

黑木相思根蘖促萌及组培繁育技术研究*

苏锦强¹ 张方秋²

(1. 高要市林业局 广东肇庆 526100; 2. 广东省林业科学研究院)

摘要 文章以根蘖促萌和组织培养相结合的方法研究黑木相思优良无性系快繁技术,4个参试的无性系都获得了根蘖萌条,最高可达12条/根。采集10~20 cm的萌条作外植体进行组培快繁时,灭菌成功率较高,最高可达80.9%。试验结果表明以根蘖萌条为外植体诱导的组培苗生根性能好,在黑木相思组培增殖中有效防止苗木发黄和促进不定芽叶片舒展是两个关键因子,通过降低培养基的含糖量是一种有效的途径,由此经3次继代培养无菌苗数量平均达23株/瓶。

关键词 黑木相思 根蘖 组培

中图分类号: S723.1⁺32 **文献标识码:** A **文章编号:** 1006-4427(2008)03-0042-04

Study on Propagation Technology about Root Sprout and Tissue Culture of *Acacia melanoxylon*

Su Jinqiang¹ Zhang Fangqiu²

(1. Forestry Bureau of Gaoyao, Zhaoqing, 526100; 2. Guangdong Forest Research Institute)

Abstract A method combined the root sprout and tissue culture were applied in the rapid propagation of clones of *Acacia melanoxylon*. Four tested clones were all cultured the root sprout, up to 12 sprouts. High efficiency of sterilization, up to 80.9 percent, was found when 10~20 cm root sprout were propagated as explant. The results showed that good performance with rhizogenesis as explants were root sprouts. Two key factors, the prevention of yellow leaves and the promotion of adventitious buds stretch, must be noticed in the proliferation. Decreasing the sugar content of substrate was an effective approach. In this way, the number of asepsis sprouts were average 23 each bottle with the three step-gap culture.

Key words *Acacia melanoxylon*, root sprout, tissue culture

黑木相思 (*Acacia melanoxylon*) 是我国引种的速生造林树种^[1], 具有速生、耐瘠薄、耐寒等特点, 树干高大通直, 心材比例大, 木材材色美丽、耐腐, 具有很高的利用价值。黑木相思生长适应性较强, 在酸性和中性的沙土、红黄壤土、灰壤土及裸露山地均可生长, 又是固氮树种, 能改良土壤和提高地力, 一般立地条件下造林6~8年便可主伐。黑木相思与其他重要的相思类树种一样, 有希望发展成为我国南方短周期工业原料林的主栽树种之一, 同时在水土保持和丰富林木种质资源方面发挥重要的作用^[2]。为满足造林生产的需要, 迄今国内已对马占 (*Acacia mangium*)、厚荚 (*A. crassicarpa*)、大叶 (*A. auriculiformis*)、卷荚 (*A. cincinnata*)、台湾 (*A. confusa*) 和灰木 (*A. implexa*) 等相思树种开展了许多组培育苗技术研究^[2-7], 苏秀城曾以黑木相思优树嫩枝为外植体进行组培育苗研究^[8]。本研究中, 我们先采用根蘖促萌的方法得到萌条, 再以萌条为外植体进行组培快繁试验, 获得大量的无性系植株, 类似研究在国内未见报道。

* 基金项目: 国家“十一五”科技支撑计划“高产优质项目速丰材新品种选育”(2006BAD01A15)。

1 材料和方法

1.1 试验材料

从广西、福建和广东黑木相思种源试验林中选择优良单株,挖取部分侧根,进行根蘖促萌培育。当萌条长至高 10~20 cm 时,剪取萌条进行组培。共选择 4 个无性系参加试验,编号分别是:M4、M7、M33 和 M35。

1.2 试验方法

1.2.1 根蘖促萌试验 以泥炭土作基质,剪取长 20 cm 的根条,根据主根粗细(直径 1 cm 为界)进行分级栽培,以泥炭土全部覆盖根系为度,统一浇水管理,使苗床保持一定的潮湿度,以手捏不出水为准。苗床太干,根条容易丧失活力,太湿则容易烂根。每天观察苗床动态,以首次观察到萌条破土作为该试验号的萌发时间,同时只统计高度达到 2 mm 以上的萌条数量。试验中记录各无性系及根级的萌条发生时间和萌条数量。

1.2.2 外植体消毒试验 苗床促萌后,对萌条实施精细管理,采集萌条前 2 周内对芽条喷洒 2 次 2 g/L 的多菌灵液。分别剪取 4 个无性系长 10~20 cm 的萌条,分顶端幼嫩枝段(含 2~3 个腋芽)和中下部较老枝段(3~5 个腋芽)两种类型进行外植体消毒。参照前人对相思外植体消毒的经验^[9],对萌条顶端幼嫩部分采用次氯酸钠消毒 3 min,接着用 0.1% 升汞消毒 5 min 的方法;而对萌条中下部木质化程度较高的部分,则采用次氯酸钠消毒 5 min,接着用 0.1% 升汞消毒 7 min 的方法。外植体消毒后均用无菌蒸馏水冲洗 4~5 次。由于不同无性系能够提供的萌条数量不同,因此每处理的外植体接种数目也不同,为 10~50 个。接种 1 个月统计污染率,2 个月统计各处理的腋芽分化率。

1.2.3 增殖培养 以繁殖芽数量较多的 M7 无性系参试,主要观察培养基大量元素和蔗糖用量对不定芽增殖的影响。试验设计以 MS+6BA 0.5 mg/L+IBA 0.2 mg/L+蔗糖 30 g/L 为基本培养基,在基本培养基组分中硝酸铵(NH₄NO₃)和硝酸钾(KNO₃)的用量各为原剂量的 2/3,简称 ML 培养基;在基本培养基上糖的用量为原量的 2/3,简称 MT 培养基。连续继代培养 3 个周期之后分析月增殖率和有效芽的数量。

1.2.4 生根培养 把各无性系培养材料中高度超过 15 mm、叶片已充分伸长的增殖芽切下,接入生根培养基中,每个无性系接种 50 瓶,每瓶 15 株,一个月后统计生根率。

2 结果和分析

2.1 不同无性系及根系粗细在根蘖启动时间和萌条数量方面的差异

根条栽埋 45 d 后苗床表面陆续可见萌条萌发,具体见表 1。从表 1 可见,不同无性系之间根蘖启动时间有差异,相同根级(<1 cm)根蘖时间从 52 d 到 63 d 不等,前后相差 11 d,M4 无性系需要较长时间才能萌发。同一无性系中,粗壮的根(>1 cm)比细小的根早发根蘖,表中 M7 无性系粗根比细根提早 12 d。从萌条数量分析,根的粗细是影响萌条数量的关键因子,M7、M35 两个无性系粗根萌条数是细根的 2.4~3.0 倍,是 M4 无性系细根的 9~12 倍。黑木相思根萌蘖能力(根蘖启动时间和萌条数量)随无性系和根粗细的不同而变化,其原因一方面是萌蘖能力受基因型控制,另一方面与单株所处的立地和长势有关,单株所处的立地条件好,长势旺盛,根系储存营养物质丰富,相对的萌蘖能力就较强。

表 1 4 个无性系不同根条的萌条时间及萌条数量对比

无性系编号	根条直径(cm)	根蘖时间(d)	平均每根的萌条数(条)
M4	<1	63	1
M33	<1	52	3
M7A	>1	45	12
M7B	<1	57	5
M35A	>1	51	9
M35B	<1	55	3

2.2 不同无性系萌条及木质化程度对消毒成功率的影响

由表 2 可见:外植体消毒成功率和腋芽分化率在不同无性系之间差异不大,只与萌条的木质化程度有关。取自嫩枝部分的外植体消毒成功率普遍较低,仅 15%~20%,而取自中下部木质化程度较高的外植体

切段的消毒成功率明显高于嫩枝的,特别是 M7 和 M33 两个无性系。尽管嫩枝外植体的消毒成功率普遍较低,但其腋芽分化率却明显高于木质化程度较高的外植体的,这种现象与其他相思树种腋芽培养的分化规律极其相似^[9]。由于 M7 和 M33 两个无性系消毒成功率高达 72% 和 80.9%,而腋芽分化率虽低于嫩枝的但都能够稳定在 50% 的水平,因此我们认为,黑木相思萌条除了顶端很幼嫩的部分不适宜作外植体外,其余长 10~20 cm 的所有枝段部分都适宜取作组培外植体;促萌后对萌条实施精细管理,并在采集萌条前 2 周内对芽条喷洒多菌灵,能促使外植体灭菌,尤其是对木质化程度较高的枝段进行灭菌操作时能取得较好的结果。

表 2 4 个无性系不同枝段外植体的消毒、培养结果

外植体类型	无性系编号	接种芽数(个)	消毒成功率(%)	腋芽分化数(个)	腋芽分化率(%)
嫩	M4	10	20.0	2	100
枝	M7	33	15.2	4	80.0
节	M33	15	20.0	2	66.7
段	M35	17	17.6	3	100
老	M4	15	60.0	5	55.6
枝	M7	50	72.0	21	58.3
节	M33	21	80.9	11	64.7
段	M35	25	64.0	9	56.2

2.3 大量元素和糖用量对黑木相思增殖的影响

外植体消毒成功后进入增殖培养时启动速度较快,15 d 后陆续可见腋芽萌发,且全部形成丛芽。但当丛芽进一步增殖时,出现愈伤组织过度生长、苗木发黄、落叶等不良生长表现。为了克服上述现象,我们开展大量元素和糖浓度试验(表 3)。结果表明:降低培养基大量元素 NH_4NO_3 和 KNO_3 的用量虽可减少愈伤组织分化,但会导致苗木发黄和落叶加重,苗木生长基本停止。对比 MS 和 MT 培养基的培养结果,发现降低蔗糖的添加量可有效改善增殖苗的生长状况,枝芽叶片舒展,有效苗数量明显增多,并能相对地维持 2 倍以上的月增殖率。因此,调整黑木相思增殖培养基组分,适当降低糖的用量是一个有效的技术措施。但如何使有效苗的增殖率达到更高的水平,还需要进一步开展研究。

表 3 大量元素和糖用量对黑木相思增殖的影响

培养基	1 次继代增殖率	2 次继代增殖率	3 次继代增殖率	3 次继代的有效苗数(株/瓶)
MS	2.33	2.17	2.67	14
MT	1.98	2.24	2.37	23
ML	1.45	1.10	1.15	8

注:培养基的激素用量均为:6BA 0.5 mg/L + IBA 0.2 mg/L。

2.4 不同无性系再生植株生根试验

以根蘖萌条为外植体获得的组培苗,具有很好的生根性能,图 1 结果直观显示:各无性系生根率都在 80% 以上,无性系间差异不大,这也反映了根蘖萌条的幼态性优势。从试验观察中发现苗木生根与否主要取决于增殖苗的质量,未能形成不定根的枝芽大多出现叶器官发育不良,植株颜色偏黄,而已具有 2 对以上青绿叶片的无菌苗很容易诱导生根,且根系发达,每株的根数量达 3~5 条。

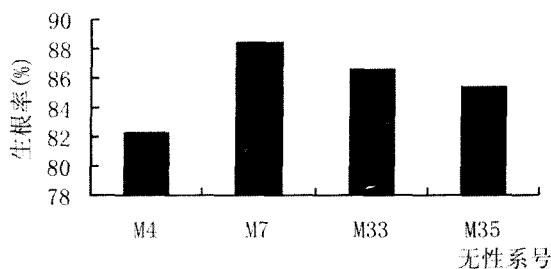


图 1 不同无性系生根率

3 结论

利用根蘖促萌获得适宜的外植体,进而通过离体快繁技术实现规模化育苗生产,这是目前黑木相思比较理想而快捷的无性繁殖方法。这种方法不仅能够保证外植体具有良好的幼态性,保持母株的优良特性,还能够有效克服组培快繁时不定芽增殖和生根的困难。用于根蘖促萌的的根条以粗壮为好,根条直径最好大于1 cm,根长20 cm。萌条生长至10~20 cm时即可采集外植体进行组培快繁。组培快繁过程中的技术难点在于增殖培养,降低培养基中糖的用量可有效提高苗的质量和数量。不同无性系再生植株的生根能力差异不大。

参考文献

- [1] 潘志刚,游应天. 中国主要外来树种引种栽培[M]. 北京:科学技术出版社,1994:156-158.
- [2] 陆道调,吴保国,王希群,等. 相思树种研究发展综述[J]. 福建林学院学报,2004,24(1):92-96.
- [3] 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.
- [4] 张宏伟,黄学林,傅家瑞,等. 大叶相思、马占相思腋芽培养和植株再生[J]. 热带亚热带植物学报,1995,3(3):62-68.
- [5] 周丽,周志坚,翟应昌,等. 卷荚相思组织培养育苗技术的研究[J]. 广东林业科技,1996,12(1):40-43.
- [6] 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,2004,26(3):291-293.
- [7] 王金祥,万小荣,李玲,等. 台湾相思的组织培养[J]. 华南师范大学学报:自然科学版,2001(3):45-84.
- [8] 苏秀城. 黑木相思组织培养的初步研究[J]. 福建林业科技,1999,26(4):78-81.
- [9] 裘珍飞,曾炳山,刘英. 马占相思优树组培早期增殖速率研究[J]. 林业科学研究,2002,15(1):61-65.