

尾叶桉叶片的离体培养和植株再生

关亚丽 黄敏仁* 王明庥

南京林业大学林木遗传和基因工程重点实验室, 南京 210037

In vitro Culture and Plantlet Regeneration from Leaves of *Eucalyptus urophylla*

GUAN Ya-Li, HUANG Min-Ren*, WANG Ming-Xiu

Key Laboratory of Forest Genetic and Gene Engineering, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037

1 植物名称 尾叶桉(*Eucalyptus urophylla*)。

2 材料类别 无菌萌发种子苗的幼叶片。

3 培养条件 萌发培养基: (1)MS+3% 蔗糖。诱导分化培养基: (2)MS+6-BA 0.8~1.5 mg·L⁻¹(单位下同)+KT 0.5+NAA 0.1+3% 蔗糖。丛生芽增殖和生长培养基: (3)MS+6-BA 0.2+NAA 0.02+3% 蔗糖。生根培养基: (4)1/2MS+NAA 0.5+2% 蔗糖; (5)MS+NAA 0.5+2% 蔗糖; (6)改良H+NAA 0.5+2% 蔗糖。以上培养基均加入0.65% 琼脂, pH 5.8。培养温度(25±2)℃, 光照16 h·d⁻¹, 光照度1900~2000 lx。

4 生长与分化情况

4.1 无菌萌发 用纱布包好种子,经自来水冲洗后,无菌条件下用75%酒精浸泡30 s,再用0.1%升汞消毒3~4 min,取出后无菌水冲洗3~4次,消毒滤纸吸干表面水分,然后将种子接种于培养基(1)上。20 d后种子开始萌发,30 d时选取长势良好、发育正常的单株在培养基(3)上增殖生长后,用培养基(6)生根建立试管无性系植株。

4.2 丛生芽的诱导 从无性系植株自上而下选取第3~6个叶片,用手术刀横切成3部分,近轴面朝上植入培养基(2)中,暗培养10 d后移至光下培养。接种14 d后叶片边缘开始皱缩,21 d后叶迅速膨大,在叶脉切口处出现一些红色或绿色的芽点,随后发育成芽。60 d后统计,在含KT 0.5、NAA 0.1的MS培养基中,随着6-BA浓度的提高(0.8、1.0、1.5),芽的发生率先增加后减小,分别为33.3%、43.1%、13.4%。由上可见,含6-BA 1.0、KT 0.5、NAA 0.1的MS培养基较适宜于诱导尾叶桉叶片产生不定芽。

4.3 丛生芽的增殖 60 d后,将培养基(2)中产生的不定芽丛切下,转入培养基(3)中进行增殖及生长培养,30 d的增殖系数可达到4。小芽长至2~3 cm后,进行生根诱导。

4.4 诱导生根 切取3 cm左右的不定芽分别接种于培养基(4)~(6)上,9 d后,培养基(4)和(6)上的芽苗开始生根,30 d后,培养基(5)上的芽苗有少量出现1条不定根,而(4)和(6)上的芽出现3~4条根,根系发达,因此低盐浓度的培养基诱导尾叶桉生根的效果较好。统计分析显示,培养基(4)及(6)生根诱导率分别为92%和100%。

4.5 试管苗移栽 选择生长健壮、根系发达的生根苗进行移栽。移栽前在室内揭开封口膜炼苗2~3 d,然后小心取出,洗去基部培养基,栽于用山泥、火烧土和河沙等量混合的基质中,淋透水,覆盖薄膜保湿,防风,遮荫,成活率可达80%以上。

5 意义与进展 桉树是桃金娘科桉树属的用材树种,原产澳大利亚及邻近岛屿。因速生丰产、用途广泛而被广为引种,与杨树及松树一起誉为世界三大速生造林树种。但在我国桉树人工林中青枯病时有发生,尾叶桉是易感病种类之一,严重时发病率达30%~40%。目前,在桉树青枯病难以用化学方法防治的情况下,培育抗病品种是急需解决的问题。我们以叶片为外植体,建立了尾叶桉叶盘再生系统,从叶片直接诱导产生不定芽,这可避免通过愈伤组织分化不定芽时产生的变异。尾叶桉叶片直接诱导产生不定芽尚未见报道。

收稿 2004-01-30 修定 2004-05-08

* 通讯作者(E-mail: mrhuang@njfu.edu.cn, Tel: 025-85427412)。