

应用正交设计进行矮牵牛组培苗生根条件的筛选

吴林森, 冯福娟

(丽水职业技术学院, 浙江 丽水 323000)

摘要: 采用正交设计方法对矮牵牛组培苗生根的条件进行筛选。试验表明 $1/2MS + BA 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + IBA 0.8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + NAA 3.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 蔗糖 $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的培养基对矮牵牛组培苗生根最有利。

关键词: 矮牵牛; 植物组织培养; 正交设计

中图分类号: S681.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1002-7351(2006)03-0044-03

Application of Orthogonal Design in Selecting Rooting Condition in Tissue Culture of *Petunia hybrida*

WU Lin-sen, FENG Fu-juan

(Lishui Vocational Technical College, Lishui, Zhejiang 323000, China)

Abstract: Orthogonal design was performed in selecting rooting condition in tissue culture of *Petunia hybrida*. The result showed that $1/2MS + BA 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + IBA 0.8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + NAA 3.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + \text{sucrose } 30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ was an optimal rooting medium for *Petunia hybrida*.

Key words: *Petunia hybrida*; plant tissue culture; orthogonal design

矮牵牛(*Petunia hybrida*)又名碧冬茄,为茄科碧冬茄属1~2年生草本花卉;早春及初夏开花不断,花团锦簇,颜色丰富多彩,是常用的花坛布置或盆栽室内装饰布置、立体装饰花卉。随着城市绿化中使用花卉的比重越来越大,因矮牵牛具有良好的装饰效果及栽培管理较为粗放等特点,使其备受人们的青睐,市场需求量持续上升。

矮牵牛的常规繁殖采用种子繁殖或扦插,这些方法有一定的局限性。而组织培养以其繁殖系数大、周期短、成本较低、可周年进行生产等优点,弥补了常规繁殖的不足,能在较短的时间内生产量多、质优的苗木,满足市场的需要。因此,组织培养育苗成了矮牵牛育苗生产的重要组成部分,而且其比重越来越大。

在组织培养中,组培苗在最后的移栽成活率的高低,直接关系到生产的效益。影响这一效益的因素众多,其中组培苗在培养瓶内的生根率与所长根的质量就是其中一项。基于此,在本研究中就尝试采用不同的激素及浓度,借助正交设计方法对矮牵牛组培无根苗进行培养瓶内生根,观察生根现象与分析生根结果,进而筛选出最适宜组培苗生根的培养基配方,为实现与促进组培苗的更好生根,进而实现顺利移栽创造条件,这对推动其组培的产业化,达到苗木生产的快速、经济具有非常重要的意义。

1 材料的获取

1.1 材料

矮牵牛无根组培苗。

1.1.1 获取的方法^[1] 利用植物组织培养技术,经过初代培养、继代培养后获取。

1)初代培养: $MS + BA 2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + NAA 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 培养基中加蔗糖 $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、琼脂 $6.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, pH值调至5.8。取生长健壮、洁净且无病虫害,当年生长的植株上的厚实、肥壮的幼叶作为外植体,在经过预处理、表面灭菌后,在无菌条件下切割成 0.5 cm^2 的小方块,接种到已灭菌的初代培养基中,在适合的环境条件下培养15 d后,叶片形成愈伤组织,并在其上长出芽。

2)继代培养: $MS + BA 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1} + NAA 0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 培养基中加蔗糖 $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、琼脂 $6.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,

收稿日期: 2006-03-03; 修回日期: 2006-04-26

作者简介: 吴林森(1969-),男,浙江庆元人,丽水职业技术学院副教授,从事植物生理研究。

pH 值调至 5.8。将初代培养后的小苗在无菌条件下转接到继代培养基中,进行继代培养;在培养 25 d 后,苗高达 2~3 cm,叶浓绿,长势良好,符合生根要求,可以进行生根培养。

1.1.2 培养条件 培养温度 22℃~24℃;每天光照 12~16 h;光照强度 2 000 lx 左右;培养室湿度 60%~70%。

1.2 试验地点

所用的矮牵牛品种采自丽水职业技术学院花坛,地点在浙江省丽水职业技术学院植物组织培养实验室。

2 试验方法

取继代培养阶段诱导产生的矮牵牛丛生芽,以 1/2MS 为基本培养基,附加 3 种植物激素,即 6-BA、IBA 和 NAA,每种选用 3 种不同的浓度,见表 1。利用 $L_9(3^4)$ 正交表安排试验^[2],即按表 2

设计的试验方法配制培养基:1/2MS+ABC 设计水平+蔗糖 30 g·L⁻¹+琼脂 6.5 g·L⁻¹,pH 值调至 5.8。

表 1 植物激素种类和浓度

植物激素	浓度/mg·L ⁻¹		
	1	2	3
6-BA	0.1	0.3	0.5
IBA	0.2	0.5	0.8
NAA	1.0	2.0	3.0

表 2 正交表安排试验方案及其试验结果

编号	因 素			平均形成的根数/条
	6-BA	IBA	NAA	
1	1(0.1)	1(0.2)	1(1.0)	9
2	1(0.1)	2(0.5)	2(2.0)	16
3	1(0.1)	3(0.8)	3(3.0)	28
4	2(0.3)	1(0.2)	2(2.0)	12
5	2(0.3)	2(0.5)	3(3.0)	22
6	2(0.3)	3(0.8)	1(1.0)	7
7	3(0.5)	1(0.2)	3(3.0)	20
8	3(0.5)	2(0.5)	1(1.0)	6
9	3(0.5)	3(0.8)	2(2.0)	13
K ₁	53	41	22	根的总数:133
K ₂	41	44	41	
K ₃	39	48	70	
平均 ₁	17.8	13.7	7.3	
平均 ₂	13.7	14.7	13.7	
平均 ₃	13.0	16	23.3	
极差(R)	3.8	2.3	16.0	
因素主次	2	3	1	
最优水平	1	3	3	

*:括号内数字为激素用量,其单位是 mg·L⁻¹。基本培养基为 1/2MS,培养时间 20 d,蔗糖浓度为 30 g·L⁻¹。

本研究共做了 10 个培养基,每个对应培养基的试验重复取样 10 次,每瓶接 1 株苗,要求接种到 10 瓶中的小苗其长势、苗高要基本相同,诱导培养 20 d。其环境条件设为:培养温度 22℃~24℃;每天光照 12~16 h;光照强度 2 000 lx 左右;培养室湿度 60%~70%。观察记载试验过程中的各种现象与有关的数据,以此来统计分析比较各种培养基条件下的生根情况,确定出最合适的激素种类与配比。

3 试验结果与分析

3.1 各培养基中苗木的生根现象观察

在生根培养基中,5~7 d 可见小苗的基部都有愈伤组织产生,根原基出现、变大,在第 10 d,有根从小苗基部的愈伤组织或苗的基部皮层处分化出来,同时苗有丛生现象产生;经观察,以从愈伤组织与苗基部

皮层交界处分化出的细根为主要的生根类型。但在此时经观察发现了苗木的黄化,以②号培养基为最。各培养基上所观察到的生根现象见表 3。

表 3 组培苗生根情况一览表

编号	培养基配方	苗均高 /cm	根均数 /条	长度 /cm	苗木长势描述
1	1/2MS+6-BA0.1+IBA0.2+NAA1.0	2.8	9	0.5	枝丛生少、细长,苗基部愈伤量少,叶较浓绿
2	1/2MS+6-BA0.1+IBA0.5+NAA2.0	3.1	16	0.7	苗初期长势较差,后期所长的愈伤量少,植株细长有黄化现象
3	1/2MS+6-BA0.1+IBA0.8+NAA3.0	4.3	28	1.4	苗长势较好,叶浓绿,基部愈伤量少,相比较粗壮
4	1/2MS+6-BA0.3+IBA0.2+NAA2.0	1.3	12	1.0	苗长势较好,但矮小,叶较绿,基部愈伤量少,较粗壮
5	1/2MS+6-BA0.3+IBA0.5+NAA3.0	3.7	22	1.0	苗长势较好,叶浓绿,基部愈伤量少,相比较粗壮,苗茎上长出根较多
6	1/2MS+6-BA0.3+IBA0.8+NAA1.0	1.0	7	0.7	苗较矮小,基部愈伤量少
7	1/2MS+6-BA0.5+IBA0.2+NAA3.0	2.4	20	0.5	苗细长、丛生少,基部愈伤量多,叶较为浓绿
8	1/2MS+6-BA0.5+IBA0.5+NAA1.0	1.5	6	1.3	苗较矮小,基部愈伤量较多,根发生的数量少
9	1/2MS+6-BA0.5+IBA0.8+NAA2.0	2.3	13	0.8	苗长势较好,叶浓绿,基部愈伤量多而大,是全部培养基中愈伤体积最大,有玻璃化现象,不利于移栽

3.2 不同激素种类对比对矮牵牛无根苗的根诱导形成的影响

矮牵牛组培无根苗接种到培养基,培养 20 d 后的平均生根数和各因素的 K 值及极差(R)值的结果见表 2。从表 2、表 3 的试验结果可直观看出:6-BA 的 1 水平、IBA 的 3 水平和 NAA 的 3 水平对根诱导的产生影响较大。由此确定,矮牵牛组培无根苗诱导生根最优配方为 $1/2MS + BA\ 0.1\ mg \cdot L^{-1} + IBA\ 0.8\ mg \cdot L^{-1} + NAA\ 3.0\ mg \cdot L^{-1}$ 。

因素的主次是以极差(R)的大小来衡量。极差(R)大,表明此因素对试验的产生与结果影响大,即此因素比较重要,反之,极差(R)小,则表明其对试验的影响小,即此因素相比较为次要。从表 2 中看出,主要的影响因素是 NAA,其次为 6-BA,再次是 IBA。表 3 的直观表现与此相同。

表 4 正交设计方差分析结果

试验因素	离差平方和	自由度	方 差	F 值	$F_{0.05}$	$F_{0.01}$	显著性
6-BA	38.23	2	19.12	24.83	19.0	99.0	*
IBA	8.23	2	4.12	5.35	19.0	99.0	
NAA	389.56	2	194.78	252.96	19.0	99.0	**
误 差	1.54	2	0.77				
总 和	437.56	8					

从表 4 的方差分析中可知,因素 NAA 的 F 值 $> F_{0.05}$,同时也 $> F_{0.01}$,因此其影响达到极显著,而因素 6-BA 的 F 值符合 $F_{0.05} < F \text{ 值} < F_{0.01}$,因此其影响也达到显著,但小于 NAA 的影响,这与前述的直观分析结果一致。

4 结语

经过试验对比,使用③号培养基 $1/2MS + BA\ 0.1\ mg \cdot L^{-1} + IBA\ 0.8\ mg \cdot L^{-1} + NAA\ 3.0\ mg \cdot L^{-1}$,并在其中添加蔗糖 $30\ g \cdot L^{-1}$,琼脂 $6.5\ g \cdot L^{-1}$,pH 调至 5.8,对矮牵牛组培苗生根最有利,而且在这一培养基上生长的植株长势较好,叶色浓绿,根相对较粗长,质量是符合移栽要求的。同时在试验对 (下转第 64 页)

参考文献:

- [1] 钦俊德. 昆虫与植物的关系[M]. 北京: 北京科学出版社, 1987: 51-53.
- [2] 李镇宇, 王 燕, 陈华盛, 等. 赤松毛虫的为害对小油松针叶内物质含量的影响[J]. 北京林业大学学报, 1999, 21(5): 41-45.
- [3] 戈 峰, 李典谟, 邱业先, 等. 松树受害后一些化学物质含量的变化及其对马尾松毛虫种群参数的影响[J]. 昆虫学报, 1997, 40(4): 337-341.
- [4] 李镇宇, 陈华盛, 袁小环, 等. 油松对赤松毛虫的诱导化学防御[J]. 林业科学, 1998, 34(2): 43-49.
- [5] 王海波, 吴千红, 高闻达. 茄子和朱砂叶螨相互作用系统的研究 I. 叶螨种群动态与茄子叶片单宁含量变动的关系[J]. 应用生态学报, 1993, 4(2): 174-177.
- [6] 王海波. 昆虫胁迫下的植物应激反应模式[J]. 生态学杂志, 1993, 12(6): 46-48.
- [7] 王海波, 周纪纶. 蚕豆对蚕豆蚜虫刺吸胁迫的生理防御策略[J]. 生态学报, 1993, 8(3): 195-200.
- [8] 贾之慎, 刘志坤, 傅一穷. 竹类中黄酮类化合物总量的研究[J]. 竹子研究汇刊, 1995, 14(2): 39-45.
- [9] 严国光, 王福均. 农业仪器分析法[M]. 北京: 农业出版社, 1986: 266-268.
- [10] 王 燕, 戈 峰, 李镇宇. 马尾松诱导化学物质变化的时空动态[J]. 生态学报, 2001, 21(8): 1256-1261.
- [11] 周章义. 林业营养与虫害油松施 N 肥的抗虫效应[J]. 昆虫学报, 1986, 29(3): 283-290.

(上接第 46 页)比中注意到适当提高 NAA 的浓度,其上长出的根较其它培养基培养的苗木的根要粗壮一些,这对于后期的移栽工作的顺利进行是有利的。但也要充分考虑 6-BA 添加过多后,造成幼苗生长细长、玻璃化,这会给组培苗的良好生长带来不利的影响。

参考文献:

- [1] 瞿素萍. 矮牵牛的组织培养的研究[J]. 西南农业大学学报, 2001, 23(5): 447-448.
- [2] 白世红. 田间实验与生物统计[M]. 上海: 上海交通大学出版社, 2003.
- [3] 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, 1996.
- [4] 李骏明. 植物组织培养教程[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 1996.
- [5] 黄学林, 李筱菊. 高等植物组织离体培养的形态建成及其调控[M]. 北京: 科学出版社, 1995.

(上接第 55 页)

- [9] 朱 慧, 洪 伟, 吴承祯. 闽东柳杉人工林经营密度与生长关系的研究[J]. 江西农业大学学报, 2004, 26(1): 51-55.
- [10] 黄琅增. 闽东柳杉人工林立木材积表和地位指数表的编制[J]. 福建林业科技, 1997, 24(1): 58-61.
- [11] 陈鑫峰. 用 Richards 函数拟合柳杉多形地位指数曲线[J]. 北京林业大学学报, 1997, 19(3): 8-14.
- [12] 周元满, 谢正生, 刘新田. Richards 函数在校树无性系林分生长预测上的应用研究[J]. 西南农业大学学报, 2005, 27(2): 240-243.
- [13] 洪 伟, 吴承祯, 闫淑君. 广义 Schumacher 模型的改进及其应用[J]. 应用生态学报, 2004, 15(2): 241-244.
- [14] 吴承祯, 洪 伟. 观光木群落物种多度分布的 Weibull 模型研究[J]. 福建林学院学报, 1997, 17(1): 20-24.
- [15] 吴承祯, 洪 伟. 用改进单纯形法最优拟合 Logistic 方程[J]. 生物数学学报, 1999, 14(1): 117-121.
- [16] 张卓文. 柳杉生长过程分析及生长阶段划分[J]. 中南林学院学报, 2003, 23(2): 46-5.
- [17] 吴承祯, 洪 伟. 杉木数量经营学引论[M]. 北京: 中国林业出版社, 2000: 216-278.
- [18] 吴承祯, 洪 伟. 柳杉-杉木混交林种间竞争的研究[J]. 生物数学学报, 2001, 16(2): 247-251.