韦塔桉组培育苗技术研究

高丽琼
(国家林业局桉树研究开发中心,广东 湛江 524022)

摘 要:通过韦塔桉组培的全过程,对培养过程中芽丛的生长和生根情况进行探讨,得出继代增殖培养基以改良MS_1 + 6 - BA 0.5mg/L + NAA 0.2 mg/L最佳,生根培养基以改良MS_2 + IBA 0.5mg/L + NAA 0.1 mg/L为最佳组合。
关键词:韦塔桉;组培;培养基

Study on Tissue Culture of Eucalyptus wetarensis

GAO Li - qiong
(China Eucalyptus Research Centre, Zhanjiang Guangdong 524022)

Abstract: The total process of explant induction, shoot regeneration and rooting of E. wetarensis in tissue culture was studied in this paper. The optimal culture conditions were established by the comparative experiments of different concentration combinations of many growth regulators as follows: (1) shooting subculture medium: MS_1 + 6 - BA 0.5mg/L + NAA 0.2 mg/L; (2) root culture medium MS_2 + IBA 0.5 mg/L + NAA 0.1 mg/L.
Key words: E. wetarensis; tissue culture; medium

韦塔桉(E. wetarensis)是印度尼西亚东部群岛树种,自然分布以韦塔岛为主,南纬8 - 10°海拔可高达3000m[1]。1995年引入我国作子代测定试验,结果表明7年生树高最高达到22.7m,胸径23.2cm,胸径最高达到30cm,树高20m。该品种经过台风、暴雨、病虫害等的检验和自然选择,结合以后的生长量、木材密度等指标的分析,最终筛选出三个种批为适生于华南地区的优良品种。桉树研究中心2001年已培育出经过国家林业局认定的两个新品种:新桉1号和新桉2号。试验表明韦塔桉表现出良好的抗性和生长性能,具有很好的发展潜力,适宜生长在华南大部分地区,要求夏季降雨,年降雨量在1000mm以上,较耐贫瘠和干旱,但要求种植地冬季少霜冻或无霜冻。在栽培措施上,该品种与一般的桉树丰产林无异,以疏松、湿润、肥沃的土壤能发挥其速生优势。本文利用植物细胞的全能性,在无菌和适宜的人工培养基的条件下培育完整植株。探索韦塔桉两个品系的组培繁殖技术,以加速韦塔桉新品种的推广,具有很高的应用价值。

1 试验材料与方法

1.1 试验材料

选取韦塔桉优树砍伐后促萌,采集生长发育正常、无病虫害的萌芽条作外植体,尽量保湿带回组培室处理,萌芽条长度30 - 60cm,部分枝条较老。

1.2 外植体的处理

选取枝条中上部半木质化茎段,不要顶芽,剪去叶片留叶柄约0.5cm,首先用洗洁精洗一次,然后用流水冲洗20min左右,在超净台上用75%酒精浸泡

收稿日期:2006 - 02 - 15
作者简介:高丽琼(1971—),女,本科,工程师,研究方向:植物组织培养。

1min,无菌水冲洗 2 次,换无菌瓶用 0.1%的 $HgCl_2$ 溶液消毒 2 - 8min,无菌水冲洗 4 - 5 次,切取 1 - 2cm 带 1 - 2 个腋芽的茎段作外植体,用无菌滤纸吸干水份,然后将其插入诱导培养基。

1.3　培养基

1.3.1　诱导培养基

采用基本的 MS 培养基,附加激素养 6 - BA 0.5 - 1.0 mg/L,白糖 30g/L,琼脂 3.8g/L,pH 值 5.8,发芽率最高 30%,有单生芽也有丛生芽。

1.3.2　基本培养基

采用以 MS 和改良 MS_1 作为基本培养基,分别附加激素养 6 - BA 0.5mg/L 和 NAA 0.2mg/L,白糖 30g/L,pH 值 5.8,在相同的条件下接种 20 瓶,每瓶接种 10 个丛芽。

1.3.3　增殖培养基

在基本培养基选择改良 MS_1 的基础上,分别附加 6 - BA 0.5、1.0、1.5mg/L 和 NAA 0.1、0.2mg/L,白糖 30g/L,琼脂 3.8g/L,pH 5.8,共 6 个处理,每个处理接种 20 瓶,每瓶接 10 个丛芽。

1.3.4　生根培养基

选择改良 MS_2 作基本培养基,附加激素 IBA 0.5、1.0、1.5mg/L和NAA 0.1、0.2、0.5mg/L,白糖15g/L,琼脂4.2g/L,pH 值 5.8,共 9 个处理,每个处理接种 15 瓶,每瓶 10 株。

1.4　培养条件

培养温度 24 - 32 ℃,采用日光灯加强光照,光照强度 2000 - 3000Lux,光照时数 10 - 12h/d。一般接种后的一周采用弱光培养,之后采用强光培养。

2　结果与分析

2.1　基本培养基对继代材料的影响

表 1　两种基本培养基对芽生长的影响

基本培养基	丛芽数	培养时间(d)	增殖倍数	生长表现
MS	200	20	2.1	丛芽生长正常,芽条粗壮,叶色绿
改良 MS_1	200	20	3.2	丛芽生长正常,芽条粗壮,叶色绿

从表 1 可以看出,两种基本培养基在激素和其他条件相同的情况下,均能使继代苗增殖,并且均可以得到正常的芽条,所不同的是增殖倍数,改良 MS_1 明显高于 MS,所以选择了改良 MS_1 作增殖培养的基本培养基。

2.2　不同浓度的激素组合对丛芽分化的影响

从表 2 可以看出,有的组合增殖率不高但适合于直接进入生根阶段,省去了壮苗阶段,有的组合增殖率高有利于扩大繁殖,我们的目标不同选择的激素浓度也不同,一般情况下激素浓度过高过低均不利于苗木的生长。综合多方面的适应性和培养目的,使用 6 - BA 0.5 和 NAA 0.2 激素组合较适合生产需要。

表 2　不同浓度的 6 - BA 和 NAA 组合对丛芽分化的影响

6 - BA (mg/L)	NAA (mg/L)	丛芽数	增殖倍数	生长表现
0.5	0.1	200	3.25	丛芽较粗壮,色绿,高度适宜,比较有利生根
0.5	0.2	200	3.53	丛芽粗壮,色绿,高度适宜生根
1.0	0.1	200	4.40	丛芽较多细弱,叶片较小,颜色早期较好,不利于直接进入生根培养
1.0	0.2	200	4.22	丛芽多且细弱,略长,不利于直接生根
1.5	0.1	200	3.32	丛芽多,节间较短,较幼嫩,色绿
1.5	0.2	200	3.56	丛芽多,节间较短,较嫩,色绿

2.3　不同浓度 IBA 和 NAA 组合对生根的影响

当继代增殖苗生长到 2cm 以上时,选取生长健壮,叶片伸展的单株接种于不同的生根培养基,接种后 7 - 10d 开始生根。

从表 3 可以看出,不同激素组合对生根的影响极大,激素过高生根率反而降低,易出现愈伤组织,而且茎上长势也不理想,对移栽成活率也会有一定程度的影响。由此看出使用IBA 1.0和NAA 0.1为生根的最佳组合。

表 3 不同浓度 IBA 和 NAA 组合对生根的影响

IBA(mg/L)	NAA(mg/L)	接种株数	出根株数	出根率(%)	生长情况
0.5	0.1	150	121	80.7	根系发达,每株 1 - 3 条根,茎上良好
0.5	0.2	150	109	72.7	根系发达,根 1 - 3 条,茎上良好,色绿
0.5	0.5	150	130	86.7	根系发达,基部小块愈伤,茎上良好
1.0	0.1	150	137	91.3	根系较发达、多条,基部有小块愈伤,茎上良好
1.0	0.2	150	107	71.3	根系较多、多条,茎上长势一般
1.0	0.5	150	113	75.3	根系多条,茎上长势一般,基部有愈伤
1.5	0.1	150	78	52.0	根系发达、多条,短粗,茎上一般
1.5	0.2	150	85	56.7	根系较发达、多条,茎上节间较短
1.5	0.5	150	81	54.0	根系较发达、多条,基部有较大愈伤,茎上节间较短

注:接种后 10d 调查出根数量。

2.4 生根苗的移栽

待生根苗接种 10d 后,根长 1cm 以上,将瓶苗移到强光处炼苗。一般情况一周后小苗的叶片展开,茎干略带红色即可移栽。移栽前一两天将瓶盖松开,准备好基质(黄心土)并用高锰酸钾消毒。移栽时轻轻取出小苗,用清水洗净残留在基部的培养基,栽种于准备好的基质,淋透水,精心管理保持一定湿度成活率可达 85 %。

3 小结与讨论

3.1 本试验所采外植体经过了长途运输,对消毒有一定程度影响,且出芽率不高,一般来说采集外植体要尽量避免长途运输,在不可避免的情况下,最好先用泥土扦插,待发出新芽后再采集,如果条件允许最好两项同时做,这样一来成功率会更高。

3.2 我们共采集韦塔桉 15 个无性系,成功培育出 10 个无性系继代苗,本次试验主要针对 3 个无性系进行,各无性系间差异较大,且随着继代次数的增加,增殖率和生根率均有所下降。

3.3 继代增殖时,随着细胞分裂素的增加可以增大增殖倍数,但是有效芽的数量会降低,不利于直接进行生根,必须先壮苗再生根。

3.4 继代苗均有发红现象,且相对其它杂交桉来说较幼嫩,继代周期不能太长,两周后不接种极易死亡,继代的初期长势非常快,一周可以达 2 - 3cm 长。

3.5 生根培养时也试用过 ABT 生根粉和根太阳促根,但是效果均不如 IBA 和 NAA 组合。

3.6 移栽试用过泥土与其他轻基质混合,由于管理及其它原因,成活率不高,将来还需继续这方面的试验。另外,试用继代苗直接瓶外生根,由于种种原因成活率也不理想。

参 考 文 献

[1] 莫晓勇. 桉树人工林培育的理论与方法[M]. 北京: 中国林业出版社,2005,58.