

木本切花植物极美泰洛泊的组织培养研究*

范贤熙, 胡秀, 王奇, 段晓梅, 黄美娟, 樊国盛, 邓莉兰
(西南林学院, 云南 昆明 650224)

摘要: 以木本切花植物极美泰洛泊在无菌条件下发芽所得的幼芽为外植体, 采用正交设计试验, 研究了不同水平的 6-BA、NAA 外源激素, 蔗糖、抗坏血酸对极美泰洛泊幼芽丛芽的增殖效果。试验结果表明为在 1/2 MS 基本培养基上 + 6-BA 0.5 mg/L + NAA 0.1 mg/L + 蔗糖 30 g/L + 抗坏血酸 15 mg/L, 其极美泰洛泊的丛芽增殖数达 6.7 个。而经极差分析, 得出用于该木本切花植物幼芽最佳丛芽增殖培养基的配方为 1/2 MS + 6-BA 0.5 mg/L + NAA 0.01 mg/L + 蔗糖 30 g/L + 抗坏血酸 15 mg/L。

关键词: 木本切花植物; 极美泰洛泊; 组织培养

中图分类号: S 604 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-8246 (2006) 02-0086-04

A Study on Tissue Culture of *Telopea speciosissima*FAN Xian-xi, HU Xiu, WANG Qi, DUAN Xiao-mei, HUANG Mei-juan, FAN Guo-sheng, DENG Li-lan
(Southwest Forestry College, Kunming Yunnan 650224, P. R. China)

Abstract: Taking the tender bud under the aseptic condition as the explant, experiments were carried out to study the effects of different exogenous hormones, cane sugar and ascorbic acid on proliferation of cluster buds. The results showed that under the medium of 1/2 MS + 6-BA 0.5 mg/L + NAA 0.1 mg/L + cane sugar 30g/L + ascorbic acid 15mg/L, and the number of proliferation was 6.7. The results of range analysis indicated the optical medium for cluster bud proliferation was 1/2 MS + 6-BA 0.5 mg/L + NAA 0.01 mg/L + cane sugar 30g/L + ascorbic acid 15mg/L.

Key words: woody cut flower; *Telopea speciosissima*; tissue culture

木本切花植物极美泰洛泊 (*Telopea speciosissima*) 是山龙眼科 (Proteaceae) 泰洛泊属 (*Telopea*) 的一种低矮常绿灌木, 主要分布于南非和澳大利亚^[1]。极美泰洛泊具有花大 (花冠直径达 7~10 cm)、色彩艳丽、瓶插时间长等优点, 是一种新型的切花及园林观赏植物。为丰富切花植物资源, 开发木本切花新产业, 西南林学院已从国外引进了本种植物。

1992 年国外就对极美泰洛泊的组织培养进行了研究^[2], 但以其组培苗作为生产材料未见报道 (国内尚未进行这方面的研究), 且研究中所获的

组培材料增殖倍数较低, 不能达到工厂化生产的要求^[3], 所以对极美泰洛泊的组培技术仍需进行深入的研究。开展本项研究除为极美泰洛泊切花的工厂化生产和该类切花在我国推广种植打下基础外, 也为解决我国引种过程中引种费用过大, 种质资源不足等问题。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

试验用的材料为极美泰洛泊种子在无菌条件下

* 收稿日期: 2006-01-11

国家 948 项目资助, 西南林学院园林植物与观赏园艺省级重点学科资助。

第一作者简介: 范贤熙 (1977-), 男, 硕士研究生, 主要从事园林植物与观赏园艺方面的研究。

发芽所得的幼苗。

1.2 试验方法

采用正交试验方法以 1/2 MS 为基本培养基, 作添加不同浓度 6-BA、NAA、蔗糖、抗坏血酸为培养基的组培效果试验。参试的各组培养基均加琼脂 6.5 g/L, 添加 6-BA 取 4 水平, 添加 NAA、抗坏血酸及蔗糖各取 2 水平。各参试因子及水平见表 1。选用 $L_8(4 \times 2^4)$ 表^[4], 其各试验组合见表 2。

表 1 参试因子及水平

Tab. 1 Factors and levels

水平	因子			
	A(6-BA) /mg · L ⁻¹	B(NAA) /mg · L ⁻¹	C(蔗糖) /g · L ⁻¹	E(抗坏血酸) /mg · L ⁻¹
1	0.5	0.01	20	10
2	1.0	0.1	30	15
3	1.5			
4	2.0			

按表 2 进行参试培养基的配制, 每组培养基加琼脂 6.5 g。每瓶分装培养基约 40 mL。在超净工作台上, 用无菌的已发芽的极美泰洛泊健壮幼苗接种于配制好的培养基上。每瓶接种 3 个幼芽, 每个处理接种 10 瓶。接种好的材料置于组织培养室中培养。培养温度为 $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$, $14 \text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$ 光照 + $8 \text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$ 黑暗, 光照强度为 3000 lx ^[5]。接种 30 天后, 各组均长出丛芽, 对丛芽数进行统计分析。

表 3 极美泰洛泊组培正交试验的数据分析

Tab. 3 Data analysis on tissue culture orthogonal experiment of *Teloepa speciosissima*

试验号	A(6-BA) /mg · L ⁻¹	B(NAA) /mg · L ⁻¹	C(蔗糖) /g · L ⁻¹	D	E(抗坏血酸) /mg · L ⁻¹	试验指标 /丛芽数 · 个 ⁻¹
1	0.5(1)	0.01(1)	20(1)	(1)	10(1)	6.4
2	0.5(1)	0.1(2)	30(2)	(2)	15(2)	6.7
3	1.0(2)	0.01(1)	20(1)	(2)	15(2)	6.1
4	1.0(2)	0.1(2)	30(2)	(1)	10(1)	5.6
5	1.5(3)	0.01(1)	30(2)	(1)	15(2)	6.4
6	1.5(3)	0.1(2)	20(1)	(2)	10(1)	3.8
7	2.0(4)	0.01(1)	30(2)	(2)	10(1)	4.3
8	2.0(4)	0.1(2)	20(1)	(1)	15(2)	5.7
K_1	13.10	23.20	22.00	24.10	20.10	T=45
K_2	11.70	21.80	23.00	20.90	24.90	
K_3	10.20					
K_4	10.00					
K_1	6.55	5.80	5.50		5.03	
K_2	5.85	5.45	5.60		6.23	
K_3	5.10					
K_4	5.00					
极差(R)	1.55	0.35	0.10	1.20		

注: 丛芽数 = 接种 30 天后每个组合的总丛芽数/每个组合接种的幼芽数。

表 2 正交试验设计

Tab. 2 Design of orthogonal experiment

试验号	A(6-BA) /mg · L ⁻¹	B(NAA) /mg · L ⁻¹	C(蔗糖) /g · L ⁻¹	D	E(抗坏血酸) /mg · L ⁻¹
1	0.5(1)	0.01(1)	20(1)	(1)	10(1)
2	0.5(1)	0.1(2)	30(2)	(2)	15(2)
3	1.0(2)	0.01(1)	20(1)	(2)	15(2)
4	1.0(2)	0.1(2)	30(2)	(1)	10(1)
5	1.5(3)	0.01(1)	30(2)	(1)	15(2)
6	1.5(3)	0.1(2)	20(1)	(2)	10(1)
7	2.0(4)	0.01(1)	30(2)	(2)	10(1)
8	2.0(4)	0.1(2)	20(1)	(1)	15(2)

2 结果与分析

2.1 6-BA、NAA 对丛芽分化的影响

从表 3 的极差分析得知, 添加 6-BA 及 NAA 的培养基都随着其添加浓度的升高, 而极美泰洛泊幼芽的诱导率逐渐变低(见图 1、图 2), 表明高浓度的细胞分裂素与生长素具有抑制极美泰洛泊幼芽丛芽分化的作用。极差分析表中 6-BA 的极值最大, 为 1.55。极值越大, 反映出在该因子的水平变动时, 指标的变化越大, 即该因子的不同水平对指标的影响越大^[5], 因此可知细胞分裂素 6-BA 对极美泰洛泊幼芽丛芽分化的影响最大。从中得出, 在基本培养基中添加 6-BA 以 0.5 mg/L 为最佳浓度, 而添加 NAA 对极美泰洛泊幼芽丛芽分化的影响较小, 以 0.01 mg/L 浓度的诱导效果较好。

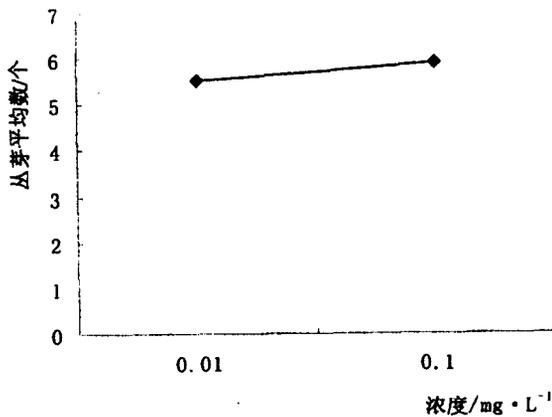


图1 不同浓度 NAA 的极美泰洛泊幼芽丛芽增殖效果

Fig. 1 Cluster bud proliferation of tender buds of *Telopea speciosissima* treated with NAA of different concentrations

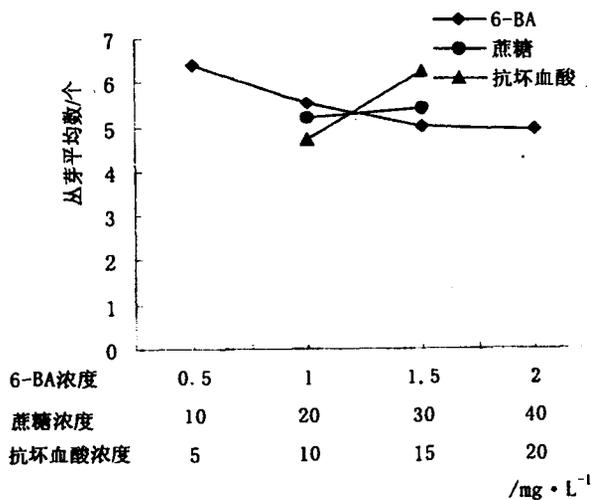


图2 不同浓度的 6-BA、蔗糖、抗坏血酸的极美泰洛泊幼芽丛芽增殖效果

Fig. 2 Cluster bud proliferation of tender buds of *Telopea speciosissima* treated with 6-BA, cane sugar and ascorbic acid of different concentrations

2.2 蔗糖、抗坏血酸对丛芽分化的影响

在 1/2 MS 基本培养基中添加蔗糖、抗坏血酸，在一定范围内随着其添加浓度的升高极美泰洛泊幼芽的丛芽分化增多(见图 2)。从极差分析表 3 的结果可知，抗坏血酸对极美泰洛泊幼芽丛芽分化的影响效果仅次于 6-BA，而蔗糖为 4 种因子中对其丛芽分化的影响最小。由本试验结果得出，在 1/2 MS 基本培养基中加抗坏血酸的浓度取 15 mg/L，加蔗糖的浓度取 30 g/L 对促进极美泰洛泊幼芽的

丛芽分化效果最好。

2.3 最优培养基的筛选

增殖的极美泰洛泊丛芽经转接 10 天后，即有丛芽萌动，30 天后，各组均长出丛芽。其试验的实际结果是第二组的增殖率最高，其平均丛芽数为 6.7 个(见图 3)，此最佳组合是 A₁B₂C₂E₂，各因子的组合为 6-BA0.5 mg/L，NAA0.1 mg/L，蔗糖 30 g/L，抗坏血酸 15 mg/L。而从表 3 得出的最优组合为 A₁B₁C₂E₂。从而得出以 1/2 MS 为基本培养基，其中添加 6-BA0.5 mg/L，NAA0.01 mg/L，蔗糖 30 g/L，抗坏血酸 15 mg/L，可作为极美泰洛泊幼芽组培的最优培养基。



图3 30 天后丛芽增殖图

Fig. 3 Cluster bud proliferation 30 days after transfer

3 讨论

据资料介绍和笔者所进行的大量山龙眼科植物组织培养试验结果，发现山龙眼科中的银桦属 (*Grevillea*)^[6-7]、银叶树属 (*Leucadendron*)、帕洛蒂属 (*Protea*) 的多种植物在 1/2 MS 培养基上均能组织培养成功，而在 MS 培养基上若不加抗坏血酸则会严重褐化。所以本次试验以 1/2 MS 为基本培养基，加添不同浓度的 6-BA、NAA、蔗糖、抗坏血酸作为增殖培养基，采用正交设计进行极美泰洛泊丛芽增殖培养试验，以确定 6-BA、NAA、蔗糖及抗坏血酸影响其丛芽增殖的主次作用，进而对极美泰洛泊幼芽的组培增殖效应做出准确的评价。本次试验筛选出的在 1/2 MS 培养基上添加 6-BA、NAA、蔗糖及抗坏血酸的最佳配方为 A₁B₁C₂E₂，即 6-BA0.5 mg/L + NAA0.01 mg/L + 蔗糖 30 g/L + 抗坏血酸 15 mg/L。这并不是试验中的配方，而

是经极差分析所得的结果, 这是正交试验的优点所在, 通过次数不多的试验即可得出理想的结果, 可节省试验时间与经费, 提高工作效率。本次试验以在极美泰洛泊幼芽组培的 1/2 MS 基本培养基中添加 6-BA 为其参试的主要因子, 试验获得添加 6-BA 的最佳浓度水平为 0.5 mg/L, 添加的浓度若比之升高则极美泰洛泊丛芽的增殖受到抑制。而添加低于 0.5 mg/L 水平的 6-BA 在本次试验中未进行, 因此应进一步开展此项试验, 以便确定更适合的 6-BA 浓度。

参考文献:

[1] Beadle, Evans, Carolin. Flora of the Sydney Region

[M]. Kyodo Print Co. Ltd, Tokyo, 1976.

[2] Offord, C. A., Campbell, L. C., Mullins M. G.. Micropropagation of *Teloepa speciosissima* [J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 1992(29): 215 - 221.

[3] S Salvin, M Bourke and A Byrne. The New Crop Industries Handbook [J]. Rural Industries Research and Development Corporation Publication, 2004(4): 125.

[4] 中国科学院数学研究所数理统计组. 正交试验法 [M]. 北京: 人民教育出版社, 1975.

[5] 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, 1999.

[6] 陈正华. 木本植物组织培养及其应用 [M]. 北京: 高等教育出版社, 1986.

[7] 余朝秀, 关文灵. 野百合组织培养的研究 [J]. 西部林业科学, 2005, 34(2): 76-78.