

## 合欢组织培养及快速无性繁殖研究

李世承<sup>1\*</sup>, 田亚军<sup>2</sup>, 李晶<sup>2</sup>

(1. 辽宁大学 离退休工作处, 辽宁 沈阳 110036; 2. 辽宁大学 后勤发展中心, 辽宁 沈阳 110036)

**摘要:**以合欢叶总柄为材料, 在无菌接种箱内, 对材料进行表面消毒, 然后将总柄切成小段, 分别接于(1), (2), (3) MS 号的三种培养基上, 对其进行愈伤组织诱导和芽的分化, 当愈伤组织、芽形成后, 再选择愈伤组织松散、芽生长一致的组块, 分别转接到(4), (5), (6)号改良 MS 培养基上, 进行芽苗增殖和壮苗筛选培养, 当选出芽分化率高, 苗多而壮的最佳培养基后, 最后, 选择生长一致的无根苗, 转接到(7), (8), (9)号三种改良 MS 生根培养基上, 筛选出适于最佳无根苗的生根培养基。经实验结果表明: (2)号 MS 培养基, 是诱导愈伤组织诱导快, 分化率高的培养基; (5)号改良 MS 培养基, 是出芽, 增苗, 壮苗最佳培养基; (8)号改良 MS 培养基, 是较好的生根培养基, 它生根快, 愈伤组织小, 根较多而壮, 是本次实验较好的生根培养基。

**关键词:**合欢; 叶总柄组织培养; 愈伤组织; 诱导率; 分化率; 增殖系数。

中图分类号: Q943.1 文献标识码: A 文章编号: 1000-5846(2008)03-0274-05

合欢(又名绒花树)<sup>[1]</sup> *Albizia Julibrissin Durazz.*

该植物姿态优美, 叶形雅致, 盛夏绒花怒放, 色香迷人, 叶神奇, 昼展夜合, 它是绿化、美化、净化和净化环境的极佳树种。同时该植物的皮、花均能入药, 对安神、活血、止痛等均有功效。本植物可用无性繁殖法繁殖, 即能保存其优良种性, 又能扩大种苗资源, 因此培养它即有绿化意义, 也有经济意义。但该植物原产于热带或亚热带, 寒冷的北方, 室内外很少栽植。近些年来由于引种驯化, 一些合欢树种, 可于北方一些地区(如: 鞍山, 大连, 沈阳也有少量试种, 或以盆花形式于室内培养。但该植物室内外栽培, 繁育均受限制, 如采用植物组培法<sup>[2,3]</sup>, 冬繁苗, 夏移植, 可解决大量种苗的不足问题, 也为社会绿化、美化、净化环境作出了贡献。用此法培养至今尚无正文报道。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料选择

合欢(又名绒花树) *Albia Julibrissin Durazz.*

选取生长正常、健壮的叶总柄为材料。

### 1.2 培养方法

#### 1.2.1 培养基

(1) MS + 6 - BA1 mg/L + NAA0.1 mg/L.

(2) MS + 6 - BA2 mg/L + NAA0.1 mg/L.

(3) MS + 6 - BA3 mg/L + NAA0.1 mg/L.

(4) 改良 MS(甘氨酸 2, B1 0.1 mg/L, B6 0.5 mg/L, PP0.5 肌醇 100 mg/L (大量、微量元素及铁盐, 用常量) + 6 - BA1 mg/L + NAA0.05 mg/L 蔗糖 30 g pH 5.8.

(5) 改良 MS(甘氨酸 4, B1 0.1 mg/L, B6 0.5 mg/L, PP0.5 肌醇 100 mg/L (大量、微量元素及铁盐, 用常量) + 6 - BA1 mg/L + NAA0.05 mg/L 蔗糖 30 g pH 5.8.

(6) 改良 MS(甘氨酸 6, B1 0.1 mg/L, B6 0.5 mg/L, PP0.5 肌醇 100 mg/L (大量、微量元素及铁盐, 用常量) + 6 - BA1 mg/L + NAA0.05 mg/L 蔗

\* 作者简介: 李世承(1934-), 男, 辽阳人, 辽宁大学高级实验师, 从事植物组织培养教学及无性快繁研究。  
收稿日期: 2008-03-09

糖 30 g pH 5.8.

(7)改良 MS(甘氨酸 2, B1 0.1 mg/L, B6 0.5 mg/L, PPO.5 肌醇 100 mg/L 其他均常量) + NAA 1 mg/L 蔗糖 30 g pH 5.8.

(8)改良 MS(甘氨酸 4, B1 0.1 mg/L, B6 0.5 mg/L, PPO.5 肌醇 100 mg/L 其他均常量) + NAA 2 mg/L 蔗糖 30 g pH 5.8.

(9)改良 MS(甘氨酸 6, B1 0.1 mg/L, B6 0.5 mg/L, PPO.5 肌醇 100 mg/L 其他均常量) + NAA 3 mg/L 蔗糖 30 g pH 5.8.

### 1.2.2 材料表面消毒

材料选好后经自来水冲洗,然后,先用 70% 乙醇溶液浸泡 1 min, 倒出残液后,再用 0.1% 升汞溶液浸泡 5~6 min, 最后用无菌水冲洗 3~4 遍, 然后用无菌镊子挟取材料, 放入装有无菌沙布的培养皿内, 吸干水分后, 以待接种

### 1.2.3 剪材, 接种, 培养与观察

材料消毒后, 将叶总柄切(或剪)成 1 cm 长的小段, 然后, 用无菌镊子挟取材料, 以每瓶 6 段的数量, 分别接在(1), (2), (3)号 MS 培养基上, 包好瓶口, 放于温度为 20~25 °C, 光照为 1000~2000 LX 的培养架上进行培养, 每 3~7 d 观察一次, 记好组块形态变化记录, 典型变化用照相记录. 当愈伤组织和芽(或丛芽)形成后, 选择生长正常、松散的瘤状愈伤组织或丛芽分化多而均一的培养基, 作今后合欢叶总柄愈伤组织诱导与芽

分化的继代培养基; 然后, 选择生长、分化一致的丛芽组块, 分别转接到(4), (5), (6)号改良 MS 的培养基上, 进行增芽, 壮苗培养. 当丛芽形成后, 选择生长快, 叶绿、株壮愈伤组织少而小的培养基, 作今后的壮苗培养基; 壮苗培养基选出后, 再选择生长一致的无根苗, 分别转接在(7), (8), (9)号改良 MS 三种生根培养基上, 进行生根培养. 20 d 左右, 无根苗已生根, 测其根、茎、叶生长状况, 选出对无根苗生根最适合的生根培养基, 备今后合欢组培使用; 当最佳生根培养基选出后, 将长至 2~3 cm 生根苗, 打开瓶口, 炼苗 2~3 d, 以待移栽入土.

### 1.2.4 移栽

将已炼苗的生根苗, 从瓶口取出, 在自来水下冲掉根上的培养基, 然后, 移到事先配制好的  $W_{\text{沙}}:W_{\text{土}}=2:1$  的花盘中, 移后浇一次透水, 搭好骨架, 盖上无毒塑料薄膜, 在弱光下进行保温、保湿培养. 缓苗后逐渐揭开薄膜, 让移栽苗适应外界环境, 10 d 后统计成活率.

## 2 培养结果

### 2.1 不同浓度激素

(6-BA) 的培养基, 对合欢总柄愈伤组织诱导和芽分化的影响[见表 1(1)、(2)、(3)和图 1(1)、(2)、(3)图片附后].

表 1 不同浓度激素(6-BA)的培养基对合欢叶总柄愈伤组织诱导、芽分化的影响

培养基浓度单位: mg/L	外植体形态变化过程: 发生, 发展, 终止时间, 特征, 特性, 数量, 大小, 颜色, ...	接种数 (块)	愈伤组织块数 (块)	诱导率 (%)	出芽块数 (块)	分化率 (%)	平均芽数/愈伤
(1) MS+6-BA 1mg/L + NAA 0.1mg/L	培养 10d 左右, 切段肿胀, 膨大; 培养 25d 左右, 有绿色瘤状愈伤组织形成(图片 2.1(1)a); 培养 30d 左右, 形成丛芽(图片 2.1(1)b), 其诱导率, 分化率见表右各栏; 当丛芽形成后, 转移生长一致的丛芽到 2.2(4)号改良 MS 培养基上, (下转表 2.2);	18	15	83.3	15	100	4.67
(2) MS+6-BA 2mg/L + NAA 0.1mg/L	接种 10d 左右, 切段肿胀, 膨大, 20d 左右有绿色瘤状愈伤组织形成(图片 2.1(2)a), 30~40d, 瘤状物增多并有绿色丛芽生成(图片 2.1(2)b); 其诱导率, 分化率, 见表右各栏; 当丛芽形成后, 转移生长一致的丛芽到 2.2(5)号改良 MS 培养基上, (下转表 2.2);	18	14	77.8	14	100	5.0
(3) MS+6-BA 3mg/L + NAA 0.1mg/L	接种 15d 左右, 形成瘤状愈伤组织, (图片 2.1(3)a); 20d 后, 有丛芽形成(图片 2.1(3)b); 其诱导率, 分化率, 详见表右各栏. 转接生长一致的丛芽到 2.2(6)号改良 MS 培养基上, (下转表 2.2)	18	15	83.3	13	73.3	4.17

## 2.2 不同浓度维生素对合欢苗形成的影响[见表2(4)、(5)、(6)和图2(4)、(5)、(6)图片附后].

表2 不同浓度维生素对合欢丛苗增殖和壮苗的影响

改良 MS 培养基(大,微,铁元素常用量,维生素同下用量)浓度单位:mg/L	外植体形态变化过程: 发生,发展,终止时间,特点,数量,颜色大小...	接种 块数 (块)	愈伤组 织块数 (块)	诱导率 (%)	平均芽 数/愈 伤(个)	增殖系 数(倍)
(4) 改良 MS 甘氨酸 2, B1 0.1, B6 0.5 PP 0.5、肌醇 100) + 6 - BA 1 + NAA 0.05	进行继代培养,60 d 后,形成无根丛苗.苗较细弱,叶浅绿色.(图片 2.2(4)c);其苗的增殖系数,见表右栏.当苗形成后选择生长一致的无根苗,转接到 2.3(7)号改良 MS 生根培养基上培养,(下转表 2.3);	18				3.7
(5) 改良 MS(甘氨酸 4 B1 0.1, B6 0.5 PP 0.5, 肌醇 100) + 6 - BA 1 + NAA 0.05	进行继代培养,50 d 后,形成大堆丛苗,苗高 2 cm 左右,叶绿、株壮(图片 2.2(5)c)其增殖系数,见表右栏,转移生长一致无根丛苗到 2.3(8)号改良 MS 生根培养基培养,(下转表 2.3);	18				4.67
(6) 改良 MS(甘氨酸 6 B1 0.1, B6 0.5 PP 0.5, 肌醇 100) + 6 - BA 1 + NAA 0.05	进行继代培养,50 d 后,形成丛苗,苗高 2 cm 左右,叶绿、株嫩、节间细长、丛苗愈伤组织块较大(图片 2.2(6)c),其增殖系数见表右栏.转移生长一致无根苗到 2.3(9)号改良 MS 生根培养基上,(下转表 2.3)	18				2.33

## 2.3 不同浓度生根剂对合欢无根苗生根的影响[见表3(7)、(8)、(9)和图3(7)、(8)、(9)图片附后].

表3 不同浓度生根剂(NAA)对合欢无根苗生根的影响

改良 MS 培养基(大,微,铁元素常用量,维生素同下用量)浓度单位:mg/L	植物生根形态变化过程: 发生,发展,终止时间,特点,数量,颜色大小...	转接苗 数 (株)	生根 株数 (株)	生根率 (%)
(7) 改良 MS 甘氨酸 2, B1 0.1, B6 0.5, PP 0.5, 肌醇 100) + NAA 1	无根苗插入培养基后,10 d 后,接入培养基部分的茎端,呈现白色并有突起,20 d 形成根系(图片 2.3(7)d),生根株数 10 株,生根率 61.1%,根 21 条,根长 1~3 mm 左右.	18	11	61.1
(8) 改良 MS(甘氨酸 4 B1 0.1, B6 0.5, PP 0.5 肌醇 100) + NAA 2	无根苗插入生根培养基后,10 d 左右,插入培养基部分变白色并有突起,20 d 形成根系(图片 2.3(8)d).生根株数 15 株,生根率 77.8%,根 37 条,根长 1~3 mm 左右.	18	14	77.8
(9) 改良 MS(甘氨酸 6, B1 0.1, B6 0.5, PP 0.5, 肌醇 100) + NAA 3	培养,无根苗,插入生根培养基后,10 d 左右,接入培养基部分变白色并有突起,20 d,形成根系(图片 2.3(9)d),生根株数 16 株,生根率 88.9%,根 24 条,根长 2~3 mm 左右.	18	16	88.9

## 3 结论

(1)从表1(1)、(2)和(3)愈伤组织形成和芽分化结果上看出:1(1)号 MS 培养基诱导率高,但其平均芽数不如 1(2)号 MS 培养基出芽多,速度

也慢;2.1.(3) MS 号培养基诱导率也高,但其分化率和平均出芽数都偏低,更比不上 2.1(2) MS 培养基好;

(2)从表2(4)、(5)和(6)成苗结果可看出:2(4)号改良 MS 培养基,培养出的苗不整齐,增殖

系数为3.7倍;2(5)号改良MS培养基,是4.67倍,而2.2(6)号改良MS培养基为2.33倍,三培养基增殖系数相比,是2.2(5)号改良MS培养基最高,2.2(4)号改良MS培养基次之,2.2(6)号改

良MS培养基较差.另外2.2(6)号改良MS培养基,苗较高,节间细长,愈伤组块大,不利转移生根;

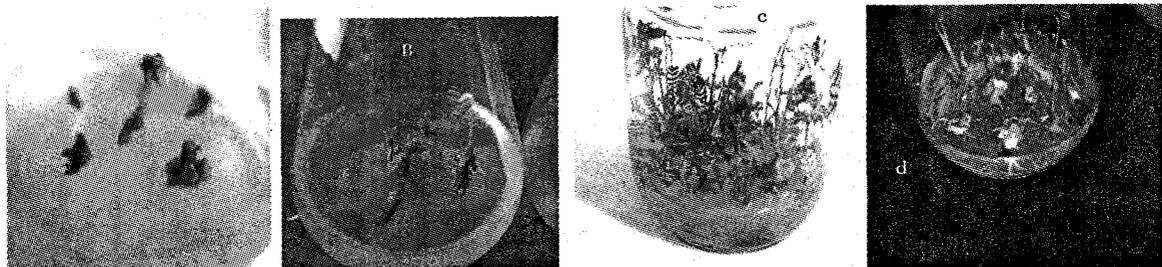


图1 接种20 d切段膨大;并有绿色瘤状愈伤组织形成(图片2.1(1)a);30 d左右形成丛芽,(图片2.1(1)b);培养60 d后,形成大堆丛苗(图片2.2(4)c);株高1~2 cm较瘦弱;转移无根苗到生根培养基上,20 d左右形成根系(图片2.3(7)d).

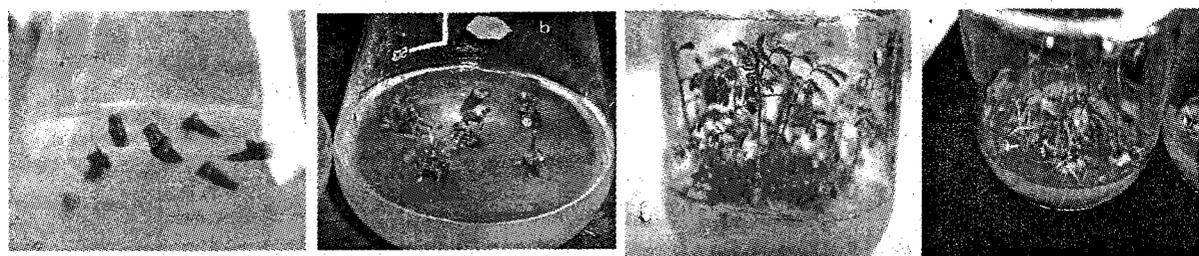


图2 接种10 d左右,切块膨大,20 d后有绿色瘤状愈伤组织形成(图片2.1(2)a);30~40 d,绿色瘤状物增多并有丛芽生成(图片2.1(2)b);50 d后形成大堆丛苗,株高2 cm左右,(图片2.2(5)c);将株高2 cm左右丛苗,转移到2.3(8)c生根培养基上培养,20 d后形成根(图片2.3(8)d)

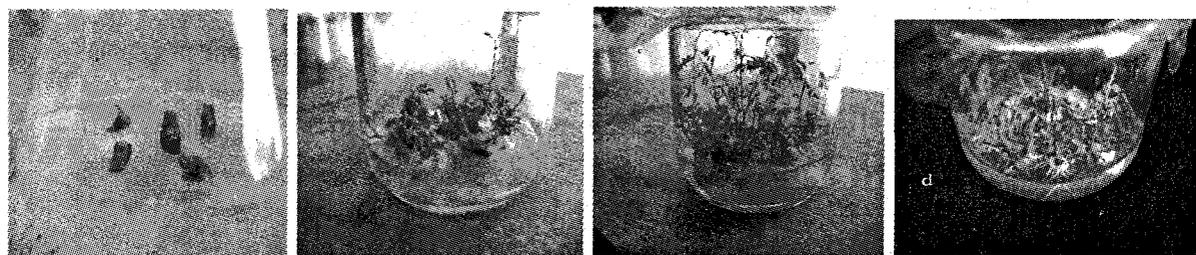


图3 接种7 d左右,切段肿胀、膨大;培养15~20 d有较大愈伤组织和芽形成(图片2.1(3)a);转接丛芽到继代培养基上培养,20 d左右形成苗(图片2.1(3)b);培养50 d后,形成大堆丛苗,株高2 cm,左右,苗较瘦弱,节间较长(图片2.2(6)c);转移无根苗到生根培养基上培养,20 d左右形成根系(图片2.3(9)d).

(3)从表3(7),3(8)和(9)生根结果又可以看出:三种生根培养基,激素浓度不同,对根的形成速度,数量和生根率...均不相同.2.3(7)号改良MS生根培养基,生根剂浓度低,生根慢,数量少,生根率为61.1%,而,2.3(8)和2.3(9)号改良MS生根培养基,生根率是77.8%和88.9%相比,2.3(9)号改良MS生根培养基生根率高,而2.3(8)

号改良MS生根培养基,生根率低,且苗不壮,并有枯萎现象,没有2.3(9)号改良MS生根培养基生长的好.

综上所述,在合欢叶总柄的组织培养中,2.1(2)号MS和2.2(5)、2.3(9)号改良MS,这三种培养基,是合欢组培诱导愈伤组织、芽分化、增芽、壮苗和生根的最佳的培养基.

## 参 考 文 献 :

- [1] 贺士元,邢其华,尹祖常,等.北京植物志上册[M].北京:北京出版社,1984.
- [2] 周 音,张智奇,张建军,等.恶霉灵在合欢离体快速繁殖中的应用[J].上海农业学报,2001,17(1):31-34.
- [3] 李世承,栾 岚,娄和林,等.植物组织培养技术及其应用[M].北京:知识产权出版社.2006.

## Studies on the Tissue and Rapid Propagation *Albizia Julibrissin*

LI Shi-cheng<sup>1</sup>, TIAN Ya-jun<sup>2</sup>, LI Jing<sup>2</sup>

(1. The Retirement Office of Liaoning University, Shenyang 110036, China;

2. The Logistic Development Center of Liaoning University, Shenyang 110036, China)

**Abstract:** The common petole of *Albizia Julibrissin* was used as material and surface sterilized. Then it was cut into small segments inoculated on three different media No. 1, No. 2, and No. 3 MS. and induced to form callus and differentiated to form adventitious buds. After the formation of adventitious buds, tissue explant with incompact callus and oonsistent adventitious buds was transferred to No. 4, No. 5 and No. 6 refined MS media to propagate adventitious bods and shoots and to select strong shoots. After themost suitable media with high bud propagation ratio and many strong shoots was selected, the consistent shoots was transferred to No. 7, No. 8 and No. 9 refined MS media for the selecton of themedia suitable the rooting of the buds. It shows that No. 2 media was the media that callus is induced most rapid and buds is differentiated highest, No. 5 refined MS media is the media that shoots increased most rapid, and is strong and No. 8 refined MS media is the finest media for the rooting of the is very fast, the callus is very small, and the number of the small roots is high and that of the roots is strong.

**Key words:** *Albizia Julibrissin*; tissue culure; Inducing ratio; differentiation ratio; shooting ratio.

(责任编辑 李 超)