进展[J]. 中南林学院学报, 2000, 20(1): 31-39.
- [13] 何志祥, 曾艳玲, 谭晓风. 翠冠梨茎段组织培养的研究[J]. 中南林学院学报, 2006, 26(1): 66-68.
- [14] 金晓玲, 何平. 大叶榉愈伤组织诱导与继代培养的影响因素[J]. 中南林学院学报, 2003, 23(1): 32-36.
- [15] 金晓玲, 何平. 我国榉属植物的生物学特性[J]. 经济林研究, 2005, 23(4): 45-47.
- [16] 王晓红, 谭晓风. 用秋水仙碱诱导非洲菊多倍体的研究[J]. 中南林学院学报, 2005, 25(4): 58-60.
- [17] 易自力, 陈智勇, 蒋建雄, 等. 三种冷季型草坪草愈伤组织再生体系的建立[J]. 中南林学院学报, 2005, 25(1): 25-27.
- [18] 曾艳玲, 谭晓风, 乌云塔娜. 自交新高梨叶片的培养繁殖技术[J]. 中南林学院学报, 2005, 25(4): 50-61.
- [19] 张日清, 闻丽, 刘友全, 等. 低温预处理对油茶花药愈伤组织诱导的影响[J]. 中南林学院学报, 2005, 25(6): 24-28.
- [20] 周国英, 刘君昂, 周德明. 山蒿离体组织培养的研究[J]. 中南林学院学报, 2000, 20(1): 66-67.

[本文编校: 闻丽]

(上接第 64 页)

参考文献:

- [1] 赵思东, 周建, 段经华, 等. 引种的十个砂梨品种果实品质的分析比较[J]. 经济林研究, 2006, 24(1): 45-48.
- [2] 赵思东, 袁德义, 张琳. 砂梨品种丰产性及果实品质比较研究[J]. 中国南方果树, 2006, (6): 49-51.
- [3] 谭晓风, 乌云塔娜. 中国梨品种自交不亲和基因分离鉴定[J]. 中南林学院学报, 2005, 25(1): 1-3.
- [4] 谭晓风, 乌云塔娜. 中国砂梨 7 个自交不亲和新基因的分离与测序[J]. 中南林学院学报, 2005, 25(4): 1-6.
- [5] 赵思东, 袁德义, 张琳. 砂梨新品种引种筛选研究[J]. 中南林业科技大学学报, 2007, 27(2): 30-34.
- [6] 莫新禄, 赵思东, 袁德义. 晚大新高梨的净光合速率变化规律研究[J]. 经济林研究, 2006, 24(1): 41-44.
- [7] 苏艳丽, 赵思东, 袁德义, 等. 新高梨果实的生长发育特性[J]. 经济林研究, 2006, 24(1): 45-48.
- [8] 刘永生, 吴四宝. 砂梨主要推广品种对黑斑病、黑星病、轮纹病的抗性调查[J]. 湖北植保, 1995, (6): 14-15.
- [9] 周超华, 黄冬华. 砂梨良种对梨锈病的自然抗性调查[J]. 江西农业科技, 1994, (6): 16-17.
- [10] 刘春琴, 王庆雷. 金丝小枣紫烂果病症状、危害及病原菌鉴定[J]. 中国农业大学学报, 2004, 9(2): 31-35.
- [11] 赵思东, 袁德义, 易子夏, 等. 南方砂梨优质无公害栽培关键技术[J]. 中南林业科技大学学报, 2007, 27(6): 149-153.

[本文编校: 伍敏涛]