

聊红槐离体快繁技术

邱艳昌¹ 段祖安²

(1. 聊城大学 山东 聊城 252059; 2. 山东农业大学)

[摘要] 以聊红槐为试验材料,对其组织培养的初代培养进行研究,采用 L16(44×23)型正交试验设计,研究了不同浓度的 ZT、NAA 配对外植体叶片或嫩茎段诱导率的影响。通过对试验结果的观察、比较和方差分析,得出不同浓度 ZT 与 NAA 配比对愈伤组织的诱导有不同的影响,嫩茎段的诱导率高于叶片, WAP + ZT6 mg/L + NAA0.3 mg/L 为最适培养基。

[关键词] 聊红槐 组织培养 快繁技术 培养基

聊红槐是蝶形花科槐属国槐的栽培变种。树姿美观,树冠圆形,冠大荫浓,对二氧化硫、氯气、氯化氢等有害气体和烟尘的抗性强,是深受欢迎的绿化树种之一。它是温带阳性树种,稍耐阴,深根性,应用范围广,适应性强,抗性强,耐寒、耐旱、耐湿性强、喜部分或全日光照。聊红槐花大色红、艳丽多彩,圆锥形花序顶生于枝条,是当前乔木树种中极少的夏季红花系品种之一,观赏价值高,成为目前最流行的红花乔木绿化树种之一,市场需求十分巨大。本试验对聊红槐的组织培养快繁技术进行了初步的研究,选择出进行组培快繁的最佳外植体、适宜的培养基和最佳的激素浓度配比,为进一步研究聊红槐组织培养及在省内、外园林绿化中快速推广应用,提供技术性支持。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本试验材料为聊红槐实生变异品种,以叶片和嫩茎段为外植体。

1.2 试验方法

试验因素确定为 4 种: ZT, NAA, 培养基, 外植体。采用 L16(42×23)正交试验设计(见表 1)。

1.2.1 培养基配制 按照 MS、WAP 基本配方配制培养基,其中蔗糖取 30 g/L,琼脂取 7 g/L。配制 1 000 mg/L 的 ZT 和 NAA 的母液,然后根据试验设计,算出各处理组所取的生长调节物质的量。每个处理 300 mL 分装到 15 个 100 mL 的三角瓶内,高温高压下灭菌 20 min。

1.2.2 外植体的处理 选取健壮幼嫩的聊红槐,预培养 3~5 d,取其叶片和嫩茎段作为外植体,接种前

先用流水冲洗大约 30 min 左右,吸水纸吸干,然后于无菌室内的超静工作台上,用 70%乙醇消毒 30 s,然后 0.1%升汞消毒 5 min,无菌水清洗 2~3 次。

1.2.3 接种 将叶片切成 5 mm×5 mm 方块(含主脉),嫩茎段 5 mm 左右,接种到培养基上。

1.2.4 培养条件 培养室温度 24~26℃,光照 12~14 h,光强 2 000 lx。

2 结果与分析

2.1 试验结果

每天对各处理组形成愈伤组织的情况进行观察记录,其中第 15 天的记录结果见表 2。

2.2 结果分析

2.2.1 不同因素对愈伤组织形成

表 1 聊红国槐初代培养正交试验

处理号	A	B	空 空		C	D	空
	ZT (mg/L)	NAA(mg/L)	3	4	培养基	外植体	列
1	1(1)	1(0.1)	1	1	1(MS)	1(叶片)	1
2	1	2(0.3)	2	2	1	2(嫩茎段)	2
3	1	3(0.5)	3	3	2(WAP)	1	2
4	1	4(0.7)	4	4	2	2	1
5	2(3)	1	2	3	2	2	1
6	2	2	1	4	2	1	2
7	2	3	4	1	1	2	2
8	2	4	3	2	1	1	1
9	3(6)	1	3	4	1	2	2
10	3	2	4	3	1	1	1
11	3	3	1	2	2	2	1
12	3	4	2	1	2	1	2
13	4(8)	1	2	2	2	1	1
14	4	2	4	1	2	2	1
15	4	3	3	4	1	1	1
16	4	4	1	3	1	2	2

表2 聊红国槐初代培养15 d的观测结果

处理 /组	处理 /瓶	污染 /瓶	污染率 /%	死亡率 /瓶	死亡率 /%	诱导 /瓶	诱导率 /%
1	15	3	20.00	0	0	1	8.3
2	15	2	13.33	0	0	13	100
3	15	1	6.67	2	13.33	12	85.7
4	15	9	60.00	0	0	6	100.00
5	15	1	6.67	1	6.67	13	92.8
6	15	1	6.67	3	20.00	11	78.5
7	15	2	13.33	1	6.67	12	92.3
8	15	5	33.33	1	6.67	8	80.00
9	15	2	13.33	0	0	12	92.3
10	15	5	33.33	0	0	10	100.00
11	15	2	13.33	0	0	13	100.00
12	15	2	13.33	4	26.67	9	69.2
13	15	0	0	2	13.33	13	86.6
14	15	2	13.33	0	0	13	100
15	15	10	66.67	2	13.33	3	60.00
16	15	0	0	1	6.67	14	93.3

注:诱导率=未污染外植体诱导数/未污染外植株总数×100%

污染率=接种污染数/接种总数×100%

死亡率=未污染死亡数/未污染总数×100%

表3 不同因素不同水平条件下的诱导率

不同 因素	不同 水平	污染 /瓶	死亡 /瓶	诱导数 /瓶	诱导率 /%	总数 /瓶
外植体	叶片	27	14	66	71.1	120
	嫩茎段	21	3	96	96.97	120
	差值	6	11	-30	25.87	0
培养基	MS	29	18	73	80.22	120
	WAP	18	9	90	88.24	120
	差值	11	9	-7	-02	0
NAA 浓度 (mg/L)	0.1	6	3	39	72.22	60
	0.3	10	3	47	94.00	60
	0.5	15	5	40	88.89	60
	0.7	16	6	37	84.09	60
	最小值	6	3	37	72.22	60
	最大值	16	6	47	94.00	60
	差值	10	3	10	21.78	0
ZT 浓度 (mg/L)	1	2	2	32	55.17	60
	3	6	9	44	81.48	60
	6	4	10	44	78.57	60
	8	5	10	43	78.18	60
	最小值	2	2	32	55.17	60
	最大值	6	10	44	81.48	60
	差值	4	8	12	26.31	0

情况的影响 嫩茎段在第5天茎端就开始膨大,第8天所有嫩茎处理组都有嫩茎端膨大的现象,第10天开始出现愈伤组织,第12天所有能被诱导的嫩茎均出现愈伤组织;叶片在第4天叶缘开始出现皱缩,第7天所有的以叶片为外植体的处理组均有叶片出现皱缩,第10天开始出现愈伤组织,第13天所有能被诱导的叶片均出现愈伤组织。通过分析可以发现,嫩茎段出现愈伤组织要比叶片早1~2 d,而且嫩茎段的生长状态也明显的优于叶片。但是叶片从开始出现愈伤组织到全部出现愈伤组织的大约需要12~13 d,而嫩茎段从开始形成愈伤组织到全部出现愈伤组织的大约需要10~12 d,因而叶片比嫩茎段的整齐度要高。由试验记录发现不同的培养基,不同浓度的NAA,不同浓度的ZT对愈伤组织形成早晚以及愈伤组织形成的整齐度的影响都不是很明显。

2.2.2 不同因素处理组诱导率的分析比较 根据试验记录及表2,统计不同因素不同水平条件下各处理组的诱导率见表3。

从表3可以看出,叶片和嫩茎段对愈伤组织的诱导率的影响差别很大,而且用片时死亡率大大增加,这主要是由于叶片接种时容易被烫伤导致,培养基WAP和MS对愈伤组织的诱导率的影响(诱导率差值8.02)相对于外植体对愈伤组织诱导率的影响(诱导率差值25.87)要小的多。不同浓度NAA对愈伤组织的诱导率的影响(最大差值为21.78),对于外植体对愈伤组织诱导率的影响(诱导率差值25.87)较小,但是相比培养基WAP和MS对愈伤组织的诱导率的影响要大的多,其中NAA的浓度为0.3 mg/L时愈伤组织的诱导率最高,高达94%。不同浓度的ZT对愈伤组织的诱导率的影响(诱导率最大差值为26.31)相对于外植体对愈伤组织

诱导率的影响(诱导率差值 25.87)较大,相比培养基 WAP 和 MS 对愈伤组织的诱导率的影响要大的多,但是相对于除了第一个梯度差别大,其它 3 个均差别很小。不同浓度 ZT 愈伤组织的诱导率不同,其中在浓度为 6.0 mg/L 时,愈伤组织诱导率最高,为 81.48%。

2.2.3 不同因素的方差分析 采用 SPSS10.0 统计分析软件包对试验观察数据资料进行方差分析和多重比较,由极差 R 分析可知,4 因素对试验结果影响的主次顺序为 B(NAA)、D(外植体)、A(ZT)、C(培养基)。结论和观察记录结果是相吻合的,为直观起见,以各因素作横坐标,R 值作纵坐标,各因素的指标关系如图 1。

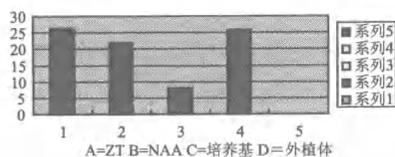


图1 R 值分析直观图

以各因素的水平作横坐标,指标值作纵坐标,各因素的指标关系如图 2。

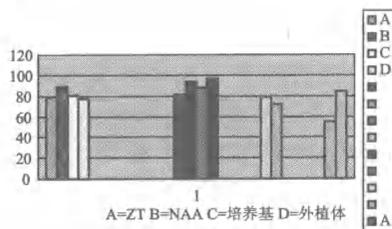


图2 各因素指数关系

由图 2 可知,ZT 因素中以 3 水平的诱导率最高,NAA 因素中以 2 水平的诱导率最高,培养基因素中以 2 水平的诱导率最高,外植体以 2 诱导率最好。因此可知,平均诱导率最高的组合为 A3B2C2D2 即: ZT6 mg/L + NAA0.3 mg/L + WAP 培养基 + 嫩茎段为最佳处理组合。由方差分析可知:A(ZT)、B(NAA)、C(培养基)差异不显著,但

是 D(外植体)间差异显著。用 spss10 软件计算并采用 LSR 检验,结果表明外植体水平差异显著,其中 D2(嫩茎段)显著高于 D1(叶片),说明嫩茎段为聊红槐愈伤组织诱导的最佳外植体,次要因素 A(ZT)B(NAA),C(培养基)可按照 Xmas 确定较优水平,因素 A 的较优水平是 A3,B 因素的较优水平 B2,C 因素的较优水平是 C2。

3 结论

(1)聊红槐组织培养较易产生愈伤组织,愈伤组织形成较好。

(2)通过直接观察,处理组 8 形成愈伤组织早,诱导率高相同时间生长量大。

(3)通过综合分析得出平均诱导率最高的组合为 A3B2C2D2 即: ZT6 mg/L + NAA0.3 mg/L + WAP 培养基 + 嫩茎段为最佳处理组合。

(4)通过方差分析最终得出:外植体是差异最显著因素,嫩茎段为聊红槐愈伤组织诱导的最佳外植体。

参考文献

1 赵春仙,姜贵平. 优良观叶植物红枫及其繁殖栽培技术[J]. 山

东林业科技,2002(4):33

2 郑均宝,张玉满,王雪蕊等. 腊梅的组织培养[J]. 北京林业大学学报,1995,17(增刊1):108~113

3 梁海永,郑均宝,王进茂,等. 常春藤的组织培养[J]. 河北林果研究,1998,13(1):86~90

4 李玉巧. 金边常春藤快繁试验[J]. 江苏林业科技,1992,19(3):17~18

5 于亚军,代汉萍,李宝江. 植物激素和生长调节剂在果树组织培养中的应用[J]. 北方园艺,2002,(6):68~70

6 韦弗 RJ. 农业中的植物生长物质[M]. 中国科学院植物研究所植物生理生化研究室,译. 北京:科学出版社,1979

7 王光萍,黄敏仁. 福建山樱花的组织培养及植株再生[J]. 南京林业大学学报:自然科学版,2002,26(3):73~75

8 韩美丽,唐玉贵. 几种天南星科荫生观叶植物组织培养研究[J]. 广西林业科技,1998,27(2):53~56★

特快专递 Newsletter

发展玫瑰花种植市场前景广

玫瑰是集药用、食用、美容、化工、绿化于一体的木本植物,适宜大田、荒山荒坡种植。玫瑰具有适应性强,抗寒、抗旱、耐贫瘠,抗病力强的特点。玫瑰 2~3 a 进入盛花期,收获期达 15~20 a。产鲜花 300~600 kg 左右/667 m²,可加工成干花 75~150 kg。

近几年来,玫瑰花、玫瑰花茶、玫瑰花蕾、玫瑰干花蕾等产品市场需求量逐年上升,价格节节上涨,年均上涨 40% 以上。玫瑰花收购价涨至每千克 7~10 元,药材市场涨至每千克 30~40 元,玫瑰花蕾已涨至每千克 40~60 元,玫瑰干花蕾价格攀升到了每吨 11 万~16 万元。值得注意的是,我国从玫瑰花中提炼的玫瑰油已畅销国内外市场,其价值是黄金的 1~2 倍;加工制作的玫瑰花茶畅销国内、港、澳、台地区及日本、韩国、东南亚等国家,价格是普通花茶的 2~3 倍。

市场调查显示,我国药用、食用、化工用及出口玫瑰花年需求量在 30 万 t 以上,而目前产量只有几万吨,与市场需求相差甚远。目前,我国玫瑰花只在山东、安徽、河南、甘肃等少数省份种植,面积只有几千亩。因此,扩大玫瑰花的种植前景十分广阔。