

千层金组织培养技术

陈克翔¹ 陈存及² 谢玉英³ 卢银良³

(1 福建省林业科技试验中心 2 福建农林大学 3 福建省鑫闽种业有限公司)

摘要:以顶芽或茎段为外植体,通过4种基本培养基和9种生长调节剂不同浓度组合的对比试验,结果得出H改良为最佳基本培养基,萌芽率最高(达78%)。增殖培养基激素最佳组合为6-BA 1.0 mg/L + NAA 0.2 mg/L,平均增殖率达2.56,植株平均高度为2.32 cm。最佳生根培养基为1/2MS+ABT 1号0.5 mg/L,植株的生根率达98%以上。移栽基质选用红心土,成活率达90%以上。

关键词:千层金;培养基;组织培养;生长调节剂

千层金(*Melaleuca bracteata*)又名黄金宝树,桃金娘科白千层属常绿乔木,主干直立,侧枝横展至下垂,嫩枝红色,老枝变灰,叶四季黄色,韧性很好,抗风力强,在海边生长势非常好,是珍贵的绿化用新树种。此外,其叶片含的芳香油是目前世界上珍贵的化妆品原料之一。千层金可适应的气候带范围广,种植适宜范围从海南到长江以南甚至更北的地区,能耐-7~-10℃的低温;适应土质的范围也非常广,从酸性到石灰岩土质甚至盐碱地都能适应。抗病虫能力强,既抗旱又抗涝,适宜水边生长,还能抗盐碱、抗强风,是沿海地区不可多得的优良的景观造林树种。1999年从新西兰首次引入我国,由于千层金综合开发利用潜力大,目前仍处于种苗繁殖阶段,已引种栽植地区十分有限^[1]。因此采用组培技术加快千层金的繁殖生产具有重大意义。

1 材料与方法

1.1 试验材料

采取千层金优良植株萌芽条,带回组培实验室经流水冲洗后,在超净工作台上用75%乙醇浸泡30~60 s,再用0.1% HgCl₂溶液消毒8~10 min,无菌水冲洗5次。切取顶芽和0.7~1.0 cm长茎段作为外植体,将顶芽和茎段斜插或直插于诱导培养基MS+6-BA 1.0 mg/L(以下激素单位同)+NAA 0.1上。

1.2 试验方法

1.2.1 基本培养基

采用MS、H改良、B5和White作为基本培养基。在相同的培养条件下,每组重复3次,每次30个。培养基经121℃、1.1 kg/cm²高温高压灭菌^[2,3]。

1.2.2 培养条件

30 g/L食糖,6-BA 1.0+NAA 0.1,6.5 g/L卡拉胶,pH 5.8。培养温度(26±2)℃,采用日光灯培养,光强1 000~2 000 lx,光照时数12 h/d^[4]。

1.2.3 增殖和生根培养基

增殖培养基分别附加6-BA 0.5、1.0、1.5;NAA 0.1、0.2、0.3。每瓶20个芽,每个处理18瓶,重复3次。生根培养基附加ABT 1号生根粉0.2、0.5、0.8。

2 结果与分析

2.1 基本培养基选择

外植体接种后经20~30 d培养,诱导率达67%。将诱导出的茎芽,接种于4种供试的培养基上。结果表明,采用MS和H改良培养基,萌发率相差不多,但H改良丛芽发生率高。培养4个月,丛生芽进入了旺盛增殖期。采用B5和White培养基,萌发率和生长表现明显不如MS和H改良。通过比较分析,选择H改良作基本培养基效果最佳(见表1)。

表1 4种培养基对茎芽萌发与生长的比较

基本培养基	茎段/个	培养时间/d	萌发率/%	生长表现
MS	30	30	75	腋芽粗,色黄绿,丛芽少
H改良	30	30	78	腋芽粗,色黄绿,丛芽多
B5	30	30	48	腋芽细小,色淡黄,丛芽无
White	30	30	23	腋芽细小,色淡黄,丛芽无

2.2 试管苗增殖生长

选取粗壮无菌茎芽,接种到增殖培养基上(见表2)。10 d后可见基部不定芽萌发,30 d后观察结果。采用H改良作为基本培养基,培养时间30 d。各种生长调节剂浓度组合见表2。2.0 cm以上作生根材料最佳。千层金组培健壮茎芽(指可用于作生根的材料)标准可为:茎芽高度2.0 cm以上;繁殖系数2.5倍以上。从表2观察出:只有6-BA 1.0+NAA 0.2

收稿日期:2006-08-28

修回日期:2006-11-06

第一作者简介:陈克翔(1976-),男,助理工程师,主要从事林业种苗、花卉、药用植物和蔬菜等植物的组织培养技术与生产。

组合的茎芽平均高达 2.32 cm,且增殖倍数达2.56,符合要求。按理论推算,年繁殖系数达2.561 2,即1 a后1个芽增殖 7.92×10^4 个茎芽,数目巨大。

2.3 试管苗的生根

经增殖培养30 d,一个400 mL塑料广口培养容器有200多条茎芽,其中2.0 cm以上的有效芽有40~75株,平均53株。通过无菌操作将有效芽单株切下,接种于附加各种激素浓度水平的1/2MS培养基上培养30 d。芽条转入生根培养基后,先在室内弱光照条件下培养7 d左右,发根率达70%以上时,逐步加强光照。试验结果表明:采用ABT 1号生根粉0.1、0.5、1.0 mg/L 3个浓度水平生根率分别为86%、98%、89%。选择0.5 mg/L ABT 1号生根粉为最佳激素浓度。

表2 6-BA和NAA对茎芽生长分化的影响

浓度/mg·L ⁻¹		转入芽	转入芽苗	30 d后芽	30 d增	30 d芽苗
6-BA	NAA	苗数/个	平均高/cm	苗数/个	殖倍数	平均高/cm
0.5	0.1	100	1.1	210	2.10	2.49
0.5	0.2	100	1.1	152	1.52	2.84
0.5	0.3	100	1.1	139	1.39	3.06
1.0	0.1	100	1.1	311	3.11	1.43
1.0	0.2	100	1.1	256	2.56	2.32
1.0	0.3	100	1.1	187	1.87	2.61
1.5	0.1	100	1.1	361	3.61	1.26
1.5	0.2	100	1.1	289	2.89	1.65
1.5	0.3	100	1.1	274	2.74	1.88

2.4 试管苗的移栽

组培苗的移栽是经过从异养到自养这一很大转变的锻炼过程。试管苗从无菌、光照温度恒定、湿度饱和的培养条件下,直接转移到一个有菌、光、温、湿不稳定的环境中,一是霉菌容易感染,二是缺乏抵抗力以致死亡。为了提高移栽后试管苗的成活率,必须缩小自然环境与试管环境的差异,尽可能地制造适宜于试管苗生存的环境^[4]。生根培养30 d后,小苗茎部木质化,叶片舒展,叶色金黄,茎轴伸长,应及时洗苗移植,采用红心土进行移栽,成活率达90%以上。

3 结论

(1)以千层金优良单株的顶芽和茎段为外植体,MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L为诱导培养基,H改良+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L为增殖培养基,1/2MS+ABT 1号0.5 mg/L为生根培养基。按理论推算,年繁殖系数为2.56,即1个芽经增殖培养1 a后可达 7.92×10^4 个茎芽,可达到工厂化育苗水平。

(2)小苗移栽时,可先将苗逐渐加强光照进行炼苗3~4 d,再洗苗、移植。洗苗时,轻轻拨出小苗,洗净培养基,截除超过3 cm长的部分根系,并用0.1%的高锰酸钾水溶液进行消毒。移栽基质混合均匀后,装入7 cm×11 cm的薄膜营养袋内。首先用高锰酸钾为0.1%溶液或50%多菌灵、70%代森锰锌可湿性粉剂800~1 000倍溶液浇透消毒。每袋移植1株,移栽后浇透水,在简易温室内,覆盖薄膜保温并遮阴70%~80%。每4 d喷1次多菌灵或百菌清药液,每天打开薄膜通风3次,以防病害。经常喷雾,保持相对湿度90%以上。如发现有病死植株,应及时拔除。5 d后,可揭开薄膜,每日喷水3~5次或更多次。每星期喷药防病1次和用2%复合肥液或用1/2MS大量元素浇施1次。若出现蛾类等幼虫危害,可喷洒40%氧化乐果乳油1 000~2 000倍或20%杀灭菊酯2 000~3 000倍^[5]。移栽30 d后检查,小苗平均成活率达95%以上。苗木成活一段时间后,如不及时搬出大棚炼苗,易导致小苗徒长,苗茎细弱木质化差,易导致病害的发生。经90 d培育(冬季适当延长),苗高15 cm以上,叶片12~16片以上,可成为商品小苗出售。

参考文献

- [1]戴英祥.最新色叶树叶——千层金[J].广东园林,2003,1:43.
- [2]李俊明.植物组织培养教程(第2版)[M].北京:中国农业大学出版社,2002.
- [3]曹孜义,刘国民.实用植物组织培养技术教程[M].甘肃:甘肃科学技术出版社,2001.
- [4]陈碧华,姚庆端,洪长福,等.赤桉组培技术的研究[J].林业科技开发,2003,17(1):45-47.
- [5]贾立人,贾龙志,程宇,等.千层金扦插繁殖试验研究报告[J].温州农业科技,2006(2):17-19.

(通讯地址:350301,福建省福清市宏路镇)

