

文章编号:1002-2724(2006)05-0011-03

多花银叶树组织培养研究*

王奇,胡秀,范贤熙,段晓梅,黄美娟,樊国盛,邓莉兰**

(西南林学院园林学院,云南 昆明 650224)

摘要:对多花银叶树组织培养研究中的增殖培养、幼芽伸长生长、壮苗培养、根诱导等进行了研究。结果表明:最佳丛芽增殖配方为 1/2MS+6-BA1.0mg/L+NAA0.01mg/L+B₉15mg/L+蔗糖 30g/L,最佳幼芽伸长生长配方为 1/2MS+BA1.5mg/L+NAA0.01mg/L+B₉5mg/L+蔗糖 30g/L,最佳壮苗培养配方为 1/2MS+6-BA0.05mg/L+NAA0.2mg/L+土豆汁 40%+蔗糖 30g/L,最佳生根配方为 1/2MS 改良+蔗糖 30g/L。

关键词:组织培养;多花银叶树;研究**中图分类号:**S793.9**文献标识码:**A

Study on Tissue Culture of *Leucadendron floridum*

Wang Qi et al.

(Faculty of Landscape Architecture, Southwest Forestry University, Kunming Yunnan 650224, China)

Abstract: This paper deals with proliferation culture, plumule elongation, strong plant culture and root inducing on tissue culture of *Leucadendron floridum*. The results show that the best medium of axillary shoot proliferation is 1/2MS+6-BA1.0mg/L+NAA0.01mg/L+B₉15mg/L+ sugar30g/L, the best medium of plumule elongation is 1/2MS+BA1.5mg/L+NAA0.01mg/L+B₉5mg/L+ sugar30g/L, the best medium of strong plant culture is 1/2MS+6-BA0.05mg/L+NAA0.2mg/L+ potato juice40%+ sugar30g/L, and the best medium of root inducing is 1/2Modified MS+ sugar30g/L.

Key words: tissue Culture; *Leucadendron floridum*; study

多花银叶树 (*Leucadendron floridum*), 是山龙眼科 (*Proteaceae*) 银叶树属 (*Leucadendron*) 的一种常绿灌木, 高 2m。叶有银色光泽, 花黄色, 直径约 2.6cm, 种子黑褐色, 三棱形, 长约 0.5cm, 宽 0.3~0.4cm, 花期 9~10 月。

本种原产于南非, 是南非的一种重要出口鲜切花, 具有较高的经济效益和生态效益。

在南非, 本种生产上主要采用播种育苗方式进行繁殖, 但得到的苗木良莠不齐。目前我国主要利用种子育苗, 但由于种子引进成本高, 数量少, 使得优良种质推广受到限制, 要达到在最短的时间内推广的目的, 通过组织培养进行快繁是一有效途径。

有关多花银叶树组织培养方面的研究, 还未见报道。为了加快多花银叶树优树的快繁和推广, 本文对多花银叶树组织培养中增殖培养、促进幼芽伸长生长、壮苗培养、根诱导等关键技术进行了探索研究。

1 材料与方法

1.1 材料

试验用材料为多花银叶树种子在无菌条件下发芽所得的幼苗。

1.2 方法

1.2.1 增殖培养和幼芽伸长生长正交试验

首先对 6-BA、KT、NAA、IAA、IBA 等生长调节剂不同浓度单因素进行试验, 发现 6-BA、NAA 对本种的丛芽分化和伸长生长作用最大。在以 MS 和 1/2MS 为基本培养基的对比试验中发现 1/2MS 比 MS 更适合植株的生长。在此基础上取无菌发芽所得的长约 1cm 的幼苗嫩茎, 以 1/2MS 为基本培养基, 选定 6-BA、NAA 两种生长调节剂和维生素 B₉, 添加 30g/L 蔗糖, 6.5g/L 琼脂, 进行 L₉(3⁴) 正交试验。每个处理 3 次重复, 每个重复接种 30 个芽。在每日光照 14 小时, 光照强度为 3000Lx, 温度为 (25±2)℃ 的条件下培养 40 天, 观测嫩茎抽芽数量和幼芽高度, 确定增殖培养和幼芽伸长生长的最佳配方。各参试因子水平见表 1。

表 1 正交试验因子、水平表

Table1 Factors and levels of orthogonal design

水平	因素		
	A	B	C
	6-BA(mg/L)	NAA(mg/L)	B ₉ (mg/L)
1	0.5	0.01	5
2	1.0	0.1	15
3	1.5	0.15	25

收稿日期:2006-08-11

* 基金项目:国家 948 项目资助(2003-4-20);西南林学院园林植物与观赏园艺省级重点学科资助(2002C02);云南省高校教师科研带头人基金资助(2004SW01)

** 通讯作者

1.2.2 壮苗培养

取增殖培养后所得的幼苗嫩茎,以 1/2MS 为基本培养基,各组均添加相同的浓度的细胞分裂素和生长素,向其中添加不同浓度的土豆汁、苹果汁、香蕉汁,均添加 30g/L 蔗糖、6.5g/L 琼脂,每个处理 3 次重复,每个重复接种 30 个芽。在每日光照 12 小时,光照强度为 3000Lx,温度为 (25 ± 2)℃ 的条件下培养 30 天,观察其生长状况。

制取添加物方法:土豆汁,称取 200g 去皮土豆加入 1000ml 蒸馏水,于烧杯中加热至沸后再煮 15min,冷却后取上清液。苹果汁,称取 200g 去皮苹果加入 1000ml 蒸馏水,于烧杯中加热至沸后再煮 15min。冷却后用漏斗加上滤纸,滤出清液。香蕉汁,称取 200g 去皮香蕉加入 1000ml 水于烧杯中加热至沸后再煮 15min。冷却后用漏斗加上滤纸,滤出清液。

1.2.3 生根培养

将长度约为 2cm 的嫩茎剪下,转入以 1/4MS、1/2MS、MS (改)、1/2MS(改)为基本培养基的生根培养基中进行根的诱导,培养基中附加不同浓度的 IBA 和蔗糖,6.5g/L 的琼脂,每个处理 3 次重复,每个重复接种 30 个芽,在每日光照 12 小

时,光照强度为 3000Lx,温度为 (25 + 2)℃ 的条件下培养 50 天,统计生根率、生根条数/株和根长度等指标,以及观察植株生长状况。

2 结果与分析

2.1 不同组合对丛芽诱导及促进幼芽伸长生长的影响

由表 2 得知,在丛芽诱导方面,第 1 组、第 4 组和第 5 组丛芽增殖倍数最高,达到 3.5 倍;在幼芽伸长生长方面,第 1、9 组高度最高,均超过 2cm。在诱导丛芽方面的最优组合为 A₂B₁C₂,其对应的浓度分别为 6-BA1.0mg/L、NAA0.01mg/L、B₃15mg/L。在促进幼芽伸长生长方面的最优组合为 A3B1C1 其对应的浓度分别为 6-BA1.5mg/L、NAA0.01mg/L、B₃5mg/L。

由极差分析(图 1)可知,在丛芽诱导方面外源激素中 6-BA 作用最大,其极值为 0.49,其次为 NAA,其极值为 0.36, B₃ 作用最小,其极值为 0.11;在促进幼芽伸长生长方面, B₃ 对促进幼芽伸长生长作用最大,其极值为 0.2, NAA 其次,极值为 0.16, 6-BA 作用最小,极值为 0.1。

表 2 生长调节剂正交试验排列及试验结果

Table2 Results of treatments crossed with all factors with different levels

试验号	因素			试验结果	
	A(6-BA)/(mg/L)	B(NAA)/(mg/L)	C(B ₃)/(mg/L)	增殖倍数	平均幼芽高度(cm)
1	0.5(1)	0.01(1)	5(1)	3.5	2.1
2	0.5(1)	0.1(2)	15(2)	3	1.5
3	0.5(1)	0.15(3)	25(3)	2.68	1.3
4	1.0(2)	0.01(1)	15(2)	3.5	1.6
5	1.0(2)	0.1(2)	25(3)	3.5	1.8
6	1.0(2)	0.15(3)	5(1)	3.25	1.4
7	1.5(3)	0.01(1)	25(3)	3.05	1.5
8	1.5(3)	0.1(2)	5(1)	2.66	1.7
9	1.5(3)	0.15(3)	15(2)	3.05	2.0
增	K1	3.06	3.35	3.14	
殖	K2	3.41	3.06	3.18	
倍	K3	2.92	2.99	3.07	
数	极差 R	0.49	0.36	0.11	
幼	K1	1.63	1.73	1.73	
芽	K2	1.6	1.67	1.7	
高	K3	1.73	1.57	1.53	
度	极差 R	0.1	0.16	0.2	

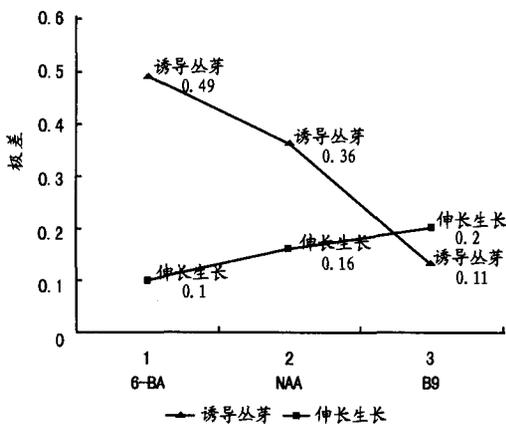


图 1 诱导丛芽与幼芽伸长生长极差分析图

2.2 壮苗培养

由表 3 得知,对壮苗效果明显的是第 1 组、第 2 组和第 4 组,效果最好的是第 2 组。土豆汁对植株茎的增粗生长以及愈伤组织的产生有明显的效果,苹果汁能产生少量的愈伤组织,但比较容易褐化。香蕉汁对植株茎的增粗生长无明显作用,且叶表现为发黄,生长状况不甚理想。由此可知土豆汁和苹果汁都对本种具有较好的壮苗作用,特别是土豆汁的效果最明显,在 40% 的浓度条件下最好。从试验结果综合比较得出:1/2MS + 6-BA0.05mg/L + NAA0.2mg/L + 土豆汁 40% + 蔗糖 30g/L 的培养基可作为本种较理想的壮苗培养基。

表 3 壮苗培养试验结果

Table3 The result of strong plant culture

试验号	因素			生长状况		
1	1/2MS	0.05mg/LBA	0.2mg/LNAA	20%土豆	基部产生愈伤组织	径稍粗
2	1/2MS	0.05mg/LBA	0.2mg/LNAA	40%土豆	基部产生愈伤组织	增粗
3	1/2MS	0.05mg/LBA	0.2mg/LNAA	20%苹果	无愈伤组织,基部褐化	纤细
4	1/2MS	0.05mg/LBA	0.2mg/LNAA	40%苹果	产生少量愈伤组织	稍粗
5	1/2MS	0.05mg/LBA	0.2mg/LNAA	20%香蕉	无愈伤组织,叶发黄	纤细
6	1/2MS	0.05mg/LBA	0.2mg/LNAA	40%香蕉	无愈伤组织,叶绿	纤细
7	1/2MS	0.05mg/LBA	0.2mg/LNAA	/	基部少量愈伤组织	无明显变化

2.3 根的诱导培养

表 4 诱导生根试验结果

Table4 Experimental results of root induction

试验号	因素			生根情况			
	A(IBA) (mg/L)	B(培养基)	C(蔗糖) (g/L)	生根率 (%)	生根条 (数/株)	平均根长 (cm)	植株生 长状况
1	0.5	1/4MS	30	46.0	5.0	0.6	叶发黄
2	1.0	MS 改	30	33.3	2.0	0.2	叶嫩绿
3	1.5	MS 改	30	50.0	6.0	0.4	叶嫩绿
4	2.0	1/4MS	30	91.6	5.5	1.2	叶稍黄
5	0.5	MS 改	20	53.3	8.0	0.5	叶嫩绿
6	1.5	1/4MS	20	41.6	4.0	0.4	叶稍黄
7	1.0	1/4MS	20	66.7	6.1	1.0	叶发黄
8	2.0	MS 改	20	33.3	1.6	0.5	叶稍黄
9	0	1/2MS	30	53.3	5.5	0.6	叶绿
10	0	1/2MS 改	30	92.3	6.5	0.9	叶绿

注:(MS 改)为大量元素中磷含量减少 2/3,钙含量减少 1/3,其它均不变

由表 4 得知在以不同倍数的 MS 和(MS 改)为基本培养基的条件下,生根率最高的两组分别为第 4 组的 91.6% 和第 10 组的 92.3%,但从两组的平均根长、生根条数/株和植株生长状况的表现综合来看,1/2(MS 改)培养基明显优于 1/4MS 培养基。且在以 1/4MS 为基本培养基的组中,虽可以达到高的生根率,但植株普遍表现为叶色发黄。在综合考虑之下,得出 1/4MS 不适合用作本种生根的基本培养基的结论。由试验结果及数据分析同时可以得知,当 IBA 的添加浓度为 2.0mg/L 时的生根率可达到最高,且添加 30 g/L 的蔗糖明显优于添加 20g/L。由于第 2、3、5、8 组的生根率普遍偏低,第 9 组的各项指标都不如第 10 组,得出(MS 改)和 1/2MS 都不是本种生根的最佳基本培养基的结论。因此,从试验结果综合比较可得知以 1/2(MS 改),不添加任何激素,添加 30g/L 的蔗糖的培养基可作为本种理想的生根培养基。

3 结论与讨论

3.1 在对多花银叶树进行增殖试验时发现,该种在以 1/2MS 为基本培养基,添加 1.0mg/L 的 6-BA 可以获得较理想的增殖效果,但从芽总体表现纤细,故在以后的试验中应对其进行了壮苗试验。在进行幼芽伸长生长试验时发现在向其中添加低浓度的 B₉ (5mg/L),可以获得较理想的幼芽伸长生长效果,添加的浓度若比之升高其伸长生长反而不太明显。

3.2 多花银叶树的壮苗培养效果不是很显著,其中土豆汁的效果最好,且添加浓度为 40% 的壮苗效果明显高于添加浓度为 20% 的壮苗效果,而添加浓度高于 40% 的土豆汁本次试验中未进行,因此可以进一步开展此项试验,以便获得更好

的壮苗效果。

3.3 在根的诱导培养过程中发现在以 1/2(MS 改)的培养基中,不添加任何激素,添加 30g/L 的蔗糖,每天光照 12h,生根率最高,为 92.3%,且同时发现当 IBA 的添加浓度达到 2.0mg/L 时同样可以达到较高的生根率,因此在以后的试验中可以尝试以 1/2(MS 改)为基本培养基,添加不同浓度 IBA 的组合,以获得更好的生根效果。

参考文献:

- [1] Rebelo, Anthony. PROTEAS: A Guide to the Proteas of Southern Africa[M]. FERNWOOD PRESS [SOUTHAFRICA]. 2001
- [2] 正交试验设计法编写组. 正交试验设计法[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1978
- [3] 谭文澄, 戴策刚. 观赏植物组织培养技术[M]. 北京: 中国林业出版社, 1991
- [4] 李艳菊, 陶加洪, 王兰珍, 久岛繁. 元宝枫组织培养研究[J]. 北京林业大学学报, 2005, 27(3): 104~107
- [5] 崔翠, 王季春, 何凤发, 周清元, 刘希忠, 李文斌. 不同 MS 和 B9 浓度对马铃薯脱毒试管苗生长的研究[J]. 西南农业大学学报, 2001, 23(5): 414~417
- [6] 游恺哲, 陈健, 林冠雄, 陈春锋, 李卫红, 陈国华, 吴坤林. 正交设计在成龄番木瓜组织培养中的应用[J]. 福建农业科技, 2003, 3: 11~12
- [7] 范贤熙, 胡秀, 王奇, 段晓梅, 黄美娟, 樊国盛, 邓莉兰. 木本切花极美泰洛泊的组织培养研究[J]. 西部林业科学, 2006, 2: 86~89