

红叶石楠快繁条件优化

崔波, 马杰, 袁秀云, 张仙云 (郑州师范高等专科学校生物工程研究所, 河南郑州 450044)

摘要 [目的]为了优化红叶石楠的快繁条件。[方法]通过 $L_{16}(4^3)$ 正交试验, 配置不同基础培养基、不同植物激素种类及水平对红叶石楠不定芽进行增殖培养。[结果]不同因素影响红叶石楠快繁的大小顺序为: 基础培养基>6-BA>NAA。B₅ 培养基为最佳培养基。6-BA 浓度为 1.0~2.0 mg/L 时不定芽数变化不明显; 6-BA 浓度为 2.0~4.0 mg/L 时不定芽数随浓度的提高显著增加, 在浓度为 4.0 mg/L 时最多, 平均增殖系数达到 22.38, 继续增加 6-BA 浓度到 8.0 mg/L 时不定芽数则明显减少。NAA 浓度为 0.05~0.20 mg/L 时不定芽数随 NAA 浓度的提高而增加, 在浓度为 0.20 mg/L 时平均增殖系数最高, 达到 20.25; 当 NAA 浓度从 0.20 mg/L 逐渐增加到 0.40 mg/L 时不定芽数呈下降趋势。因此确定最优水平组合为 B₅+6-BA 4.0 mg/L+NAA 0.20 mg/L。[结论]该方法可快速优化红叶石楠的快繁条件, 有效提高红叶石楠的增殖效率。

关键词 红叶石楠, 快繁, 正交试验

中图分类号 Q943.1 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2008)08-03201-02

Optimization on Culture Conditions for Rapid Propagation of *Photinia fraseri* by Orthogonal Design

CUI Bo et al (Bioengineering Institute, Zhengzhou Teacher's College, Zhengzhou, Henan 450044)

Abstract [Objective] The aim was to study the optimal culture conditions of the rapid propagation of *Photinia fraseri*. [Method] The different basic media, the phytohormones and their different levels were chose to culture adventitious bud of *Photinia fraseri* to optimize the culture conditions by orthogonal experimental design. [Result] The effect of different influences on rapid multiplication of *Photinia fraseri* was in order: Basal medium>6-BA>NAA. And B₅ was the best medium. The number of adventitious bud had an light change when the concentration of 6-BA was 1.0~2.0 mg/L. The number of adventitious bud increased obviously when the concentration of 6-BA was 2.0~4.0 mg/L, and that was most with average multiplication coefficient 22.38 at 4.0 mg/L. But the number of adventitious bud decreased obviously when the concentration of 6-BA was 4.0~8.0 mg/L. The number of adventitious bud increased obviously when the concentration of NAA was 0.05~0.20 mg/L. But the number of adventitious bud decreased when the concentration of NAA was 0.20~0.40 mg/L. The best treatment for subculture of *Photinia fraseri* was B₅+6-BA 4.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L. [Conclusion] The culture conditions for rapid propagation of *Photinia fraseri* could be optimized with the experiments based on the orthogonal design, then effectively improved the efficiency of rapid propagation of *Photinia fraseri*.

Key words *Photinia fraseri*; Rapid propagation; Orthogonal test

关于红叶石楠的叶片、茎尖等外植体的诱导及再生情况前人已经做了一些研究^[1-3], 但应用正交试验优化其快繁条件的报道尚未看到。为此, 笔者在前期工作的基础上, 应用正交设计对红叶石楠的快繁条件进行了优化。

1 材料与方法

1.1 材料 红叶石楠不定芽。

1.2 方法

1.2.1 正交试验 $L_{16}(4^3)$ 设计。因子与水平设计见表 1。参照文献[4-5]配制表 1 中培养基各 1 000 ml, 均附加蔗糖 3%, 琼脂 0.8%, pH 值 5.8±0.1。

表 1 $L_{16}(4^3)$ 正交试验因子与水平设计

Table 1 Factors and level design of $L_{16}(4^3)$ orthogonal test

水平 Levels	因子 Factors	因子 Factors	因子 Factors
	培养基 A Culture medium A	6-BA B//mg/L	NAA C//mg/L
1	MS	1.0	0.05
2	WPM	2.0	0.10
3	B ₅	4.0	0.20
4	N ₆	8.0	0.40

1.2.2 培养方法。前期培养均选用同一种培养基, 培养 20 d 对红叶石楠丛生苗进行切分, 将单苗分别接种于配制好的 1~16 号培养基中, 培养 30 d 统计增殖芽数, 同时记录株高。

1.2.3 培养条件。培养温度(25±2)℃, 光照度 2 500 lx, 光照时间每天 12 h。

2 结果与分析

红叶石楠的增殖培养结果见图 1。由图 1 可知, 增殖后的丛苗非常密。

表 2 为正交试验结果。从表 2 可以看出, 基础培养基是



图 1 红叶石楠增殖培养结果

Fig. 1 Results of propagation culture of *Photinia fraseri*

影响红叶石楠增殖系数的主要因素, 其次是细胞分裂素 6-BA, 再次是生长素 NAA。最优水平组合为 A₃B₃C₃, 即 B₅+6-BA 4.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L。

经方差分析可知, 因子 A (培养基) 的临界值 $F_{0.01} > F > F_{0.05}$, 表明基础培养基的改变对红叶石楠不定芽的增殖数有显著影响。6-BA 和 NAA 的 $F < F_{0.05}$, 说明其对试验指标的影响不明显, 但从其效应曲线中(图 2)可以很明显地看出, 6-BA 和 NAA 处理不定芽增殖平均数相差很大。6-BA 在浓度 1.0~2.0 mg/L 时, 不定芽数变化不明显, 在 2.0~4.0 mg/L 时不定芽数显著增加, 平均增殖系数达到 22.38, 继续增加 6-BA 的浓度到 8.0 mg/L 时, 不定芽数则明显减少。NAA 的浓度在 0.05~0.20 mg/L 时, 不定芽数随 NAA 浓度的提高而增

作者简介 崔波(1962-), 男, 河南沁阳人, 研究员, 从事生物技术研究, E-mail: laocuibob@163.com。

收稿日期 2007-12-24

表2 $L_{16}(4^3)$ 正交试验结果
Table 2 Result of orthogonal test $L_{16}(4^3)$

编号 No.	培养基 A Culture medium A	6-BA B	NAA C	平均芽数 Average bud number//个
1	1	1	1	6.2
2	1	2	2	11.2
3	1	3	3	31.7
4	1	4	4	12.0
5	2	1	2	11.0
6	2	2	1	9.0
7	2	3	4	7.7
8	2	4	3	7.0
9	3	1	3	25.0
10	3	2	4	28.0
11	3	3	1	35.6
12	3	4	2	30.0
13	4	1	4	24.3
14	4	2	3	17.3
15	4	3	2	14.5
16	4	4	1	9.1
R	20.98	7.85	5.282	

加,平均数最高,达到 20.25 个;当 NAA 的浓度从 0.20 mg/L 逐渐增加到 0.40 mg/L 时,不定芽数呈下降趋势。这说明 NAA 的浓度水平与不定芽分化有密切关系,较高浓度的 NAA (1.00 mg/L) 不利于不定芽分化。

3 结论与讨论

用正交设计法优化植株组培条件,省时省力,用较少的试验次数可以得到较多的信息,从而选出主要因素及其最优水平^[6-7]。该研究通过 $L_{16}(4^3)$ 正交试验优化了红叶石楠的快繁条件,得到最优水平组合为 $B_3+6-BA 4.0 \text{ mg/L}+NAA 0.2 \text{ mg/L}$ 。优化后改善了原来增殖效率低的状况,在较短的时间内试验植株扩增了几十倍,经过壮苗,生根,移入温室,最终

(上接第 3117 页)

酶活性的影响有非常显著的差异。已有的研究表明,POD 具有 IAA 氧化酶活性^[9],因此推测补照红光对植物幼苗株高、株重具有的促进作用可能与降低细胞内 IAA 氧化酶的活性有关。关于蛋白质,补照红光或补照白光对植物也有非常显著的差异。综上所述,补照红光或补照白光对植物幼苗生长的影响可能与照光的不同时期以及植物的类型有关,但是具体的作用机制还有待于进一步研究证实。

参考文献

- [1] 顾雪松,陈章良,朱玉贤,等.光敏色素与光调控[J].植物学报,1997,39(7):675-681.
- [2] QUAIL P H. Phytochrome: A light-activated molecular switch that regulates plant gene expression[J]. Annu Rev Genet. 1991, 25: 389-409.
- [3] KAUFMAN L. Transduction of blue light signals [J]. Plant Physiol, 1993, 102: 333-337.
- [4] KENDRICK R E, KRONENBERG G H M. Photomorphogenesis in plants[M]. 2nd Edition. Dordrecht: Kluwer, 1994.
- [5] 刘玉颖,廖祥儒,徐景智,等.补充光照对番茄幼苗生长的影响[J].河北大学学报:自然科学版,2002,22(1):51-54.
- [6] 王维荣.光质对黄瓜种子萌发过程中过氧化物酶活性及蛋白含量的

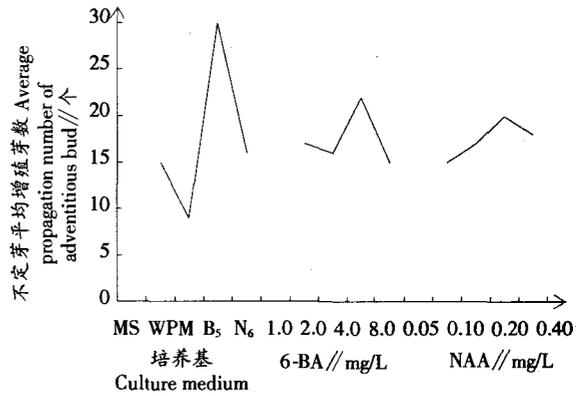


图2 不定芽增殖效应曲线

Fig. 2 Effect curve of the propagation of adventitious bud

取得了大量的再生植株。

参考文献

- [1] 李慧.红叶石楠茎尖组织培养与快速繁殖[J].植物资源与环境学报,2004,13(3):62-63.
- [2] 王红梅,王然,董晓颖.红叶石楠的组织培养与快速繁殖[J].莱阳农学院学报,2004,21(3):238-240.
- [3] 何蔚蔚,马杰,崔波.红叶石楠的组织培养技术研究[J].河南科学,2004,22(5):646-647.
- [4] 中国科学院上海植物生理研究所,上海市植物生理学会.现代植物生理学实验指南[M].北京:科学出版社,1999:374-376.
- [5] 王玉英,高新.植物组织培养技术手册[M].北京:金盾出版社,2006:35-54.
- [6] 徐晓峰,黄学林.应用正交设计建立青花菜植株的再生体系[J].广西植物,2002,22(6):513-516.
- [7] 金青,蔡永萍,文汉,等.利用正交法筛选试管米麻增殖生长的培养基[J].安徽农业大学学报,2004,31(2):219-222.
- [8] 影响[J].上海农业学报,1991,7(4):17-20.
- [7] 车生泉.光质对小苍兰茎尖试管培养的影响[J].园艺学报,1997,24:269-273.
- [8] 魏胜林.蓝光和红光对菊花开花的影响[J].园艺学报,1998,25:203-204.
- [9] 储钟稀,童哲,冯丽洁,等.不同光质对黄瓜叶片光合特性的影响[J].植物学报,1999,41(8):867-870.
- [10] 廖祥儒,张蕾,徐景智,等.补充光照对番茄幼苗生长和结果的影响[J].河北大学学报:自然科学版,2003,23(1):55-58.
- [11] 朱广廉,钟海文,张爱琴.植物生理学实验[M].北京:北京大学出版社,1990,51-53.
- [12] AMAKO K, CHEN G X, ASADA K. Separate assays specific for peroxidase and guaiacol peroxidase and for the chloroplastic and cytosolic isozymes of ascorbate peroxidase in plants [J]. Plant Cell Physiol, 1994, 35: 497-504.
- [13] BRADFORD M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of proteins utilizing the principle of protein dye binding[J]. Anal Biochem, 1976, 72: 248-254.
- [14] GILLOTT M A, ERDOS G, BUETOW D E. Light-induced chloroplast differentiation in soybean cells in suspension culture [J]. Plant Physiol, 1991, 96: 962-970.
- [15] NORMANLY J. Auxin metabolism[J]. Physiol Plant, 1997, 100: 431-442.