

多花相思的组织培养和快速繁殖

张祖荣

(重庆文理学院生命科学系, 重庆永川 402168)

摘要: 用多花相思茎段作外植体, 采用在木本植物茎叶组培材料上经常采用的3种消毒方法, 以及前人已在相思类植物营养器官组培上取得成功的4种芽诱导培养基、芽增殖培养基和生根培养基进行对比试验。结果表明, 材料消毒以1/800灭菌净10 min + 75%酒精50 s + 0.1% HgCl₂ 5 min处理效果最好; 芽诱导和芽增殖都以改良MS + 6-BA1.0 + NAA0.2效果最好; 生根效果最好的培养基是1/2MS + IBA1.0。

关键词: 多花相思; 茎段; 组织培养; 快速繁殖

中图分类号: S722.3⁺7 **文献标识码:** A **文章编号:** 1002-7351(2007)02-0143-03

The study on techniques for rapid propagation and tissue culture of *Acacia floribunda* (Vent.) Willd.

ZHANG Zu-rong

(Department of Life Science, Chongqing University of Arts and Sciences, Yongchuan, Chongqing 402168, China)

Abstract: In this study, stem segments with axillary buds of *Acacia floribunda* were used as explants in tissue culture. Three common disinfect methods used in the tissue culture of wooden plant stems and leaves were adopted, and four culture media for bud induction, bud proliferation and rooting used in previous studies of the tissue culture of *Acacia* species were taken as a comparative tests. The result showed that the most effective method to disinfect material was 1/800 germicide for 10 min + 75% alcohol for 50 s + 0.1% HgCl₂ for 5 min. The induced and proliferation media was the improved MS + 6-BA1.0 + NAA0.2, and the rooting was 1/2 MS + IBA1.0.

Key words: *Acacia floribunda* (Vent.) Willd.; stem segment; tissue culture; rapid propagation

相思类树种(简称相思树)为含羞草科(Mimosaceae)金合欢属(*Acacia*)植物, 它们根瘤发达、固氮能力强, 且生物量大、枯枝落叶多, 对土壤有很好的保护和改良作用; 相思树还是优良的用材树种, 其量大而质优的心材是高档家具、装饰板、木地板等的上好材料; 相思树树皮单宁含量30%~40%, 直接用于制栲胶, 种子粗蛋白含量20%~30%, 人可以食用, 叶片可以作动物饲料, 因此相思树的种植具有极大的生态效益和经济效益, 深受人们欢迎^[1]。由于原产我国的相思树种极少(目前已知的只有台湾相思和尖叶相思2种^[2]), 因此我国栽培的相思树种都主要从国外引进。

尽管我国从20世纪60年代以来引种成功的相思树种已超过百种, 但它们基本上都是用于林业造林树种^[2], 而在相思类植物中还不乏具有观赏价值的园林树种^[3]。随着我国园林事业的发展, 这些既具有生态价值、经济价值, 同时又具有显著观赏价值的观赏相思树, 必然会引起人们更大的开发和研究兴趣。本文即是想通过对新近引进的多花相思(*Acacia floribunda* (Vent.) Willd.)这种观赏相思树的组织培养和快速繁殖研究, 能在观赏相思树的快速繁殖方面为同行和专家们提供一点有益的参考和借鉴, 同时也为更好地解决多花相思的引种种源问题提供一条较为理想的途径。

1 材料与方法

1.1 材料

试验材料取自重庆文理学院植物园2年生多花相思幼苗上生长健壮的幼嫩茎段。

1.2 方法

1.2.1 外植体消毒 首先剪除茎段上的叶, 然后对外植体进行常规表面消毒, 采用在木本植物茎叶组培

收稿日期: 2006-11-16

基金项目: 重庆市教委科研资助项目(渝教科200404)《三峡库区观赏植物资源调查及快繁技术研究》的部分内容

作者简介: 张祖荣(1966-), 男, 重庆江津人, 重庆文理学院副教授, 从事植物种植类基础学科的教学与研究。

材料消毒处理上常用的 3 种消毒方法^[4](表 1)。把经消毒处理的茎段剪成 1~2 cm 长的带芽小段,并把它们接种到同一种芽诱导培养基上以观察它们各自的污染率,从中选优。

1.2.2 培养基 本试验分别选用前人已在相思类植物营养器官组培上取得成功的 4 种芽诱导培养基(表 2)、芽增殖培养基(表 3)和生根培养基(表 4)进行对比试验,以便从中筛选出多花相思组培的最佳芽诱导培养基、芽增殖培养基和生根培养基。

1.2.3 培养条件 温度 $28 \pm 3^{\circ}\text{C}$, 光照 $12 \text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$, 光照强度 $2\,000 \text{ lx}$ 。

1.2.4 无菌苗移栽 把根长 3 cm 以上且生长健壮有分枝的无菌苗打开瓶塞炼苗 2~3 d, 然后移栽到喷有 1/4MS 营养液的珍珠岩基质上并盖上薄膜保湿, 10 d 后揭开薄膜, 移栽到装有腐质土的花盆中, 经 20 d 左右的常规养护即能成活。

2 结果与分析

2.1 不同消毒处理对外植体的影响

把经不同消毒处理的外植体接种到同一种芽诱导培养基后, 经 7~10 d, 结果见表 1。没有出现污染的茎段基部切口处开始产生白色或黄白色的愈伤组织, 而没有产生愈伤组织的茎段已经出现明显的霉变现象。

表 1 不同消毒方法的处理效果

消毒方法	处理数量	接种后污染率/%
1/800 灭菌净 10 min + 75% 酒精 50 s + 0.1% HgCl_2 5 min	20	0
75% 酒精 10 s + 0.1% HgCl_2 8 min	20	6
洗衣粉液 15 min + 6% 次氯酸钠 20 min + 0.1% HgCl_2 5 min	20	4

*: 消毒方法中的“+”表示经前一种消毒液处理后用无菌水冲洗干净, 然后再用下一种消毒液处理。

表 1 说明, 3 种消毒方法中, 第 1 种效果最佳, 污染率为 0, 其余 2 种均出现了少量污染。这和以前试验基本相同^[5], 说明亲缘关系很近的相思类树种对外植体消毒液的反应也大致相同。

2.2 不同培养基对培养效果的影响

2.2.1 芽诱导 把经消毒对比试验而没有发生污染的外植体分别转入 4 种不同的芽诱导培养基上, 15 d 后, 部分茎段在叶腋处产生出 1~4 个不定芽。25~30 d 后, 分化的不定芽及侧芽进入旺盛生长时期。表 2 为培养 50 d 的结果。

表 2 不同培养基的芽诱导效果

培养基	培养数量	诱导率/%	繁殖系数	平均苗高/cm	生长状况
改良 MS+6-BA1.0+NAA0.2 ^[6]	15	64	2.6	2.2	良好
改良 MS+6-BA2.0+NAA0.2 ^[7]	15	70	3.2	2.6	较差
MS+6-BA3.0+NAA0.1 ^[8]	14	74	3.6	2.8	最差
MS+6-BA1.0+IBA0.5 ^[9]	14	44	1.8	1.8	中等

*: 以上培养基都加入了 3% 蔗糖和 0.7% 琼脂作为基本成分, 下同。

表 2 说明, 随着 6-BA 的浓度增大, 不定芽的诱导率明显提高, 但过于密集的不定芽却生长较差, 有效苗反而减少。综合分析表明, 以第 1 种最好, 第 3 种最差。这样的结果也说明了降低矿质养分浓度和提高 6-BA 浓度对多花相思外植体的芽诱导有明显促进作用, 这和有些木本果树外植体的芽诱导情况基本一致^[10]。

2.2.2 芽增殖 将芽诱导培养出的有效芽苗再分别转入 4 种不同的增殖培养基上, 12 d 后材料的切口处均出现愈伤组织, 芽苗明显增高, 且腋芽处开始有不定芽萌动迹象。16 d 后不定芽陆续长出, 30 d 时芽苗数量明显增多, 增殖系数达 3 倍左右。具体结果如表 3 所示。从表中可看出, 和芽诱导培养基相似, 降低矿质养分浓度和提高 6-BA 浓度对提高多花相思外植体的芽增殖倍数效果明显。尽管以第 2 种培养基的增殖倍数最高, 但同时也出现芽丛密、芽苗高度低、有效苗减少等问题。只有第 1 种培养基既可实现高增

殖率,又能保证分化出的芽粗壮,芽苗生长良好,为本次实验的最佳芽增殖培养基。

表3 不同培养基的芽增殖效果

培养基	培养数量	增殖倍数	平均苗高/cm	生长状况
改良 MS+6-BA1.0+NAA0.2 ^[6]	20	3.2	2.4	良好
改良 MS+6-BA1.5+NAA0.2 ^[7]	20	3.6	1.8	中等
MS+6-BA1.0+NAA0.1 ^[8]	20	2.6	2.3	中等
MS+6-BA2.0+IBA0.2 ^[9]	20	2.9	2.1	较差

2.2.3 根诱导 当丛生苗长到平均高度3 cm左右时,选取健壮的芽苗切成1.5 cm左右的茎段转入4种不同的生根培养基上,接入培养基6 d后,有部分芽苗在切口处开始长出白色的愈伤组织。20 d后,开始生根,幼根呈放射状排列。不生根的外植体基部切口无愈伤组织产生,且逐渐变为深褐色。50 d后观察生根效果,结果如表4所示。

表4 不同培养基的生根效果

培养基	培养数量	生根率/%	平均根数/条	平均根长/cm	生长状况
改良 MS+IBA1.5+NAA0.4 ^[6]	20	89	3.4	3.2	较差
1/2MS+IBA1.0 ^[7]	20	81	2.8	2.5	良好
1/2MS+IBA0.5+NAA0.4 ^[8]	20	72	2.4	2.2	中等
MS+6-BA0.5+IBA1.0 ^[9]	20	65	2.1	1.8	最差

表4说明,生根培养基以第2种最好、第4种最差。这表明适当增大IBA浓度或降低矿质养分浓度有利于多花相思的根诱导,这和有些草本植物组培的根诱导情况基本相同^[11]。

3 讨论

1)本试验表明,在其他相思树的组培上已取得成功的培养基,对多花相思的组培也有不同程度的作用效果。主要原因应该是由于它们亲缘关系很近,从而在生长发育方面也存在许多相同之处;另外,在多花相思的组培过程中也出现一些与木本果树和草本植物相似的组培现象,进一步证明各种种子植物之间都或多或少地存在一些生长发育方面的共同之处。

2)和其他组培材料相比,茎段腋芽组培的增殖率相对于由愈伤组织诱导丛生芽的增殖率要低,但腋芽诱导的再生植株遗传变异性小,而由愈伤组织诱导的再生植株遗传变异性大^[12],因此,为了保持亲本的遗传特性,茎段腋芽应该是多花相思组培中的一种很好的外植体选择。

参考文献:

- [1]周鸿彬,高本旺,高登梅,等.相思类树种引种初报[J].湖北林业科技,2001(4):19-22.
- [2]李纪元.金合欢属植物资源在我国亚热带的引种潜力[J].福建林学院学报,2002,22(3):283-288.
- [3]叶永昌,朱剑云,李果惠,等.3种观赏相思的引种栽培试验[J].广东林业科技,2001(4):16-20.
- [4]李焕秀,乔霓娇.降低苍溪梨外植体组培褐变途径的研究[J].西南农业大学学报:自然科学版,2001,23(6):524-526.
- [5]张祖荣,刘兴良.灰木相思茎段腋芽的组织培养及植株再生[J].西南农业大学学报:自然科学版,2004,26(3):291-293.
- [6]高洁,王玲.大叶相思茎段腋芽组织培养技术初探[J].西南林学院学报,2003(2):16-18.
- [7]洪丽萍,邹晓兽,黄维南.台湾相思的组织培养研究[J].华南师范大学学报:自然科学版,2001(3):45-54.
- [8]周丽,周志坚,周丽华,等.卷荚相思组织培养育苗技术研究[J].广东林业科技,1999(1):40-43.
- [9]赖家业,周传明,叶春生,等.厚荚相思组织培养与快速繁殖[J].四川大学学报:自然科学版,2003,40(5):982-985.
- [10]王永清,Gabi Krczal.从芽外植体到温室栽培—甜樱桃和酸樱桃30周快繁殖技术(英文)[J].西南农业大学学报,2001,23(3):230-232.
- [11]高峰,龚一富,王晓倩.甘薯组织培养中不定根的诱导和优化[J].西南农业大学学报,1999,21(5):417-422.
- [12]曹孜仪,刘国民.实用植物组织培养技术教程[M].兰州:甘肃科学技术出版社,1996:98-102.