

桉柳离体快繁正交试验

李利红¹, 李先芳¹, 韦小敏¹, 王 鹏¹, 栗明霞²

(1. 郑州牧业工程高等专科学校生物工程系, 河南 郑州 450011;

2. 河南省焦作市人民公园, 河南 焦作 454190)

摘要: 试验用 MS 培养基附加不同浓度的 6-BA、KT 和 NAA, 按正交试验表 $L_9(3^4)$ 形成不同配方的培养基, 分析了不同激素浓度配比对桉柳离体快繁的影响。试验结果表明, 以 MS 培养基 + 6-BA $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA $0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + KT $0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 配方对不定芽增殖效果最好。

关键词: 桉柳; 正交试验; 离体快繁

中图分类号: S793.5

文献标识码: A

文章编号: 1002-7351(2007)02-0119-02

Application of orthogonal experiment in tissue culture of *Tamarix chinensis* Lour.

LI Li-hong¹, LI Xian-fang¹, WEI Xiao-min¹, WANG Peng¹, LI Ming-xia²

(1. Department of Bioengineering, Zhengzhou College of Animal Husbandry, Zhengzhou, Henan 450011, China;

2. People's Park of Jiaozuo City, Jiaozuo, Henan 454190, China)

Abstract: The effects of different growth regulator concentrations on *in vitro* rapid propagation of *Tamarix chinensis* were analyzed by using MS medium with different concentration of 6-BA, KT and NAA based on orthogonal design $L_9(3^4)$. The results showed that MS with 6-BA $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + NAA $0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + KT $0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ was suitable for the stem proliferation.

Key words: *Tamarix chinensis* Lour.; orthogonal experiment; *in vitro* rapid propagation

桉柳(*Tamarix chinensis* Lour.)为桉柳科的落叶灌木或小乔木,其花成穗状下垂,花色粉红,花期长,自春至秋3次开放,故又名“三春柳”。桉柳是强耐盐树种,耐盐范围在0.7%以上;桉柳还是“蒙药”的主要原料;在工业方面,桉柳不仅是良好的农村绿色能源,还是编织筐笼、簸箕等农具的好材料。

桉柳虽然用途广泛,但目前多为野生生长,由于大面积垦荒及过度开采,致使资源面积日趋减少,不能满足绿化和医药行业的需求,而且还导致土地沙漠化。如果能够通过组织培养的方法建立桉柳离体快繁技术体系,将为桉柳新品种培育和种质资源的保存等提供有效途径;也为进一步研究其抗盐、抗旱分子机理,筛选高抗盐突变体等提供良好的试验体系,同时也为木本植物耐盐遗传改良提供理论指导。

正交试验是一种理想的部分试验设计方案,在观赏植物和药用植物研究中已有不少报道^[1-4],但在桉柳组培研究中尚未见相关报道^[5-8]。本研究在前期实验^[6,8]的基础上,取桉柳茎段作外植体,按正交试验设计对不定芽诱导和增殖的条件进行筛选,从中找出最合适的方法,为普及、推广该品种和生理学方面的深入研究提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

接种材料为桉柳盆景的幼嫩枝段,经以下程序进行表面灭菌:肥皂水冲洗→自来水冲洗5 min→70%酒精浸泡15 s→无菌水冲洗5~6次→0.1%升汞浸泡4 min→无菌水冲洗3次。

1.2 试验方法

取消过毒的桉柳幼嫩枝段,用无菌滤纸吸干表面水分,将其切成1.5 cm左右的小段作外植体,转入消毒过的培养皿中备用。

收稿日期: 2006-10-10; **修回日期:** 2006-12-17

基金项目: 河南省科技厅科技攻关计划项目(0424050018)

作者简介: 李利红(1972-),女,河南焦作人,郑州牧业工程高等专科学校讲师,在读博士,从事生理生化研究。

1.3 培养基及培养条件

采用 MS 培养基, 蔗糖 $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, 琼脂 $7 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$, pH 值调节为 5.6~5.8, 以 6-BA、KT 和 NAA 为 3 个变化因素, 6-BA 分别采用 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $4.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 3 个水平, NAA 分别采用 $0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 3 个水平, KT 分别采用 0、 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 3 个水平。正交表和 9 种培养基的详细配比如表 1。每一处理接种 10 瓶, 每瓶 3 个外植体, 培养温度 $25 \pm 2^\circ\text{C}$, 光照 $12 \text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$, 量子辐照度为 $60 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 。

2 结果与分析

2.1 3 种激素在试验中的作用分析

外植体接种后先是伤口处局部逐渐膨大, 随后产生大量疏松淡绿色愈伤组织, 同时在嫩茎段节上开始出现芽的分化, 至 33 d 全部萌芽。芽萌发后有的伸长成新枝(如图 1)。试验中发现, 1~6 号培养基启动快, 7~9 号培养基启动慢。项艳等(2003)的试验结果表明: 6-BA 浓度过高时, 对芽有抑制作用。据此推断, 7~9 号培养基启动慢与其较高的 BA 浓度有关。

韦小敏等(2006)前期试验的结果表明, 在 NAA 为 $0.05 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 产生的丛生芽叶色翠绿, 但无茎的分化; 当 NAA 浓度为 $0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 丛生芽叶色浓绿, 部分丛生芽具有正常的茎叶分化; 当 BA 浓度为 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 诱导率最高, 每个茎段产生的丛生芽数量也最多。至于 KT 对于桤柳诱导和增殖的作用未作研究, 因此, 此次正交试验我们采用 BA、KT、NAA 3 种激素的不同浓度配比, 希望借此探明 KT 对于桤柳组织培养的作用以及 3 种激素同时存在时对增殖的影响。本试验结果表明, 在桤柳离体快繁中, 较低浓度的 BA 有利于芽的分化和增殖, 这与前期的试验结果一致。但 BA 和 KT 2 种细胞分裂素协同作用于桤柳不定芽的诱导和增殖的效果不如应用单一的细胞分裂素类物质 BA 好。

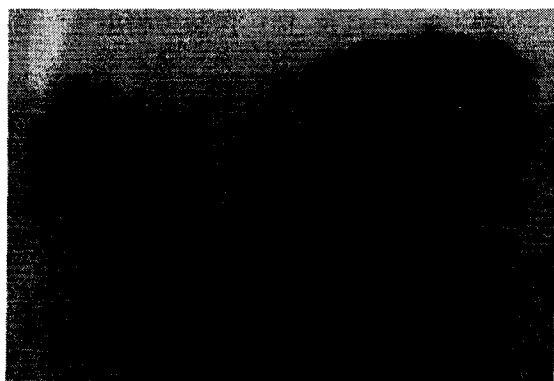


图 1 桤柳离体快繁中新枝的形态

表 1 试验因素及水平表 单位: $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$

水平	因 素		
	A(6-BA)	B(NAA)	C(KT)
1	1.0	0.01	0
2	2.0	0.1	0.5
3	4.0	1.0	1.0

表 2 嫩茎增殖的正交试验结果的直观分析

组合号	因 素			接种数目	不定芽数目
	A	B	C		
1	1	1	1	30	110
2	1	2	2	30	67
3	1	3	3	30	66
4	2	1	2	30	61
5	2	2	3	30	52
6	2	3	1	30	57
7	3	1	3	30	44
8	3	2	1	30	41
9	3	3	2	30	39
T ₁	243	215	208		
T ₂	170	160	167		
T ₃	124	162	162		
R	119	53	46		

* : T₁~T₃ 为各因素每一水平之和; R 为最大与最小水平间距。

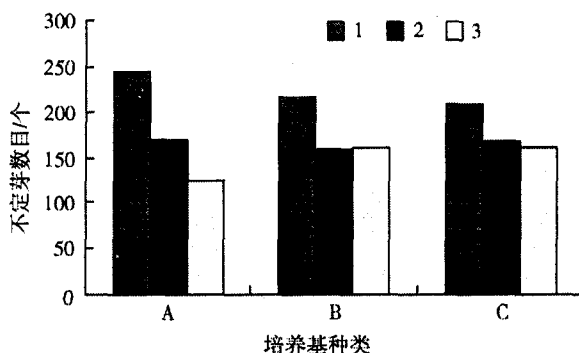


图 2 正交试验结果分析图

由表 2 可以看出, 3 个因素的 R 值大小依次为: A 因素(6-BA)最大(119), B 因素(NAA)次之(53), C 因素(KT)最小(46); 由此可见, 3 个因素中 6-BA 最主要, 对试验的影响最大; 其次为 NAA; (下转第 139 页)

林后初期生长比较快,往往这种苗木重量均较大。换言之,重量大,冠根比较大的容器苗质量较好。本试验中,以 M_1 重量最大, M_2 次之。但基质中加入的森林土比例太大,起苗时土易松散,反而会降低造林成活率。

3 小结

锦鸡儿在不同基质上的生长情况不同,不同基质在高生长、侧根数、主根长和最长侧根之间均存在着显著差异,基质加入锯末和河沙等疏松物质,可以提高出苗率,从出苗率和高生长和根生长综合考虑, M_2 : 70%耕作土 + 20%森林土 + 10%河沙是作为培育锦鸡儿的较理想基质,较 M_1 节约了森林土的运输费用,以耕作土为主,并加入了河沙,增加了基质的通透性,苗木生长中期可通过施肥增加肥力,能较好地满足苗木的生长要求。

参考文献:

- [1]刘学勤.太行山西侧石灰岩山地抗旱造林技术研究[M].北京:中国科学技术出版社,1992:85-88.
- [2]李耀阶.青海木本植物志[M].西宁:青海人民出版社,1987,362-367.
- [3]马常耕.世界容器苗研究生产现状和我国发展对策[J].世界林业研究,1994(5):33-39.
- [4]薛秀康.不同基质对湿地松容器苗生长的影响[J].林业科技通讯,1993(3):17-20.
- [5]江瑞荣,廖宝生,黄福才.木荷容器育苗营养基质及播种方式的研究[J].福建林业科技,1996,23(2):48-51.
- [6]王鸣凤,陈柏林.湿地松容器育苗基质选择和造林效果[J].林业科技开发,1998(1):51-52.
- [7]冷平生,石德山.兴安落叶松容器苗培育基质研究[J].北京林业大学学报,1998,20(4):41-47.
- [8]龙开湖,刘国忠,姚建勇,等.马尾松容器育苗营养配方基质选择试验研究[J].贵州林业科技,2000(1):19-22.
- [9]彭祚登,刘彦明,杨会英.桔杆容器育苗效果的初步研究[J].福建林业科技,2006,33(2):16-19.

(上接第120页)KT的作用最小。

2.2 最佳增殖培养基的筛选

从表2直观分析中可以看出,桤柳不定芽数目以1号培养基最多,即 $A_1B_1C_1$ 。从图2也可以看出,A因素(6-BA)的 A_1 不定芽数目最多,B因素(NAA)的 B_1 不定芽数目最多,C因素(KT)的 C_1 不定芽数目最多,所以最佳处理组合是 $A_1B_1C_1$ 。与表2的结果吻合。所以,本试验筛选的桤柳离体快繁的最佳培养基是:MS+6-BA1.0+NAA0.01+KT0。

参考文献:

- [1]李健,宋晓平,刘海隆,等.正交试验优选南方红豆杉外植体的消毒方案[J].福建林业科技,2006,33(2):132-135.
- [2]刘德朝.卷荚相思扦插繁殖试验[J].福建林业科技,2005,32(4):121-124.
- [3]客绍英,石洪凌,马作东,等.利用正交实验优化丹参愈伤组织培养[J].中药材,2005(2):82-83.
- [4]项艳,江海洋,李卞宗.正交试验法在月季离体快繁中的应用[J].安徽农业大学学报,2003,30(3):299-303.
- [5]程磊,周根余.桤柳的组织培养与快速繁殖[J].上海师范大学学报:自然科学版,2001,30(2):67-71.
- [6]李利红,李先芳,韦小敏,等.桤柳生根组织培养的研究[J].河南林业科技,2005,25(1):14-15.
- [7]Zhang Guo-dong, Wang Yu-cheng, Xia Dean. Mn SOD gene of *T. androssowii*[J]. Molecular Plant Breeding, 2006, 4(3): 449-450.
- [8]韦小敏,李先芳,李利红,等.桤柳两种不同快速繁殖途径的效果比较[J].福建林业科技,2006,33(3):88-90.