

施 琼,胡 峰,黄烈健,等. 马大杂种相思组培快繁技术[J]. 华南农业大学学报,2015,36(2):79-84.

马大杂种相思组培快繁技术

施 琼¹,胡 峰²,黄烈健¹,陈应彪³

(1 中国林业科学研究院 热带林业研究所,广东 广州 510520; 2 广东省农业科学院 作物研究所,广东 广州 510640;
3 饶平县林业科学研究所,广东 饶平 515745)

摘要:【目的】提高马大杂种相思 *Acacia mangium* × *A. auriculiformis* 良种的快速繁殖效率与推广种植力度.【方法】以马大杂种相思新生枝条带腋芽茎段为外植体,研究马大杂种相思组培快繁体系.【结果和结论】用质量分数为 0.1% 的升汞和体积分数为 75% 的乙醇分别处理当年新生枝条第 3~5 个腋芽茎段 15 min 和 30 s,然后接种至 MS 培养基进行初代培养,芽诱导率为 95.68%;最佳增殖培养基为改良 MS + 6-BA 1.5 mg · L⁻¹ + NAA 0.1 mg · L⁻¹ + 蔗糖 30~40 g · L⁻¹,35 d 的有效增殖倍数为 3.97;将增殖芽接入含 IBA 600 mg · L⁻¹ 的 MS 固体培养基上预培养 4~8 h 后转接至无激素 1/2 MS 培养基上,15 d 即可全部生根;或将增殖芽直接接入 1/2 MS + IBA 1.0 mg · L⁻¹ + NAA 0.5 mg · L⁻¹ + 蔗糖 30 g · L⁻¹ 生根培养基上,第 15 天时生根率为 99.43%. 将生根苗移栽至以黄心土为基质的营养袋内,存活率为 94.67%.

关键词:马大杂种相思; 组织培养; 有效增殖倍数
中图分类号:S722.89 **文献标志码:**A **文章编号:**1001-411X(2015)02-0079-06

In vitro propagation of *Acacia mangium* × *A. auriculiformis*

SHI Qiong¹, HU Feng², HUANG Liejian¹, CHEN Yingbiao³

(1 Research Institute of Tropical Forestry, Chinese Academy of Forestry, Guangzhou 510520, China;
2 Crops Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640, China;
3 Raoping County Forestry Research Institute, Raoping 515745, China)

Abstract:【Objective】To improve the propagation efficiency and extend the planting of *Acacia mangium* × *A. auriculiformis*. 【Method】This study was carried out to explore the techniques of *in vitro* propagation of *A. mangium* × *A. auriculiformis* using stem segments with buds collected from 16-year plants as the explant. 【Result and conclusion】Current season stem segments carrying 3–5 axillary buds were sterilized with $w = 0.1\%$ mercuric chloride and $\varphi = 75\%$ alcohol for 15 min and 30 s respectively before they were inoculated onto MS medium. Buds could be induced successfully on MS with a shooting rate of 95.68%. The bud proliferation index was 3.97 after being transferred onto MS + 6-BA 1.5 mg · L⁻¹ + NAA 0.1 mg · L⁻¹ + sucrose 30–40 g · L⁻¹ for 35 d. The buds all rooted on the 15th day from inoculation onto 1/2 MS medium after pre-cultured on MS supplemented with IBA 600 mg · L⁻¹ for 4–8 h. Inoculating the proliferated buds onto 1/2 MS + IBA 1.0 mg · L⁻¹ + NAA 0.5 mg · L⁻¹ + sucrose 30 g · L⁻¹ also generated a high rooting rate of 99.43%. The survival rate reach 94.67% after the rooted plantlet are transplanted to the yellow soil medium.

Key words:*Acacia mangium* × *A. auriculiformis*; tissue culture; proliferation index

收稿日期:2013-08-04 优先出版时间:2015-01-21
优先出版网址:<http://www.cnki.net/kcms/detail/44.1110.s.20150121.0936.010.html>
作者简介:施 琼(1988—),女,硕士,E-mail:shiqiongzai@163.com;通信作者:黄烈健(1971—),男,副研究员,博士.E-mail:13802987948@163.com
基金项目:“十二五”国家科技支撑计划项目(2012BAD01B0402)

马大杂种相思 *Acacia mangium* × *A. auriculiformis* 属含羞草科 Mimosaceae 金合欢属 *Acacia*^[1], 主要分布在气温 12 ~ 35 ℃, 年降水量 1 200 ~ 1 850 mm 和海拔 50 ~ 350 m 的地区^[2]. 马大杂种相思具速生、固氮、涵养水源、极度抗瘠薄等优点, 且树干通直、分枝细小, 是城市绿化、营造高效生态混交林的优良种植材料, 近年来在我国南方逐渐受到重视.

目前, 对马大杂种相思离体快繁技术研究已有报道, 但这些研究对选择具有优良性状的母株作为外植体来源缺乏重视^[3]; 且有效增殖倍数低、芽苗质量较差、增殖芽可用于生根诱导的数量极少^[4]; 移栽存活率仅 80.4%^[5]. 本试验从马大杂种相思多年生试验林中进行单株选优, 对其离体快繁技术进行了系统研究, 成功建立了高效、高质的快繁体系, 可应用于工厂化育苗, 为马大杂种相思的良种选育及推广种植奠定基础.

1 材料与方法

1.1 植株来源和试验材料

选取马大杂种相思 16 年生抗风直杆型优良单株 (AMA12001), 先通过扦插繁殖获得较多的无性系材料, 然后以其当年新生枝条的带腋芽茎段为外植体进行研究.

1.2 试验方法

1.2.1 外植体消毒和初代培养 最佳消毒时间的确定: 于质量分数为 0.1% 的升汞溶液中分别处理外植体 9、12、15 min, 再分别用体积分数为 75% 的乙醇处理 5、15、30 s, 无菌水冲洗 4 ~ 6 次.

最佳外植体部位的确定: 分别将枝条的第 1 ~ 2 节嫩茎 (上)、第 3 ~ 5 节嫩茎 (中)、第 7 ~ 8 节嫩茎 (下) 剪成长 1.0 ~ 2.0 cm 带腋芽茎段.

将消毒后的外植体接种在 MS 培养基上, 每个处理接种 60 瓶, 每瓶接种 1 株芽, 重复 3 次, 15 d 后统计存活率和出芽率.

1.2.2 丛生芽诱导和增殖培养 6-BA、NAA 单因子对增殖的影响: 6-BA 选择 0.5、1.0、1.5、2.0 mg · L⁻¹ 4 个质量浓度, 探讨细胞分裂素对增殖的影响; NAA 选择 0.05、0.10、0.50 mg · L⁻¹ 3 个质量浓度, 附加 6-BA 1.0 mg · L⁻¹, 探讨生长素对增殖的影响.

6-BA、NAA 不同质量浓度组合对增殖的影响: 设置培养基中的 6-BA 与 NAA 质量比例为 40:1、30:1、20:1、15:1、10:1、5:1、3:1、2:1, 探讨细胞分裂素与生长素不同质量浓度比例组合对增殖的影响.

基本培养基、活性炭质量浓度、糖浓度单因子对增殖的影响: 基本培养基类型选择 MS、1/2MS、改良 MS; 糖质量浓度选择 20、30 和 40 g · L⁻¹; 活性炭选择 0.1、0.5 和 1.0 mg · L⁻¹. 以上培养基均附加上一步骤筛选出的最佳激素浓度配比.

每处理均接种 20 瓶, 每瓶接种 3 株芽, 重复 3 次, 35 d 后调查增殖倍数.

1.2.3 最佳生根方法筛选 高质量浓度激素浸泡法: 将长 2 ~ 3 cm 的增殖芽在添加 IBA 200、400、600、800 和 1 000 mg · L⁻¹ 5 个质量浓度的固体培养基上分别预培养 4 和 8 h 后, 转接入 1/2MS 培养基中继续培养.

低质量浓度激素诱导法: 将长 2 ~ 3 cm 的增殖芽接入含不同类型基本培养基、不同质量浓度活性炭及蔗糖、不同低质量浓度激素的培养基中进行不定根的诱导.

每个处理均接种 20 瓶, 每瓶接种 3 株芽, 重复 3 次, 培养 15 d 后统计生根率、生根条数.

1.2.4 移栽和驯化 生根培养 10 ~ 15 d 后, 炼苗 5 ~ 10 d, 洗净根部的培养基后移栽到经消毒过的营养袋中, 移栽基质选择黄心土.

1.3 培养条件

以上试验除特殊说明外, 增殖培养以 MS 为基本培养基, 生根培养以 1/2MS 为基本培养基, 均添加琼脂 7 g · L⁻¹、蔗糖 30 g · L⁻¹, 控制 pH 为 5.5 ~ 6.5, 培养基均在 121 ℃ 高压灭菌 15 min, 培养温度为 (25 ± 2) ℃, 每日光照 12 h, 光照度 2 500 lx.

1.4 统计分析

使用 Excel、SPSS18.0 对数据进行处理和方差分析, 以最小显著差数法 (LSD) 评价差异的显著性.

2 结果与分析

2.1 外植体消毒对初代培养的影响

2.1.1 不同处理时间对初代培养的影响 带腋芽茎段是最理想的组培外植体材料, 其诱导的芽遗传变异小, 能保持亲本的优良性状^[6]. 本试验以带腋芽茎段为外植体, 消毒效果见表 1. 处理 1 至处理 3 (升汞消毒 9 min) 的消毒时间偏短, 导致污染率偏高, 存活率偏低; 随着升汞消毒时间的增加, 污染率逐渐降低, 存活率逐渐上升, 当选用 15 min 升汞配合 30 s 乙醇 (处理 9) 消毒时, 其褐化率虽然较高, 但污染率仅 6.67%, 存活率达 78.33%, 是最适宜的消毒方案.

表 1 升汞及乙醇不同处理时间对初代培养的影响¹⁾
Tab.1 Effects of sterilization time on initial culture

处理号	$t_{\text{升汞}}/\text{min}$	$t_{\text{乙醇}}/\text{s}$	污染率/%	褐化率/%	存活率/%
1	9	5	64.17 ± 10.10aA	0.83 ± 1.44bB	35.00 ± 10.10cC
2	9	15	61.67 ± 2.89aA	2.50 ± 2.50bB	35.83 ± 1.44bcBC
3	9	30	57.50 ± 7.50aAB	5.83 ± 1.44bAB	36.67 ± 6.29bcBC
4	12	5	38.33 ± 5.20bB	9.17 ± 3.82abAB	52.50 ± 8.66bB
5	12	15	24.67 ± 8.03bcBC	4.17 ± 2.89bB	71.67 ± 5.20aAB
6	12	30	17.50 ± 5.00cC	6.67 ± 2.89abA	75.83 ± 2.89aA
7	15	5	22.50 ± 2.50bcBC	6.67 ± 1.44abAB	70.83 ± 2.89aAB
8	15	15	20.83 ± 2.89cBC	6.67 ± 5.20abAB	72.50 ± 7.50aA
9	15	30	6.67 ± 2.89cC	15.00 ± 2.50abAB	78.33 ± 1.44aA

1)表中数据为3次重复的平均数±标准差;同列数据后,凡具有一个相同小写或大写英文字母者分别表示0.05或0.01水平差异不显著(LSD法)。

2.1.2 不同部位的外植体对初代培养的影响 外植体污染率、褐化率和芽诱导率受枝条的木质化程度影响较大.木质化程度越高,污染率越高,新生顶芽内生菌含量少,但材质娇嫩,容易被消毒剂杀死.枝条中上部半木质化的茎段出芽率高^[7],且污染率低^[8],本试验(表2)也发现中段(第3~5个腋芽)半木质化茎段污染率和褐化率都较低,且出芽率较高,因而当年生新枝第3~5个腋芽茎段是理想的外植体材料。

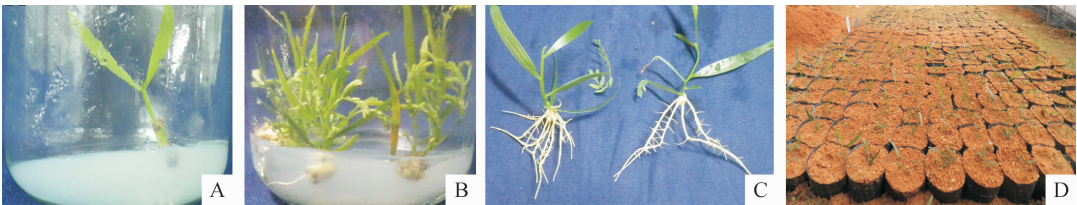
综上所述,剪取枝条的中部(第3~5个腋芽)作为外植体,用体积分数为75%的乙醇和质量分数为0.1%的升汞分别消毒30 s、15 min,是获得马大杂种

相思无菌材料的最佳途径.将无菌茎段接入MS基本培养基初代培养10 d后,腋芽开始萌动,30 d调查时新芽长约为2~4 cm(图1A),可用于增殖培养。

表 2 不同外植体来源及部位对初代培养的影响¹⁾
Tab.2 Effects of different sampling positions on initial culture

外植体部位	存活率/%	芽诱导率/%
上段(第1,2个腋芽)	71.67 ± 4.41bB	97.69 ± 2.38aA
中段(第3~5个腋芽)	88.89 ± 3.47aA	95.68 ± 2.05abA
下段(第5~7个腋芽)	82.78 ± 4.20aAB	77.16 ± 4.20bB

1)表中数据为3次重复的平均数±标准差;同列数据后,凡具有一个相同小写或大写英文字母者分别表示0.05或0.01水平差异不显著(LSD法)。



A:初代培养;B:增殖培养;C:生根培养;D:移栽。
图1 马大杂种相思快繁体系

Fig.1 Processes of in vitro propagation of *Acacia mangium* × *A. auriculiformis*

2.2 丛生芽诱导与增殖培养基筛选

2.2.1 6-BA、NAA 单因子对增殖的影响 增殖培养10 d左右从基部腋芽处开始冒出新芽,且茎段基部逐渐变粗.第35天时调查可知(表3),增殖倍数随6-BA浓度的增加而增加,当6-BA质量浓度为1.0~1.5 mg·L⁻¹时,增值倍数均达到3以上,且6-BA质量浓度为1.5 mg·L⁻¹时,增殖倍数较高,芽长势较好;但当质量浓度达到2.0 mg·L⁻¹时,芽玻璃化现象严重,有效芽减少.而NAA对芽生长起主要作用,随着NAA质量浓度的升高,芽体长势变好,当NAA质量浓度为0.5 mg·L⁻¹时,芽生长健壮,生长速度快,但增值倍数低;而NAA质量浓度为0.1 mg·L⁻¹时的增殖倍数最高,芽的长势也较好。

表 3 不同比例的 6-BA、NAA 对增殖的影响
Tab.3 Effects of various concentrations of 6-BA and NAA on proliferation

$\rho/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$		增殖 倍数	芽长势
6-BA	NAA		
0.5	0	2.4	芽健壮,生长快
1.0	0	3.0	芽健壮,生长较快
1.5	0	3.5	芽较健壮,生长较快
2.0	0	4.2	玻璃化,有效芽少,生长慢
1.0	0.05	3.2	芽弱小,生长缓慢
1.0	0.10	3.5	芽较弱,生长缓慢
1.0	0.50	3.1	芽健壮,生长快
1.0	1.00	1.9	芽健壮,生长快

2.2.2 6-BA、NAA 不同浓度组合对增殖的影响 腋芽的增殖不只受 6-BA 和 NAA 的绝对值影响,还受二者的比值影响^[9],试验结果经方差分析表明,6-BA 与 NAA 的质量比对马大杂种相思增殖倍数的影响达到极显著水平,增殖倍数随着二者比值的增加呈先上升后下降的趋势, $m(6\text{-BA}):m(\text{NAA})$ 在 2:1 至 10:1 范围时,增殖倍数普遍较低,但芽的长势健壮,生长速度快. $m(6\text{-BA}):m(\text{NAA})$ 为 20:1 至 40:1 时,

腋芽处萌发出大量的丛生芽,但芽丛矮小,玻璃化现象严重,有效芽数目随比值的增加而减少,因此,在此质量比范围时,增殖倍数呈现下降趋势,且芽品质变差.而当 $m(6\text{-BA}):m(\text{NAA})$ 为 15:1 时(即 6-BA 为 $1.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、NAA 为 $0.10\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$),诱导的增殖芽一方面具有长势健壮的特点,又具有较高增殖倍数的优势,是试验筛选出较适宜的激素浓度比例.

表 4 6-BA 与 NAA 不同质量浓度组合对增殖的影响
Tab.4 Effects of different combinations of 6-BA and NAA on proliferation

处理号	$\rho(\text{激素})/(\text{mg}\cdot\text{L}^{-1})$		$m(6\text{-BA}):m(\text{NAA})$	增殖倍数 ¹⁾	芽长势
	6-BA	NAA			
1	2.0	0.05	40:1	$3.99\pm0.11\text{abAB}$	玻璃化,有效芽少
2	1.5	0.05	30:1	$3.53\pm0.07\text{cBC}$	芽丛生,生长慢
3	2.0	0.10	20:1	$4.34\pm0.28\text{aA}$	玻璃化,有效芽少
4	1.5	0.10	15:1	$3.90\pm0.09\text{bB}$	健壮,生长快
5	1.5	0.15	10:1	$3.62\pm0.11\text{bcBC}$	健壮,生长快
6	1.5	0.30	5:1	$3.51\pm0.08\text{cBC}$	有效芽多,生长健壮
7	1.5	0.50	3:1	$3.15\pm0.05\text{dC}$	有效芽多,生长健壮
8	1.0	0.50	2:1	$3.20\pm0.04\text{cdC}$	有效芽多,生长健壮

1)表中数据为 3 次重复的平均数±标准差;同列数据后,凡具有一个相同小写或大写英文字母者分别表示 0.05 或 0.01 水平差异不显著(LSD 法).

2.2.3 基本培养基、活性炭浓度、糖浓度单因子对增殖的影响 由表 5 可知,活性炭、蔗糖质量浓度对增殖的影响达极显著水平,而培养基类型对增殖的影响不显著.随着活性炭质量浓度的增加,增殖倍数明显下降,但芽生长情况越来越好,甚至有部分芽开始生根,因此,当发现增殖芽出现玻璃化现象时,可将芽转移至添加有较低质量浓度活性炭($0.04\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$)的培

养基中进行增殖培养,从而改善增殖芽质量;随着蔗糖质量浓度的增加,玻璃化现象也会得到缓解,有效芽数增多,芽的健壮程度也提升,当蔗糖质量浓度为 30 和 $40\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时显著优于蔗糖为 $20\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 时的增殖效果,不仅增殖倍数较高,芽长势也较好;试验发现,虽然培养基类型对增殖倍数影响不大,但改良 MS 上的芽叶片更绿,生长也更健壮.

表 5 不同添加剂对增殖的影响
Tab.5 Effects of different additives on proliferation

基本培养基	$\rho(\text{蔗糖})/(\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	$\rho(\text{活性炭})/(\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	增殖倍数 ¹⁾	芽长势
MS	30	0.04	$2.60\pm0.10\text{aA}$	叶片较绿,芽较高,健壮
	30	0.10	$1.82\pm0.07\text{bB}$	叶片较绿,芽较高,健壮
	30	0.50	$1.67\pm0.13\text{bB}$	芽高,健壮,部分芽生根
MS	20	0	$2.67\pm0.11\text{bB}$	芽丛生,弱小
	30	0	$3.25\pm0.12\text{aA}$	芽生长较快,较壮
	40	0	$3.40\pm0.17\text{aA}$	芽生长较快,较壮
MS	40	0	$3.95\pm0.13\text{aA}$	芽生长较快,较壮
1/2MS			$3.81\pm0.10\text{aA}$	芽较矮,叶绿
改良 MS			$3.97\pm0.08\text{aA}$	芽较高,有效芽多,生长快

1)表中数据为 3 次重复的平均数±标准差;相同基本培养基的同列数据后,凡具有一个相同小写或大写英文字母者分别表示 0.05 或 0.01 水平差异不显著(LSD 法).

综合以上试验结果,马大杂种相思比较适宜的增殖培养基为改良 MS + 6-BA $1.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ + NAA $0.1\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ + 蔗糖 $30\sim40\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$,培养 35 d 可获得 3.97 的有效增殖倍数,且芽体较健壮(图 1B).在工厂化生产中,多次继代需要添加适量的 Ac 来改善芽苗生长情况,减小玻璃化现象发生.

2.3 生根诱导

2.3.1 高质量浓度激素浸泡法(两步生根法) 将在含有高质量浓度 IBA 的 MS 培养基预培养 4、8 h 的芽接入无激素的 MS 培养基后,第 5 天即可见白色圆点冒出,第 10 天时调查结果见表 6. 两步生根法生

根效果普遍较好,不仅生根率高,平均生根数也较多.虽然不同质量浓度的 IBA 对生根率的影响达显著、极显著水平,但 IBA200 ~ 800 mg · L⁻¹ 4 个组诱导的生根效果总体差异不显著,芽长势也无明显区别;随着 IBA 质量浓度的升高,生根率呈先上升后下降趋势,而生根数逐渐增多,当 IBA 为 1 000 mg · L⁻¹时,基

部形成大量愈伤组织,根系过于发达,导致苗长势较差(表6).比较发现,4 和 8 h 的预培养时间对生根效果并无显著差别,但预培养 8 h 的芽生根数略多,总体的生根率也较高.当选择 IBA 600 mg · L⁻¹ 预培养 4 ~ 8 h 后再转接至 MS 中,生根率可达 100%,且苗较健壮,是较好的处理方法.

表 6 两步生根法结果¹⁾
Tab. 6 Results of the two-step rooting method

$t_{\text{预培养}}/\text{h}$	$\rho(\text{IBA})/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	生根率/%	平均生根数/条	苗长势
4	200	93.33 ± 6.67aA	3.38 ± 0.48	根长 2.0 ~ 3.0 cm,苗较健壮
	400	95.40 ± 4.00aA	5.16 ± 0.43	根长 1.5 ~ 2.0 cm,苗较健壮
	600	100.00 ± 0.00aA	3.99 ± 0.41	根长 2.5 cm,有部分节间变黑,苗较健壮
	800	97.78 ± 3.85aA	4.49 ± 0.18	根长 2.0 cm,有部分节间变黑,苗较健壮
	1 000	56.83 ± 10.00bB	7.04 ± 1.25	基部形成大量愈伤组织,苗长势差
8	200	97.78 ± 3.85aA	3.11 ± 0.77	根长 3.0 cm,有部分节间变黑,苗较健壮
	400	94.74 ± 4.71AB	4.77 ± 0.58	根长 2.5 cm,有部分节间变黑,苗较健壮
	600	100.00 ± 0.00aA	4.10 ± 0.24	根长 2.0 cm,有部分节间变黑,苗较健壮
	800	100.00 ± 0.00aA	4.14 ± 0.29	根长 2.0 cm,有部分节间变黑,苗较健壮
	1 000	71.11 ± 13.88bB	9.23 ± 2.12	基部形成大量愈伤组织,苗长势差

1)表中数据为3次重复的平均数±标准差;相同预培养时间的同列数据后,凡具有一个相同小写或大写英文字母者分别表示0.05或0.01水平差异不显著(LSD法).

2.3.2 低质量浓度激素诱导法 将2~3 cm长的增殖芽接入I型至VI型生根培养基中,4~5 d后基部出现白点,6~7 d开始生根,15 d根最长,可达6.5 cm.由表7可知,I型和V型和VI型这3种培养基的生根效果均极显著高于另3种培养基,而添加了0.1和0.5 mg · L⁻¹活性炭的II型和III型培养基虽然平均根长要远高于其他组,但生根率却比不添加活性炭的低

17.07%和40.50%;此外,蔗糖质量浓度为30 g · L⁻¹的生根效果(I)要优于10 g · L⁻¹(IV);1/2 MS(V)比MS(I)更利于不定根的诱导;IBA 1.5 mg · L⁻¹(VI)比IBA 1.0 mg · L⁻¹(V)诱导的根数要多,但根系太发达反而会抑制苗的生长;由此可见,不添加活性炭的V型培养基诱导马大杂种相思不定根效果最好,不仅生根率达99.4%,且根系较长,有须根,苗健壮.

表 7 不同培养基的生根效果¹⁾
Tab. 7 Effects of different media on rooting

培养基类型	基本培养基	$\rho(\text{IBA})/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	$\rho(\text{NAA})/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	$\rho(\text{活性炭})/(\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$	$\rho(\text{蔗糖})/(\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$	生根率/%	平均生根数/条	根苗长势
I	MS	1.0	0.5	0	30	88.17 ± 5.70aA	2.65 ± 0.07	苗健壮,根系较发达
II	MS	1.0	0.5	0.1	30	71.10 ± 5.04bB	1.90 ± 0.13	根长7 cm,根数少,苗健壮
III	MS	1.0	0.5	0.5	30	47.67 ± 5.12cC	1.25 ± 0.11	根长10 cm,根数少,苗健壮
IV	MS	1.0	0.5	0	10	72.73 ± 3.44bB	3.12 ± 0.19	苗长势稍差,根系发达
V	1/2 MS	1.0	0.5	0	30	99.43 ± 0.98aA	3.17 ± 0.35	苗健壮,有须根
VI	1/2 MS	1.5	0.5	0	30	89.97 ± 2.89aA	3.87 ± 0.15	苗较健壮,根系发达

1)表中数据为3次重复的平均数±标准差;同列数据后,凡具有一个相同小写或大写英文字母者分别表示0.05或0.01水平差异不显著(LSD法).

综上所述,马大杂种相思增殖苗生根可采用2种办法.方法1,用两步生根法,将增殖苗接入含IBA600 mg · L⁻¹的固体培养基上预培养4~8 h后接种到1/2MS基本培养基上,15 d即可全部生根.方法2,直接将较健壮的增殖苗接入1/2 MS + IBA 1.0 mg · L⁻¹ + NAA 0.5 mg · L⁻¹ + 蔗糖30 g · L⁻¹培养基上,第15天时生根率可达99.43%(图1C).从节约成本,缩减操作程序的角度出发,方法2更利于工

厂化生产.

2.4 驯化与移栽

生根培养10~15 d后,苗长至2~4 cm,根长达2~3 cm,在自然条件下炼苗5~10 d后,将苗根部的培养基洗净,移植于经高锰酸钾消毒过的5种基质的营养袋中,5种基质分别为:黄心土、黄心土:沙(体积比分别为3:1、2:1、1:1)、沙,盖膜保湿.1周后揭

开薄膜,1个月后调查其存活率分别为94.67%、94.00%、96.00%、96.00%、93.33%,均在90%以上(图1D),以黄心土:沙(体积比为2:1、1:1)生根率最高,在实际生产过程中,含沙量较多的营养杯在上山造林的运输过程中,容易松散,使得造林存活率低,因而,移栽基质应尽可能考虑黄心土。至此,马大杂种相思的组培快繁体系基本建立(图1)。

3 讨论与结论

3.1 影响外植体消毒的相关因子

外植体消毒成功与否,不仅与消毒剂的处理时间有关,也与外植体采集时间、外植体部位等因素有关,本试验发现半木质化枝条的中上部节段是最理想的外植体部位,春末夏初的晴朗天气采条可以降低污染。与赵建萍等^[10]、张玮等^[11]的研究结果一致。

3.2 影响增殖效果的相关因子

想要获得高增殖倍数和短增殖时间,必须选择合适的细胞分裂素和生长素质量浓度^[12]。本试验发现6-BA 1.5 mg·L⁻¹、NAA 0.1 mg·L⁻¹是最佳的适宜马大杂种相思增殖的激素质量浓度,不仅增殖倍数较高,芽体也较健壮。

较高的激素质量浓度易使芽玻璃化,且外源调节剂对植物作用的时效较长^[13],多次继代会使芽苗增殖缓慢、质量变差,可通过改变基本培养基类型、适当提高蔗糖质量浓度、适当降低激素质量浓度、添加低质量浓度的活性炭解决。

3.3 影响生根效果的相关因子

IBA与NAA组合使用可明显提高生根率,改善根的质量和苗的生长情况^[14],本研究也证明,用IBA 1.0 mg·L⁻¹+NAA 0.5 mg·L⁻¹可获得较好的生根效果。

Otroshy等^[15]认为合适质量浓度的活性炭可提供暗环境、吸附激素和其他有害物质,利于植株生长。本试验发现,活性炭的存在确实能促进苗的生长,但一定程度上抑制了马大杂种相思不定根的形成,导致生根率下降,具体机理还有待相关研究证明。

蔗糖是生根培养基的重要组成部分,对维持培养基的渗透压具有重要作用。本试验还发现降低蔗糖质量浓度对根的生长影响较大,10 g·L⁻¹的蔗糖质量浓度对根的生长不利,且苗生长缓慢,在生根培养基中添加30 g·L⁻¹的蔗糖生根效果更佳。

从节约生产成本、简化操作程序的角度来说,即使两步生根法可使马大杂种相思组培苗的生根率达到100%,却不宜采用,但对其他生根较困难的相思树种来说,是值得尝试的生根方法。

参考文献:

- [1] FAO. Seed sources establishment and tree improvement project, Sabah, Malaysia [C] // PEDLEY L. Variation in acacia mangium Willd. Rome: Food and Agriculture Organization, 1982: 41-42.
- [2] VOZZO J A. Tropical tree seed manual [M]. Washington D C: USDA Forest Service Agriculture Handbook 721, 2002: 899.
- [3] 蔡玲, 王以红, 吴幼媚, 等. 五种相思树组织培养研究 [J]. 广西林业科学, 2003, 32(1): 24-26.
- [4] 周丽华, 张华通, 刘颂颂, 等. 相思杂种: 莞屏1号离体快速繁殖的研究 [J]. 广东林业科技, 1996, 12(3): 26-29.
- [5] 熊建勇, 宗亦臣, 常金财, 等. 马大相思茎段的组织培养 [J]. 林业实用技术, 2011(9): 29-30.
- [6] 汪长水. 卷荚相思组培快繁技术研究 [J]. 福建林业科技, 2009, 36(3): 92-97.
- [7] 林来水. 黑木相思优良无性系离体培养与快速繁殖技术研究 [D]. 福州: 福建农林大学, 2008.
- [8] 谢寅峰, 张志敏, 尚旭岚, 等. 青钱柳茎段腋芽萌发和丛生芽增殖 [J]. 林业科学, 2011, 47(1): 50-55.
- [9] 赵建萍, 柏新富, 蒋小满, 等. 北高丛越桔芽器官离体培养与快繁体系的建立 [J]. 林业科学, 2007, 43(5): 111-115.
- [10] 张玮, 黄树燕, 谢锦忠, 等. 花吊丝竹组培快繁育苗技术研究 [J]. 林业科学研究, 2010, 23(6): 914-919.
- [11] 曹孜义, 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, 2002: 52-53.
- [12] 阳莉, 石大兴, 麦苗苗, 等. 蓝花楹组织培养与快速繁殖研究 [J]. 热带亚热带植物学报, 2012, 20(1): 26-32.
- [13] 唐凤鸾, 韦记青, 蒋运生, 等. 黄花蒿组培快繁与种质离体保存的研究 [J]. 热带亚热带植物学报, 2008, 16(5): 486-490.
- [14] OTROSHY M, MORADI K, NEKOEI K M. The effect of different cytokinins in propagation of *Capsicum annuum* by *in vitro* nodal cutting [J]. Trakia J Sci, 2011, 9(3): 21-30.

【责任编辑 柴 焰】