

文章编号: 100F-1498(2002)01-0061-05

马占相思优树组培早期增殖速率研究

裘珍飞, 曾炳山, 刘英

(中国林业科学研究院热带林业研究所, 广东广州 510520)

摘要: 对 30 个马占相思优树无性系进行组培增殖、生根技术研究, 观察 1-2 a 月增殖率、生根率指标, 揭示不同无性系早期增殖速率的差异, 研究表明 30 个无性系可分为快、中、慢 3 种增殖类型, 快增殖类型无性系经过 9 代(13-15 个月)培养达到较高增殖率(2.18 倍·月⁻¹), 具备较好的生根性能(91.0%), 中、慢增殖类型无性系需 12-15 代(18-22 个月)培养才达到较高增殖率、生根率。

关键词: 马占相思; 无性系; 组培; 增殖

中图分类号: S723.1⁺32

文献标识码: A

马占相思(*Acacia mangium* Willd.) 速生、高效、优质, 集经济、生态、社会效益于一身, 引种后在我国华南地区得到了迅速发展, 成为重要的山地造林树种。据不完全统计, 近几年来华南地区营造马占相思林达 1.4 万 $\text{hm}^2 \cdot \text{a}^{-1}$ 。相思类树种的组织培养始于 70 年代, 其方法多数采用种子或种子幼苗为外植体, 由于成年优树枝条污染严重, 成功较少^[1]。相思组培存在增殖率高, 伸长苗少, 诱导生根苗更少的问题^[2]。利用中国林业科学研究院热带林业研究所“八五”、“九五”相思育种科研成果, 研究马占相思优树无性系组培增殖技术, 对优良无性系的迅速扩繁, 加速育种科研成果转化、解决良种短缺具有重要意义。

1 材料和方法

1.1 外植体选择

外植体均采用成年优树嫁接 1 代萌条, 将当年生萌枝去叶, 从顶芽到以下每一个腋芽依次分为 1、2、3、4、5 节段, 对应地采用消毒预备试验获得的 10% 次氯酸钠 + 0.1% 升汞最佳时间进行消毒, 每节段接种 30 个重复样品, 1 个月后统计污染率, 2 个月后统计各节段的腋芽分化率。

1.2 增殖诱导培养

选择预备试验^[3,4]中得到的较合适培养基(改良 MS+ 6BA 0.5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 对消毒成功的 30 个无性系进行相同条件下的增殖培养, 观察各无性系外植体接种后 12 个月的诱导、增殖情况, 记录启动培养时间、月增殖率及继代次数。启动培养时间指从外植体接种到腋芽分株增殖所需的时间; 月增殖率指转接后的芽苗数与转接前芽苗数之比, 每 30 d 转接 1 次即称 1 代。

1.3 继代与增殖率试验

选择各增殖类型的代表性无性系(每类型 4 个), 每无性系 10 次重复, 每重复 20 个外植体

收稿日期: 2000-11-17

基金项目: “九五”国家攻关专题(9601F05)“相思纸浆用材树良种选育和培育技术研究”的部分研究内容

作者简介: 裘珍飞(1966), 女, 浙江嵊州人, 实验师。

萌芽,连续增殖培养15代,每隔3代统计1次增殖率,共统计5次增殖率。

1.4 继代与生根率试验

采用完全随机区组设计,对快、中、慢各增殖类型4个无性系进行10次重复,每重复接种5株无根苗生根试验,分析增殖3、6、9、12、15代无根苗生根率。生根培养基为预备试验优化结果培养基:1/2MS+IBA 4.0 mg·L⁻¹培养1周后接入MS无激素培养基。

1.5 数据统计与分析

采用聚类法^[5]划分无性系增殖类型,聚类分析时先将启动时间和月增殖率进行数据标准化变换,按平均距离法进行聚类。方差分析时生根百分率采用反正弦转换,具体计算分析由SAS软件执行。

2 结果与讨论

2.1 外植体部位对腋芽分化率的影响

马占相思枝条外植体消毒较难把握,叶柄由于多皱折,是主要污染源,接种后一星期又容易脱落,所以消毒前去掉叶柄能大大提高成功率,不会影响腋芽分化。枝条老嫩不同,需要消毒时间有很大差异(表1)。消毒时间不足,污染增多,消毒成功率下降;消毒时间过长,外植体死亡增大,消毒成功率也下降。表1列出各节段采用最佳消毒时间消毒后获取的最优消毒成功率,从中可以看到,各节段采用对应的消毒时间后可获得50%左右的消毒成功率,但其对应的腋芽分化率却从顶芽依次向下下降(70.0%~25.0%)。所以马克相思组培外植体选择时应以萌芽枝顶芽及第2节段好,用较短的消毒时间可获得较高的消毒成功率和腋芽分化率。

表1 枝条不同节段的腋芽分化率

| 枝条节段 | 消毒时间 ¹⁾ /s | 接种芽数/个 | 消毒成功率/% | 腋芽分化数/个 | 腋芽分化率/% |
|------|-----------------------|--------|---------|---------|---------|
| 1 | 5+ 5 | 30 | 66.7 | 14 | 70.0 |
| 2 | 7+ 7 | 30 | 53.3 | 9 | 56.2 |
| 3 | 10+ 10 | 30 | 46.7 | 6 | 42.8 |
| 4 | 15+ 15 | 30 | 56.7 | 5 | 29.4 |
| 5 | 15+ 20 | 30 | 66.7 | 5 | 25.0 |

注:1)“+”号前的数值表示先用10%次氯酸钠消毒的时间,“+”号后的数值表示接着用0.1%升汞消毒的时间。

2.2 无性系增殖速度

30个马占相思优树无性系诱导、增殖培养情况表明,在相同条件下,外植体接种后1 a,不同无性系启动培养时间和增殖率有较大差异(表2),以启动培养时间和增殖率为参数进行聚类分析表明(图1):30个无性系在平均距离为0.6处可明显分为4类,第1、2类(1~9号)无性系具有启动时间短、增殖能力强的相同特点,可称为快增殖类型无性系(L97~L72),启动培养时间只需90~145 d,第12月增殖率达1.55倍以上;第3类(10~24号)为中增殖类型无性系(L46~L66),启动培养时间为150~200 d,第12月增殖率为1.43~1.14倍;第4类(25~30号)为慢增殖类型无性系(L104~L139),启动时间超过200 d,第12月增殖率小于1.1倍。从观察中也可明显地看出:快增殖类型无性系腋芽分株后大量萌生新芽,且新芽生长迅速,继代转接时平均芽高超过1.5 cm。慢增殖类型无性系腋芽萌芽后6~7个月才开始增殖,且新芽生长慢,增殖少。应用于实际生产上,快增殖类型无性系培养6个月可实现产苗,中增殖类型无

性系需 12 个月, 而慢增殖类型无性系需更长时间才能产苗。

表 2 30 个无性系启动时间与第 12 个月增殖率

| 序号 | 无性系编号 | 启动培养时间/d | 月增殖率/倍 | 序号 | 无性系编号 | 启动培养时间/d | 月增殖率/倍 |
|----|-------|----------|--------|----|-------|----------|--------|
| 1 | L97 | 90 | 2.17 | 16 | Z13 | 180 | 1.18 |
| 2 | L18 | 105 | 2.28 | 17 | L53 | 190 | 1.18 |
| 3 | L21 | 110 | 2.13 | 18 | L22 | 165 | 1.16 |
| 4 | L20 | 105 | 1.79 | 19 | Z3 | 175 | 1.15 |
| 5 | L166 | 115 | 1.55 | 20 | L83 | 185 | 1.15 |
| 6 | L74 | 120 | 1.55 | 21 | L9 | 150 | 1.14 |
| 7 | L139 | 120 | 2.00 | 22 | L45 | 180 | 1.14 |
| 8 | L14 | 130 | 1.90 | 23 | L131 | 195 | 1.14 |
| 9 | L72 | 145 | 1.76 | 24 | L66 | 200 | 1.14 |
| 10 | L46 | 150 | 1.43 | 25 | L104 | 210 | 1.05 |
| 11 | L77 | 165 | 1.43 | 26 | L162 | 218 | 1.05 |
| 12 | L188 | 170 | 1.44 | 27 | Z8 | 220 | 1.05 |
| 13 | L78 | 185 | 1.42 | 28 | L102 | 220 | 1.05 |
| 14 | L103 | 180 | 1.23 | 29 | L30 | 225 | 1.04 |
| 15 | L7 | 145 | 1.20 | 30 | L39 | 230 | 1.04 |

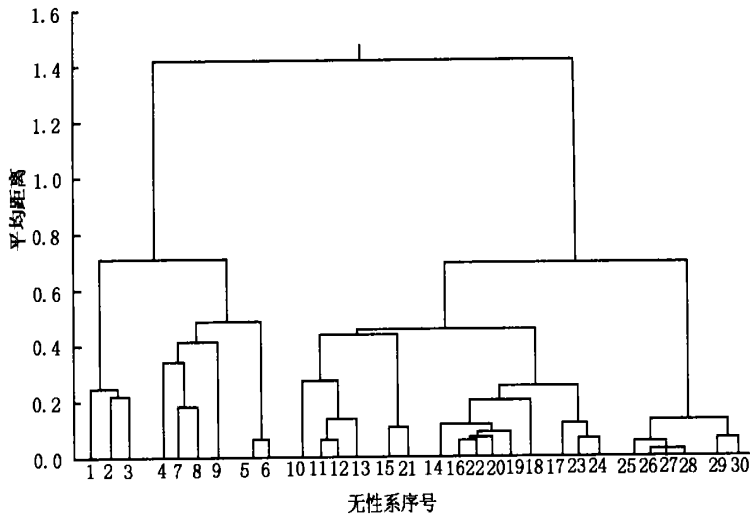


图 1 相思无性系增殖类型聚类分析图

2.3 继代次数对月增殖率的影响

选择快、中、慢增殖类型各 4 个代表无性系观察继代和月增殖率情况, 月增殖率取 4 个代表无性系的平均值。结果表明: 随着继代增加, 快、中、慢增殖类型无性系月增殖率呈不同速率增加(图 2)。快增殖类型无性系启动培养后第 3 代增殖率达 1.78 倍, 第 6 代达 1.98 倍, 到 9 代后趋于稳定; 中增殖类型无性系月增殖率呈逐渐上升趋势, 3—15 代的月增殖率分别为 1.09、1.35、1.58、1.80、1.87, 其中 3—12 代月增殖率递升幅度较大(大于 0.22), 到 12—15 代增幅仅为 0.7, 呈较稳定增值; 慢增殖类型无性系第 3—12 代月增殖率上升缓慢, 分别为 1.04、1.15、1.33、1.43, 到第 15 代后出现较大增长, 增加到 1.78 倍·月⁻¹。从培养时间来看, 快增殖类型无

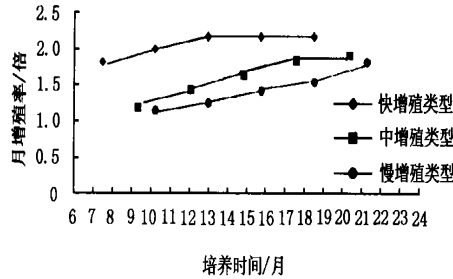


图 2 继代与月增殖率关系图

性系接种后培养 13 个月到达较大增殖率水平($2.18 \text{ 倍} \cdot \text{月}^{-1}$), 中、慢增殖类型无性系需培养 18—22 个月才达到一定增殖率($1.8 \sim 1.78 \text{ 倍} \cdot \text{月}^{-1}$)。

2.4 不同继代苗生根能力的变化

马占相思组培苗生根较为困难, 采用常规一次性生根培养很难达到理想的生根率, 经过众多预备试验, 筛选出 $1/2\text{MS} + \text{IBA } 4 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 培养基上培养一星期后转入 MS 无激素培养基培养, 生根率较高, 且生根后高生长迅速, 30 d 平均苗高可达 4.5 cm。快、中、慢增殖类型无性系 3—15 代生根率双因子方差分析表明(表 3), 不同增殖类型间、不同代数间具极显著差异, 代数与增殖类型间交互作用也呈显著差异, 进一步的邓肯氏分析表明(表 4), 增殖类型不同生根难易不同, 增殖较快的无性系, 表现出容易生根的特性, 增殖较慢的无性系生根较困难; 随着增殖代数增加, 生根率逐渐提高, 实现生根难到易的转变。快增殖类型无性系培养第 9 代后(13—15 个月)表现出易生根的特性, 生根率最高达 91.0% 以上; 中、慢增殖类型无性系培养 12—15 代后(18—22 个月)达到 88% 的生根率。

表 3 不同增殖类型 3—15 代苗生根率方差分析

| 变异来源 | 自由度 | 平方和 | 均方 | F 值 | 显著性水平 |
|---------|-----|---------|---------|----------|---------|
| 重复间 | 3 | 0.006 9 | 0.002 3 | 0.71 | 0.554 1 |
| 增殖类型间 | 2 | 3.580 7 | 1.790 4 | 546.11** | 0.000 1 |
| 代数间 | 4 | 5.206 2 | 1.301 6 | 397.01** | 0.000 1 |
| 类型 × 代数 | 8 | 1.072 1 | 0.134 0 | 40.88** | 0.000 1 |
| 机误 | 42 | 0.137 7 | 0.003 3 | | |

表 4 邓肯氏多重比较

| 增殖类型 | 生根率均值/ % | 差异显著性 | 增殖代数 | 生根率均值/ % | 差异显著性 |
|------|----------|-------|------|----------|-------|
| 快 | 85.1 | I | 3 | 29.1 | I |
| 中 | 64.2 | I | 6 | 47.3 | I |
| 慢 | 39.3 | I | 9 | 67.0 | I |
| | | | 12 | 81.3 | I |
| | | | 15 | 89.9 | I |

注: $\alpha = 0.05$ 。

3 结论

(1) 马占相思外植体采用顶芽较嫩节段配以较少消毒时间可获得最高的腋芽萌发率。

(2) 马占相思不同无性系间增殖速度存在较大差异, 根据启动培养时间及月增殖率不同可分为快、中、慢增殖类型无性系。快增殖类型无性系启动培养时间只需 3—5 个月, 1 a 后月增殖率可达 1.55 倍以上, 中增殖类型无性系启动培养时间为 5—7 个月, 1 a 后月增殖率最高为 1.43 倍, 慢增殖型无性系启动培养时间需 7 个月以上, 1 a 后月增殖率不足 1.1 倍。

(3) 随着继代的增加(3—15 代), 各增殖类型无性系月增殖率、生根率呈不同速率增加, 快增殖类型无性系经 9 代(13—15 个月) 组培表现出较高增殖率及生根率(2.18 倍·月⁻¹、91.0%); 中、慢增殖型无性系需经 12—15 代(18—22 个月) 培养, 增殖率、生根率才达到一定水平(平均 1.82 倍·月⁻¹、89.6%)。

参考文献:

- [1] Kamis Awang, David Taylor. *Acacia mangium* Growing and Utilization[M]. Bangkok, Thailand: Winrock International and the Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1993. 65—70
- [2] 周丽华, 张华通, 刘颂颂. 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, (3): 25—28
- [3] 文澄, 戴策刚. 观赏植物组织培养技术[M]. 北京: 中国林业出版社, 1997
- [4] Bonga J M, Duran D J. 树木组织培养[M]. 阙国宁, 郭达初, 李金田译. 北京: 中国林业出版社, 1988
- [5] 卢纹岱, 金水高. SAS/PC 统计分析软件实用技术[M]. 北京: 国防工业出版社, 1996

Study on the Early Multiplicative Ratio *in vitro* of *Acacia mangium* Plus Trees

QIU Zhen-fei, ZENG Bing-shan, LIU Ying

(Research Institute of Tropical Forestry, CAF Guangzhou 510520, Guangdong, China)

Abstract: The technique of multiplicative and rooting ratio *in vitro* of 30 plus tree of *Acacia mangium* was studied. There are great difference among clones in multiplication and rooting at the early stage of tissue culture. The results show that 30 clones can be divided into 3 multiplicative types, i. e. fast, middle and slow multiplicative types. The fast one can reach to high monthly multiplicative ratio (2.18 times per month) after 13 to 15 months' introduction while it has good rooting property with 91.0 per cent. But the middle and slow one can't get the high monthly multiplicative ratio till they got 18 to 22 months' introduction.

Key words: *Acacia mangium*; clone; tissue culture; multiplication; rooting