

金合欢组织培养和快速繁殖的研究

翟建中¹ 顾梅俏¹ 程荣昌² 张 燕² 刘小军²

(¹上海市花卉育种中心, 上海 201615; ²上海松江花桥现代农业公司, 上海 201601)

摘 要: 采用金合欢 (*Acacia dealbata*) 大树顶芽、幼苗茎尖、种子小苗上胚轴和幼叶作外植体进行组培和快繁研究。结果表明: 用 MS + 6-BA 6 mg/L + NAA 0.1 mg/L + NaH₂PO₄ 30 mg/L 可提高愈伤组织的出芽率, 有利于扩大繁殖系数, 而用 MS + 6-BA 2 mg/L + NAA 0.1 mg/L + NaH₂PO₄ 30 mg/L 可以增加发枝率。珍珠岩 + 泥炭 (1:1) 基质可促进小苗后期生长, 加速成苗。

关键词: 金合欢; 组织培养; 快速繁殖; 炼苗

中图分类号: S 68; Q 813 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2001) 02-0149-04

金合欢 (*Acacia dealbata*) 是澳大利亚优质观赏与经济树种, 俗称银荆, 属含羞草科金合欢属。它茎干挺拔, 枝桠开张, 小叶翠绿, 为二回羽状复叶, 四季常青, 花色金黄, 美丽而芳香, 在世界各地都有引种, 在法国南部作为切花植物培育^[1]。我国几年来在苏州、上海引种金合欢长势较好, 很有发展前途。目前金合欢繁殖主要依靠国外进口种子, 价格较贵。国外有人对柯阿金合欢 (*Acacia koa*) 进行过组培研究, 但是仅在幼苗茎尖组培取得成功^[2]。

作者对金合欢大树顶芽、幼苗茎尖、种子小苗上胚轴和幼叶进行诱导、增殖、生根与炼苗的研究, 以达到成苗速度快、成本低, 适于工厂化生产、快速繁殖的目的。

1 材料与方法

1.1 材料

同时取 4 种外植体供培养用: (1) 生长健壮约 5 年生大树上 2~3 cm 长枝条的茎尖; (2) 1 年生树顶芽; (3) 1 年生树幼叶; (4) 种子在培养皿内萌芽后取上胚轴。无菌材料的获得: 从野外采集来的外植体, 剥去下部较大的叶片, 自来水冲洗 30 min; 对于顶芽外植体置于 70% 酒精中 30 s, 取出后放入 0.1% 升汞溶液中消毒 5 min, 用无菌水洗 3 次, 在无菌条件下切取 0.8~1 cm 长的顶芽, 分别接种在诱导培养基上; 种子上胚轴和幼叶外植体置于 2% NaClO 中 10 min, 无菌水洗 3 次, 然后接种在诱导培养基上。

1.2 组织培养和炼苗试验

诱导愈伤组织培养基为 MS + 6-BA 4 mg/L + NAA 0.1 mg/L, 诱导芽与发枝的培养基以 MS 为基础, 附加不同浓度的激素和 NaH₂PO₄ 30 mg/L, 蔗糖 30 g/L, 琼脂 7 g/L, pH 5.8。培养温度为 (25 ± 1) °C, 光照 3 000 lx, 12 h/d。

幼苗种植基质用两种: (1) 蛭石 + 珍珠岩; (2) 泥炭 + 珍珠岩。比例均为 1:1。

收稿日期: 2000 - 11 - 07; 修回日期: 2001 - 02 - 20

2 结果与分析

2.1 愈伤组织和芽的诱导

金合欢大树顶芽茎尖接种在诱导培养基上 30 d 后，顶端抽出新芽，40 d 后新芽梢成为丛生状，而茎尖下部为墨绿色，暗无光泽。切取新芽梢转接在诱导培养基上产生愈伤组织，再由愈伤组织诱导获取更多的丛生芽。

幼苗茎尖、上胚轴、幼叶外植体培养 15 d 后，基部出现膨大，20 d 左右便可见愈伤组织在叶柄处形成，30 d 左右达最大，以后逐渐停止生长，其他外植体的愈伤组织在后期便出现芽的分化，具体情形如表 1 所示。

表 1 不同激素水平对愈伤组织的诱导与分化作用

Table 1 Effect of different hormones on the induction and differentiation of callus

外植体 Explants	组培阶段 Culture stages	激素 Hormone (mg/L)			出愈率 Callus induction rate (%)	分化率 Bud differentiation rate (%)	平均芽高 Mean height of twig (cm)
		6-BA	NAA	2,4-D			
大树茎尖 Tips from big tree	诱导 Initiating a culture	0.1	0.1	0	5	25.5	0.5
	增殖 Increasing propagulus	2	0.1	0		52.3	1.2
上胚轴 Epicotyls	诱导 Initiating a culture	4	0.1	0	90.5	48.2	0.7
	增殖 Increasing propagulus	1	0.1	0		90.5	1.5
幼苗茎尖 Tips from seedling	诱导 Initiating a culture	4	0.1	0	71.4	32.3	0.8
	增殖 Increasing propagulus	1	0.1	0		83.2	1.3
幼叶 Little leaves	诱导 Initiating a culture	4	0.1	0	42.7	0	0
	增殖 Increasing propagulus	1	0	0.1		0	0

愈伤组织在继代培养中，常常可见位于愈伤组织外层的部分呈白色疏松状（称为类型 1）；位于愈伤组织内层的部分呈淡绿色，结构紧密（称为类型 2）。将这两种类型的愈伤组织置于不同激素水平的培养基中，结果如表 2 所示。

表 2 不同激素水平对愈伤组织产生芽枝的影响

Table 2 Effect of hormone concentration on buds and shoots from callus

愈伤组织 Callus	6-BA (mg/L)	NAA (mg/L)	出芽数 No. of buds	芽/块 Buds/ callus	出枝数 No. of shoots	枝/块 Shoots/ callus	平均枝高 Mean height of shoot (cm)
类型 1 Type 1	6	0.1	0	0	0	0	0
	4	0.1	5	0.17	0	0	0
	2	0.1	35	1.17	12	0.4	0.5
	0.5	0.1	80	2.7	5	0.17	0.6
类型 2 Type 2	6	0.1	325	10.8	0	0	0
	4	0.1	246	8.2	35	1.17	1.1
	2	0.1	187	6.2	127	4.2	1.6
	0.5	0.1	123	4.1	52	1.7	2.2

注：每个类型接种 30 个愈伤组织，培养基中均附加 NaH₂PO₄ 30 mg/L。

类型 1 为愈伤组织外层白色疏松的部分，类型 2 为愈伤组织内层绿色致密的部分。

Note: 30 calli are inoculated to each type. NaH₂PO₄ 30 mg/L are added in each medium.

Type 1: Parenchyma cells are in outer layer of callus, white in colour and loose in structure.

Type 2: Parenchyma cells are in inner layer of callus, greenish in colour and compact in structure.

愈伤组织类型 1 诱导出芽率和抽枝率很低, 不可作为继代繁殖的材料。类型 2 中, 以 MS + 6-BA 6 mg/L + NAA 0.1 mg/L + NaH₂PO₄ 30 mg/L 的抽枝率最高。此外, 芽枝的诱导与激素水平有密切关系^[3], 6-BA 浓度越高, 出芽率越高; 而 6-BA 浓度越低, 枝条越高。

2.2 生根诱导与炼苗

切取瓶内 1.5 ~ 2 cm 高的金合欢枝条, 置于含不同浓度生长素的培养基上诱导生根, 结果如表 3 所示, 生根培养基以 1/2 MS + NAA 0.5 mg/L + IBA 0.3 mg/L 为好, 生根率可达 96.3 %。

炼苗时间选择在 4 月中旬至 5 月中旬, 这时环境的温湿度适宜于小苗生长。试验所用的两种混合基质对炼苗成活率没有明显差异, 但对小苗后期生长速率有影响 (如表 4 所示), 以珍珠岩 + 泥炭基质更能促进小苗后期生长, 加速成苗。

表 3 不同生长素组合对金合欢生根的作用

Table 3 Effect of combination of auxins on plantlets rooting

培养基 Medium	NAA (mg /L)	IBA (mg /L)	接种数 No. of inoculation	平均根数 Mean No. of roots per shoot	生根率 Rooting rate (%)
1/2 MS	0	0	80	0.1	13.7
1/2 MS	0.5	0	80	2.3	68.9
1/2 MS	0.5	0.3	80	3.5	96.3
1/2 MS	0.5	0.1	80	2.5	85.8

表 4 不同基质对金合欢小苗炼苗的影响

Table 4 Effect of different culture materials on plantlets acclimatization

基质组成 Culture materials	苗数 No. of plantlets	成活率 Survival rate (%)	平均苗高* Mean height of plantlet (cm)	生长势 Growing viability
珍珠岩 + 蛭石	250	85.6	4.5	++
Perlite + vermiculite				
珍珠岩 + 泥炭	250	82.3	5.2	+++
Perlite + peat				

* 指 40 d 后的苗高。 * The height of seedlings are investigated on the 40th day after acclimatization.

3 讨论与结论

金合欢属于木本植物, 其组培程序一般比草本植物困难^[4]。从试验结果看, 不同来源的外植体, 诱导产生愈伤组织所需的时间与难度不同。种子小苗的上胚轴、幼苗茎尖、幼叶都容易产生愈伤组织。来自大树上的茎尖材料, 由于所带真菌、细菌较多^[5], 得到的无菌材料少。在生产中可将其初代培养中所获得的丛生芽转接到诱导愈伤组织的培养基上, 再经愈伤组织诱导产生丛生芽, 达到快速增殖的目的。在形态建成中, 诱导愈伤组织产生芽、枝的过程很重要, 这个过程主要由激素水平控制。6-BA 浓度高, 出芽率高, 6-BA 浓度越低, 枝条越高。幼叶的愈伤组织不易分化出芽, 可能与幼叶本身的营养水平不足有关。大树茎尖组培的成功对金合欢的繁育具有重要意义, 今后我们可在引种试验林中选择长势好、抗逆性强的个体作为无性系, 利用组培方法扩繁, 有利于优良品种的推广。

在金合欢的继代培养中, 需区分两种不同类型的愈伤组织。在操作中用手术刀切去白色疏松的愈伤组织, 保留结构紧密、颜色嫩绿的愈伤组织用于培养。在工厂化育苗中, 建议用 MS + 6-BA 6 mg/L + NAA 0.1 mg/L + NaH₂PO₄ 30 mg/L 培养基增加繁殖系数; 用 MS + 6-BA 2 mg/L + NAA 0.1 mg/L + NaH₂PO₄ 30 mg/L 培养基增加其发枝率; 用 1/2 MS + NAA 0.5 mg/L + IBA 0.3 mg/L 培养基促进其生根; 在炼苗中选择珍珠岩 + 泥炭 (1:1) 配方加速其后期生长, 以使尽早成苗。

参考文献:

- 1 Rogez P, Martyn R. Indoor and greenhouse plants. New York: Random House, 1997. 249 ~ 253
- 2 Bajaj Y P S. Biotechnology in agriculture and forestry. Berlin: Heidelberg, 1986. 375 ~ 383
- 3 John H D. Tissue culture of trees. Great Britain: The AVI publishing company inc, 1983. 22 ~ 28
- 4 沈惠娟. 木本植物组织培养技术. 北京: 中国农业科技出版社, 1992. 28 ~ 33
- 5 Singh H P. In vitro bud break in axillary node segments of mature trees of *Acacia nilotica*. Indian J. Plant Physiol., 1993, 36 (1): 21 ~ 24

Tissue Culture and Rapid Propagation of *Acacia dealbata*

Zhai Jianzhong¹, Gu Meiqiao¹, Chen Rongchang², Zhang Yan², and Liu Xiaojun²

(¹ Shanghai Flower Breeding Center, Shanghai 201615; ² Shanghai Songjiang Rose Bridge Modern Agriculture Company Limited, Shanghai 201601)

Abstract: *Acacia dealbata* is a famous kind of economical and ornamental trees in Australia. In this test, shoot tips taken from big trees and seedlings, little leaves from young plants, epicotyls from seeds were collected as explants that were studied on tissue culture and rapid propagation. The results showed that all four kinds of explants have been induced callus formation. Buds and shoots can be induced on callus except little leaf's callus in morphogenesis. The medium MS + 6-BA 6 mg/L + NAA 0.1 mg/L + NaH₂PO₄ 30 mg/L may increase sprouting bud rate from callus. However, the medium MS + 6-BA 2 mg/L + NAA 0.1 mg/L + NaH₂PO₄ 30 mg/L may increase shoot growing rate. Plantlets from test tubes grew better on the growth medium perlite + peat (1:1) than on other components in acclimatization stage.

Key words: *Acacia dealbata*; Tissue culture; Rapid propagation; Acclimatization

征 文

“园林树木苗木规划、繁育研讨会”征文通知

针对当前我国城市园林绿化中树木配置中存在的一些问题,拟由中国园艺学会观赏园艺专业委员会主办,山东东营大王镇农贸集团公司承办,于2001年8月下旬在山东东营举行此次研讨会,同时将正式出版论文集。论文征集的范围:木本观赏植物苗圃的经营管理和建设、树木苗木规划、快速繁殖技术、大树移栽技术、木本花卉在城市绿化中的应用等。撰写的格式请参考《园艺学报》征稿简则,字数最好控制在3000~5000字。务必采用Word 7.0以上版本打印,一式两份,并同时报送软盘,或通过电子邮件投寄。

投稿地址:北京林业大学 123 信箱 邮政编码:100083 收稿人:吕英民 联系电话:010-62338312
电子信箱:chenjymc@public.bta.net.cn 截稿日期:2001年5月31日

中国园艺学会观赏园艺专业委员会

2001年4月3日