维普资讯 http://www.cqvip.com

均匀设计在香花槐组织培养中的应用

丁元春 胡蕙露*

(安徽农业大学林学与园林学院,安徽合肥 230036)

摘 要:采用均匀设计,考察不同基本培养基,蔗糖的浓度,以及不同激素种类、浓度和组合对香花槐茎段腋芽诱导的影响。试验结果表明:诱导茎段腋芽的最适培养基为"MS + 6-BA0.5mg/L + NAA0.01mg/L + 蔗糖60g/L"。

关键词:香花槐;组织培养;均匀设计

中图分类号 C344.4 **文献标识码** A **文章编号** 1007-7731(2006)12-42-02

Application of Uniform orthogonal Designing in Tissue Culture of *Robinia Psaudoacacia CV. Idaho*

Ding Yuanchun Hu Huilu (College of Forest and Garden, Anhui Agriculture University, Hefei Prov. 230036)

Abstract: The effects of optimum medium, saccharine and hormones in different combination and different concentrations on stalk induction of Robinia psaudoacacia cv. idaho were investigated by using uniform orthogonal design. The results indicated that the optimum media was MS + 6-BA0.5mg/L + NAA0.01mg/L + saccharine 60g/L for stalk induction.

Key words: *Robinia psaudoacacia* cv. idaho; tissue culture; uniform design

香花槐(*Robinia psaudoacacia* cv. idaho)为豆科刺槐属落叶小乔木,原产于西班牙,被称为园林中的奇珍异宝。香花槐极具观赏价值,每年5月、7月两次开花,可同时盛开200-500朵红花,花多而色泽艳丽,姿色典雅,芳香别致,花期长,是公园、庭院、街道、花坛、风景区等各种园林绿化的珍品,且耐寒抗旱,适应性强,南北皆宜,发展前景极其广阔。由于此树种扦插极难生根,常规情况下只能靠根繁或嫁接繁殖,远不能满足市场需求。进行组培快繁是解决这一矛盾的理想途径。香花槐的组培快繁研究国内已见报道[4]。本试验旨在利用均匀设计对香花槐茎段腋芽诱导培养基进行优化,选出最佳组合,同时,又能大大减少试验次数,降低成本,为工厂化育苗提供技术依据。

1 材料和方法

1.1 材料 从健壮母株上采取幼嫩枝条作为外植体。

1.2 方法

1.2.1 外植体的处理 将圃地采回的生长健壮、无病虫害的幼嫩枝条用自来水冲洗30min,剪去叶片(留叶柄),水分沥干后,将材料放置于超净工作台,在70%的酒精中消毒30s,取出用无菌水冲洗,再放入0.1%升汞加吐温-80 2滴[2]浸洗6min,无菌水漂洗5-6次至吐温漂净,将外植体取出放在超净工作台上的无菌纸上,吸干表面水分,待剪材与接种。

1.2.2 剪材、接种与培养 水分沥干后,用无菌剪刀将幼茎剪成1cm长的带腋芽小段,接种到各组培养基上,pH为5.8,以0.7%的琼脂固化,置温度25±2℃,光照强度1500-2500LUX,每日光照12 h的条件下进行培养,注意观察腋芽萌动情况,经培养20d时进行腋芽增殖统计。

1.2.3 芽数的计算标准 本试验以芽数作为考核目标,培养20d取出切割,以≥0.5cm为计数标准。

1.2.4 均匀设计 选取6-BA、NAA、蔗糖的不同浓度及不同基本培养基作为参选因素,分别标记为X1、X2、X3和X4,前3因素取6水平,基本培养基取2水平即2种培养基(表1),选用均匀设计表U6(64)[1-2]安排香花槐诱导茎段腋芽的试验方案(表2)。

表1 试验因素与水平

水平	X1 6-BA ($mg \cdot L^{-1}$)	X2 NAA ($mg \cdot L^{-1}$)	X3 蔗糖 ($g \cdot L^{-1}$)	X4 基本培养基
1	0.50	0.01	10.00	1/2MS
2	1.00	0.05	20.00	MS
3	1.50	0.08	30.00	
4	2.00	0.10	40.00	
5	2.50	0.15	50.00	
6	3.00	0.20	60.00	

表2 $U_6(6^4)$均匀设计试验方案

实验号	因素			
	X1(6-BA)	X2(NAA)	X3(蔗糖)	X4(培养基)
1	1(0.5)	2(0.05)	3(30)	2(MS)
2	2(1.0)	4(0.10)	6(60)	1(1/2MS)
3	3(1.5)	6(0.20)	2(20)	2(MS)
4	4(2.0)	1(0.01)	5(50)	1(1/2MS)
5	5(2.5)	3(0.08)	1(10)	2(MS)
6	6(3.0)	5(0.15)	4(40)	1(1/2MS)

每个处理接种8瓶,每瓶接种2个外植体。培养28d后测定各处理的芽数,对测定结果运用均匀设计软件和DPS软件处理数据,进行统计分析[3]。

2 结果与分析

接种4d后,休眠芽开始萌发,节段的芽眼位置有浅绿色突起,开始诱导出芽,培养10d后,开始形成小苗(见图1),20 d后形成丛苗(见图2)。取无污染的瓶统计分析不同水平下的芽数测定结果:1号试验芽数15.45,2号试验芽数4,3号试验芽数8.6,4号试验芽数2.3,5号试验芽数3.85,6号试验芽数1.6。

作者简介:丁元春(1984-),女,安徽巢湖人,安徽农业大学硕士研究生,园林植物与观赏园艺专业。

*通讯作者。 **收稿日期**:2006-10-20

维普资讯 http://www.cqvip.com

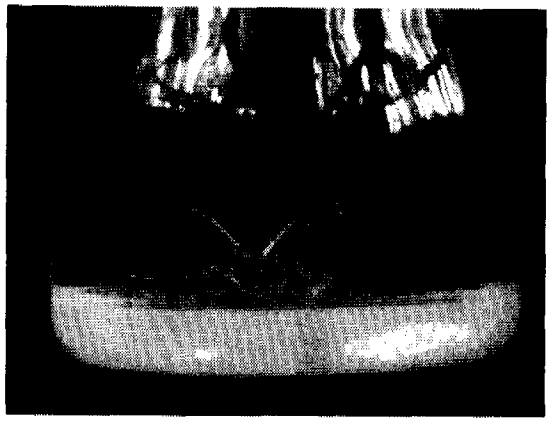

图1 培养10d后小苗

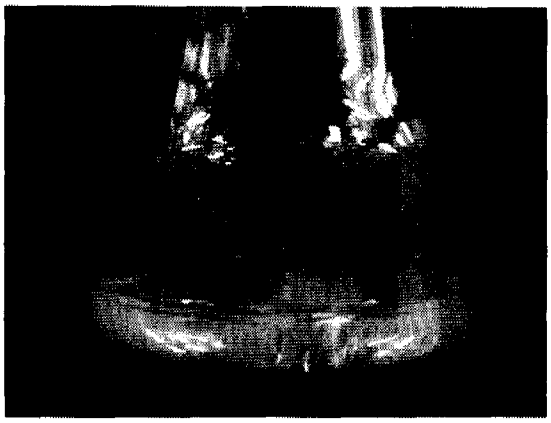

图2 培养20d后丛苗

2.1 回归分析 回归分析结果见表3和表4。

表3 第1次方差分析表

变异来源	自由度	平方和	均方	F值	F.2(4,1)
回归	K = 4	3.47424	0.86856	37.368*	13.644
剩余	N-1-k =1	0.02324	0.02324		
总离差	N-1=5	3.49749	0.69950		

表4 回归系数

变量	自由度	回归系数	标准误	T值	显著水平
INTERCEP	1	-1.42507	1.96609	-0.72483	0.54389
X1	1	-0.44996	0.27510	-1.63564	0.24355
X2	1	0.03351	0.06779	0.49429	0.67005
X3	0.68965	0.45823	1.50505	0.27124	
X4	1	2.42122	0.82978	2.91792	0.10012

由表可知因素X2的显著性概率P值最大(P=0.67005),是最不显著的因素,剔除X2后重新分析得到新的方差分析表5和回归系数表6。

表5 第2次方差分析表

变异来源	自由度	平方和	均方	F值
回归	3	3.46856	1.15619	79.951*
剩余	2	0.02892	0.01446	
总离差	5	3.49749	0.69950	

表6 回归系数

变量	自由度	回归系数	标准误	T值	显著水平
INTERCEP	1	-1.60103	1.52516	-1.04974	0.37094
X1	1	-0.43072	0.21481	-2.00515	0.13863
X3	1	0.70662	0.36042	1.96052	0.14478
X4	1	2.48340	0.64694	3.83866	0.03118

由回归系数表可知:每个自变量的显著性概率P值都小于0.2,说明因素X1、X3、X4对茎段腋芽诱导都是显著有效的。因素X4影响最大(P=0.03118),达极显著水平,因素X2的影响最小,未达显著水平,各因素的影响显著性依次为:X4、X1、X3、X2。得到的回归方程为:

$$\lg y = 1.60103 - 0.43072 * \lg X(1) + 0.70662 * \lg X(3) + 2.48340 * \lg X(4)$$

2.2 因素水平的优化 根据2次逐步回归,并剔除不显著试验因素NAA后,经试验优化后的结果:因素1(即6-BA)的最优条件为0.5 mg/L;因素3(即蔗糖)的最优条件为:60 g/L;因素4(即培养基)的最优条件为:2;因素2(即NAA)对芽的诱导没有显著影响。因此从节约成本的角度取其水平为:0.01mg/L。预期试验茎段萌芽数最大值:27.4 。最佳组合为MS + 6-BA0.5 mg/L + NAA 0.01mg/L + 蔗糖60 g/L 。

3 结论与讨论

3.1 优化设计试验结果 应用均匀设计进行了香花槐茎段腋芽诱导的试验。试验数据经回归分析,确定了主要影响因子,对试验的效应做出了准确的综合评价,从而选出香花槐茎段腋芽诱导的最优培养基MS+6-BA0.5mg/L + NAA0.01mg/L + 蔗糖60g/L。根据优化得出的蔗糖浓度与王侠礼等(2004)[5]的结果"蔗糖浓度为3%-4%时对提高新梢数量有利"相出入,因此有待进一步验证。

3.2 均匀设计法设置试验方案有利于试验效率 在植物组织培养过程中,常需要进行激素种类和浓度的配比试验,工作量相当大[6]。正交试验设计、正交拉丁方设计在因素、水平数较多时仍存在试验次数多、规模大等问题。在多因素、多水平的试验中采用均匀设计,具有试验次数少、可操作性强、节约时间和精力、迅速达到优化因素的效果,符合多因素复杂试验对试验条件一致性的要求,试验准确性高。在植物快繁中应用均匀设计探索培养基配方,将极大地提高工作效率,可应用于植物激素种类和浓度的筛选,以及探讨基本培养基的组成等,从而使植物组织培养的条件得到有效的控制[7]。如果在我国广泛推广均匀设计及其分析方法,将会大大提高工作效率及试验的准确性。

参考文献

[1]方开泰,王元. 均匀设计与均匀设计表[M]. 北京:科学出版社,1994.12-15

[2]陆美莲,许新萍,周厚高,符红霓. 均匀正交设计在百合组织培养中的应用[J]. 西南农业大学学报,2004,26(6):699-702

[3]孙书伟. 香花槐组织培养的初步研究[J]. 丹东纺专学报,2002,29(3):34-35

[4]王侠礼. 糖和激素对香花槐微体快繁的影响[J]. 山东林业科技,2004,154(5)14-16

[5]徐华松,唐巍. 均匀设计在植物组织培养中的应用[J]. 华南农业大学学报,1998,19(1):21-23

[6]张爱加,方金强,邱金海,吴德宜. 均匀设计在无籽西瓜快繁研究中的应用[J]. 福建果树,2003,127(4):1-3

[7]Fang K T, Winker P. Uniformity and orthogonality [R]. Technical Report MATH-176, HongKong: HongKong Baptist University, 1998.

(责编:张杨林)