

大花序桉叶片器官发生与不定芽起源研究

刘欣、黄振、陈炎、陈萍、刘良梦、郭洪英

(四川省林业科学研究院 成都市 610000)

摘要: 建立大花序桉 (*Eucalyptus cloeziana*) 叶片不定芽诱导和植株形态建成的组培再生技术体系, 并明确不定芽发生位置。以大花序桉良种“川林珍 7523”无性系无菌叶片为外植体, MS 为基础培养基, 设计以 6-BA、TDZ、CPPU 以及 IBA 不同浓度组合的培养基为叶片愈伤组织诱导培养基; NAA、TDZ、CPPU 以及 IBA 不同浓度组合的培养基为叶片状态转换、愈伤组织增殖、不定芽分化的培养基; 探索 0~3000 Lux 对大花序桉愈伤组织诱导、分化的影响; 并采用石蜡切片来分析不定芽分化来源。(1) 大花序桉“川林珍 7523”增殖苗顶端往下第 2-4 叶片是最合适诱导愈伤组织的材料。(2) 增殖苗叶片在植株形态转化培养基 (MS+0.01 mg/L TDZ+0.6mg/L NAA) 中培养 30 d, 当幼苗顶部或新叶颜色变红, 叶片顶端上没有白色颗粒状愈伤组织发生后, 把幼苗转接入叶片形态转换培养基 (MS+0.1 mg/L NAA+0.05 mg/L TDZ) 中 15d, 顶部叶片颜色由红色逐渐变为绿色, 此时第 2-4 叶片的长度生长至 1cm 可切下诱导愈伤组织。(3) 大花序桉“川林珍 7523”最佳叶片愈伤组织诱导培养基为 MS+0.05 mg/L 6-BA+0.1 mg/L TDZ+0.5 mg/L IBA, 平均愈伤组织诱导率可达 81.52%, 呈淡绿色, 表面光滑有球状凸起, 紧质且硬, 愈伤组织大小与 TDZ 激素浓度呈负相关。(4) 大花序桉“川林珍 7523”最佳愈伤组织分化培养基为 MS+0.05 mg/L TDZ+0.3 mg/L CPPU, 叶片愈伤组织平均不定芽数最高 5.18 ± 0.74 个/片, 不定芽高 0.2-1 cm, 不定芽在分化培养基中可长出 3-6 片叶, 不定芽诱导后 20 d 内转移至生根培养基中可诱导出不定根完成形态建成, 若培养时间超过 30 d 后部分叶片出现轻微玻璃化迹象。(5) 在 500 Lux 光照下培养 20 d 诱导愈伤组织效果高于其它组; 在 1500 Lux 光照下培养愈伤组织分化效果较好, 不定芽叶片未出现玻璃化。(6) 大花序桉“川林珍 7523”叶片愈伤诱导与分化进程中石蜡切片解剖结构分析发现, 愈伤组织主要来源于叶柄上半部, 不定芽起源于愈伤组织表层第三层细胞, 为外起源方式。本研究建立了完整的大花序桉叶片诱导和不定芽高效再生途径, 为大花序桉多倍体诱导和转基因研究提供材料基础。