

速生广西良种杉木组培快繁技术初步研究

付 婷, 李伯林

(广西师范大学 生命科学院, 广西 桂林 541004)

摘 要:以杉木优良无性系树干基部萌条为试材,研究了培养基类型、活性炭和不同激素组合对杉木苗生长的影响。结果表明:杉木组织培养的适宜生长条件为 MS+1.0 mg/L 6-BA+0.3 mg/L NAA+3%蔗糖,45 d 增殖系数可达到 3.05;同样的配方,不同的材料增殖系数不同;活性炭可以降低玻璃化,但作用时间过长会使苗老化。

关键词:杉木;组织培养;增殖系数

中图分类号:S 791.27 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)16-0111-03

杉木(*Cunninghamia lanceolata*)是我国南方特有的重要商品材种,具有生长快、产量高、材质好、用途多等优良特性,在我国人工林中具有重要的地位^[1]。组织培养是迅速繁殖林木良种的重要手段之一,给林业带来了飞跃的进步^[2]。杉木是广西最重要的造林树种之一,广泛栽植于桂北、桂西北、桂东北。广西现有杉木林 119.17 万 hm²,蓄积 10 565.22 万 m³,位于所有树种的第 1 位,杉木为广西林业产业发展和林业产值增加发挥了重要的作用^[3]。但是,广西杉木林区发展出现参差不齐的现象,建立杉木良种无性系组培快繁技术体系是最快捷有效且经济的方法,为此,该试验进行了杉木优良无性系的组培快繁研究,以期迅速提高杉木生产力提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为生长粗壮、无病害的杉木优良无性系树干基部萌条,来自广西桂林林业科学研究所。成年树上部侧枝外植体的芽分化数量、嫩梢数量、嫩梢长度、生根率、根长等性状均始终显著低于树干基部萌条和经复壮处理的外植体^[4]。

试剂:1 mol/L HCl 溶液、1 mol/L NaOH 溶液、75%酒精、0.1%氯化汞溶液、MS 培养基、6-苄氨基腺嘌呤(6-BA)、萘乙酸(NAA)。

仪器与设备:HP250G-C 型智能光照培养箱,武汉瑞华仪器设备有限公司;HVE-50 高压灭菌锅,日本 HIRAYAMA 公司;VS-840-1 型洁净工作台,上海博讯

实业有限公司医疗设备厂。

1.2 试验方法

1.2.1 试验前处理 把修剪好的杉木树干基部萌条用自来水冲洗 3 h,然后从顶梢中切取 0.5~1.0 cm 长的茎尖和茎段作为外植体材料,在超净工作台用 75%的酒精处理 5~10 s,用 0.1%氯化汞溶液处理 8~10 min,再用无菌水冲洗 5 次以上^[5]。把材料放置于无菌的滤纸上,吸干水分用手术刀切除芽条切口处,保留茎尖小芽和茎段侧芽,接入诱导培养基(MS+0.7 mg/L 6-BA+0.3 mg/L NAA+3%蔗糖)。

1.2.2 培养基类型对杉木组培的影响 以固体培养基 MS、1/2MS、white、N6,附加 0.7 mg/L 6-BA 和 0.3 mg/L NAA 的植物激素,pH 5.8,进行 4 组试验,每组都用 20 个茎尖作为试验材料。培养 45 d 后,观察结果。

1.2.3 活性炭对杉木组培的影响 活性炭加入培养基能吸附有害物质,例如可以防止酚类物质污染而引起组织褐化死亡。活性炭也会吸收有利物质,例如它会吸收植物生长调节物质、维生素等^[6]。该试验还发现活性炭还可以使玻璃化苗恢复正常。将 10 瓶玻璃化的苗,接入添加 0.5% 活性炭的培养基,观察现象。

1.2.4 萘乙酸(NAA)对杉木组培的影响 NAA 是生长素类的植物生长调节物质,可以诱导愈伤组织的形成、胚状体的产生以及试管苗的生根,更重要的是配合一定比例的细胞分裂素可诱导腋芽及不定芽的产生。以固体培养基 MS,附加不同浓度的 NAA,相同浓度的 6-BA 进行 6 组试验。

1.2.5 6-苄氨基腺嘌呤(6-BA)对杉木组培的影响 6-BA 是细胞分裂素类的植物生长调节剂,能促进细胞的分裂和器官分化、延缓组织的衰老、增强蛋白质的合成,抑制顶端优势、促进侧芽的生长及显著改变其它激素的作用。以固体培养基 MS,附加不同浓度的 6-BA,相同

第一作者简介:付婷(1986-),女,江西进贤人,硕士研究生,研究方向为植物资源研究与开发。E-mail:futing8681@126.com。

责任作者:李伯林(1964-),男,广西柳州人,博士,副教授,研究方向为细胞培养与育种。E-mail:Libolin-2006@163.com。

收稿日期:2013-04-10

浓度的 NAA 进行 6 组试验。

1.2.6 同种配方对不同材料的影响 通过上述 1.2.4 和 1.2.5 的 2 组植物生长调节物质梯度试验,得到增殖系数最高的配方,用 6 种不同的杉木优良系茎尖进行对比试验,探究同种配方对不同材料的影响。

2 结果与分析

2.1 培养基类型对杉木组培的影响

由表 1 可知,获得增殖系数由高到低的培养基类型顺序:MS>White>1/2MS>N6,MS 培养得到的增殖系数最高为 2.65,并且培养出来的苗最嫩绿,叶展充分。

表 1 不同培养基类型对杉木组培的影响

Table 1 The influence of different culture medium types on tissue culture of Chinese fir

培养基类型 Medium types	接种顶芽总数 Sum of inoculation of crown/个	新生侧芽总数 Sum of new lateral bud/个	增殖系数 Growth coefficient	生长情况 Growth situation
MS	20	53	2.65	苗嫩绿,叶展充分
1/2MS	20	49	2.45	苗绿,略老化,叶展充分
White	20	51	2.55	苗绿,略老化,叶展充分
N6	20	43	2.15	苗绿,叶展不充分

2.2 活性炭对杉木苗的影响

添加 0.5 g/L 活性炭到培养基,可以使玻璃化苗恢复正常如图 1、2。恢复正常的苗分成 2 组,第 1 组培养基不加碳培养,第 2 组培养基继续加入 0.5 g/L 活性炭,结果显示,不加活性炭的苗比较嫩绿,新生侧芽也比较多如图 3,继续加活性炭的苗明显老化如图 4。



图 1 轻微玻璃化苗

Fig. 1 Slight vitrification sprout

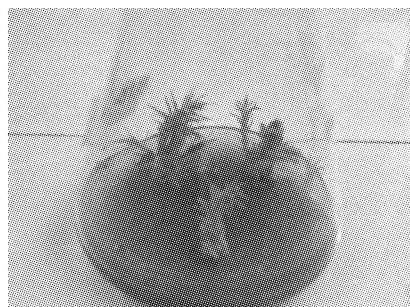


图 2 加活性炭玻璃化减轻

Fig. 2 Reduced vitrification with active carbon

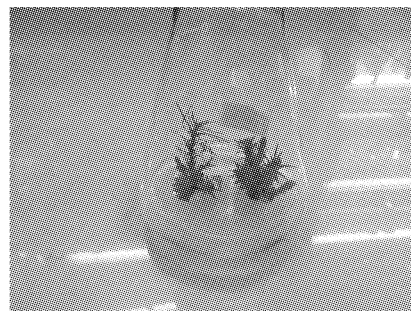


图 3 恢复正常后不加碳培养基

Fig. 3 Recovered medium without carbon



图 4 恢复正常后加碳培养基

Fig. 4 Recovered medium with carbon

2.3 萘乙酸(NAA)对杉木组培的影响

从表 2 可看出,获得 NAA 浓度为 0.3 mg/L 时,新生侧芽数量最多,增殖系数可达到 2.55。随着 NAA 浓度的升高,苗变细长,叶色变深,芽数变少;但不添加 NAA 时,增殖系数也非常低;只有 6-BA 的浓度和 NAA 的浓度合理搭配,才能提高增殖系数。

表 2 萘乙酸(NAA)对杉木组培的影响

Table 2 The impact of naphthyl acetic acid (NAA) on the Chinese fir tissue culture

生长调节物质 Growth regulating substances		接种顶芽 总数 Sum of inoculation of crown/个	新生侧芽 总数 Sum of new lateral bud/个	增殖系数 Growth coefficient	生长情况 Growth situation
NAA	6-BA				
/mg · L ⁻¹	/mg · L ⁻¹				
0	0.5	20	37	1.85	叶黄绿,长势矮,茎底组织肥大
0.1	0.5	20	33	1.65	叶黄绿,长势较矮,茎底组织肥大
0.2	0.5	20	50	2.50	叶黄绿,一般高,苗粗,有根分化
0.3	0.5	20	61	2.55	叶绿,长势较高,苗粗
0.4	0.5	20	42	2.10	叶绿,长势较高,叶展充分,有根分化
0.5	0.5	20	34	1.70	叶深绿,长势较高,叶展充分,茎底组织肥大
1.0	0.5	20	32	1.60	叶深绿,长势高,叶展充分,愈伤组织少

2.4 6-苄氨基腺嘌呤(6-BA)对杉木组培的影响

从表 3 可看出,6-BA 浓度在 0.5~2.0 mg/L 区间发芽数比较多,其中 6-BA 浓度为 1.0 mg/L 时,新生侧

芽数量最多,增殖系数为 3.10。随着 6-BA 浓度的升高,苗变粗短、变嫩绿。当 6-BA 浓度为 0 时,只有 NAA 起作用,苗底部分化出根。

表 3 6-苄氨基腺嘌呤(6-BA)对杉木组培的影响

Table 3 The impact of 6-benzyl adenine (6-BA) on Chinese fir tissue culture

生长调节物质 Growth regulating substances		接种顶芽 Sum of inoculation of crown/个	新生侧芽 Sum of new lateral bud/个	增殖系数 Growth coefficient	生长情况 Growth situation
6-BA /mg · L ⁻¹	NAA /mg · L ⁻¹				
0	0.3	20	29	1.45	叶绿,长势高,有根分化
0.5	0.3	20	53	2.65	叶绿,一般高,茎底组织肥大
1.0	0.3	20	62	3.10	叶黄绿,长势较矮,苗粗,茎底组织肥大
2.0	0.3	20	65	2.75	叶黄绿,长势较矮,苗粗,茎底组织肥大
3.0	0.3	20	39	1.95	叶黄绿,长势较矮,苗粗,茎底组织肥大
4.0	0.3	20	34	1.70	叶黄绿,长势矮,苗粗,茎底组织肥大

2.5 同种配方对不同材料的影响

6 种不同良种杉木茎尖,都接入同种培养基(MS+1.0 mg/L 6-BA+0.3 mg/L NAA),从表 4 可以看出,用相同的配方,增殖系数因材料不同而不同;对材料 1 来说,这种配方增殖系数达到了 3 以上,可以用于实际应用,其它材料的增殖系数也有很大提高。

3 结论

培养基类型、生长调节物质浓度和活性炭等是植物培养基中的关键因素,都会影响杉木的组织培养状况。尤其是生长调节物质的浓度,在植物组织培养中起重要作用和明显调节作用^[7]。该试验结果表明,选择 MS 为培养基,6-BA 浓度为 1.0 mg/L 和 NAA 浓度为 0.3 mg/L 的

表 4 同种配方对不同材料组培的影响

Table 4 The influence of the same formula on different materials tissue culture

材料 Material	接种顶芽总数 Sum of inoculation of crown/个	新生侧芽总数 Sum of new lateral bud/个	增殖系数 Growth coefficient	生长情况 Growth situation
1	20	61	3.05	长势中等,梢长短不均,难形成有效芽,部分生根
2	20	47	2.35	长势中等,梢短,但梢长均匀
3	20	55	2.75	长势中上,梢长均匀,叶细,部分已生根
4	20	49	2.45	长势较差,梢长不均匀,叶细黄,部分已生根
5	20	53	2.65	长势中上,梢粗,梢长均匀,部分已生根
6	20	46	2.35	长势中等,梢长不均匀,叶长但叶展不充分

配方,材料 1 的增殖系数可以达到 3.05;同样的配方,材料不同增殖系数不同;活性炭可以降低玻璃化,但作用时间过长会使苗老化。该试验是对杉木组织培养的初步探究,杉木优良无性系组培快繁体系的建立还有待进一步研究。

参考文献

[1] 俞新妥. 中国杉木 90 年代的研究进展[J]. 福建林业学报,2000,20(1):86-96.
[2] 黄碧华. 速生优良杉木组培快繁技术试验[J]. 福建林业科技,2007,34(2):133-136.
[3] 陈代喜,吴友良,莫尚伟,等. 广西杉木良种选育现状与对策[J]. 林业科技开发,2010,24(1):1-4.
[4] 黄发新,李明鹤. 不同生理老化程度杉木外植体的组培效果[J]. 南京林业大学学报,2001,25(2):83-86.
[5] 姚立平,石文平. 对组培技术应用的几点建议[J]. 辽宁林业科技,2005(4):45-54.
[6] 潘瑞焱. 植物组织培养[M]. 广州:广东高等教育出版社,2001:40-43.
[7] 张静,林毅,蔡永萍,等. 激素水平对 84K 杨组培快繁的影响[J]. 激光生物学报,2005,14(3):233-237.

Preliminary Study on the Technique of Tissue Culture and Rapid Propagation on Fast-growing Guangxi Chinese Fir

FU Ting, LI Bo-lin

(College of Life Science, Guangxi Normal University, Guilin, Guangxi 541004)

Abstract: Taking shoots of excellent tree trunk from chinese fir as materials, the effects of 4 factors, medium, activated carbon, 6-BA and NAA, on the bud propagation of it were studied. The results showed that MS medium supplemented with 6-BA 1.0 mg/L and NAA 0.3 mg/L was suitable for its multiplication, the multiplication coefficient could reach 3.05 after 45 days; the same formula, the proliferation coefficient of different material; activated carbon could reduce the vitrification, but time was too long will cause ageing.

Key words: Chinese fir; tissue culture; multiplication coefficient