

四倍体刺槐优良无性系间组织培养比较

董丽芬, 邢世海, 张宗勤

(西北农林科技大学 林学院, 陕西 杨陵 712100)

摘要:通过对四倍体刺槐 K_2 、 K_5 无性系芽增殖基本培养基和激素配比比较试验研究, 其结果表明: K_2 、 K_5 无性系芽增殖各指标在不同培养基、不同激素浓度配比情况下生长趋势表现均基本一致; K_2 、 K_5 无性系适宜的基本培养基为 MS; 芽增殖最佳激素配比为: 6-BA 1.0 mg/L + NAA 0.5 mg/L + IBA 0.5 mg/L。

关键词:四倍体刺槐; 组织培养; 培养基; 植物激素

中图分类号:S792.270.5 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-7461(2003)04-0041-03

Studies on Buds Proliferation between Different Types of Tetraploid Locust Trees in Vitro for Rooting

DONG Li-fen, XING Shi-hai, ZHANG Zong-qin

(College of Forestry, NW Sci-Tech Univ. of Agr. and For., Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: Studies on buds proliferation between different types of tetraploids locust trees in vitro were performed to select the optimal medium and the supplements of different growth regulators and their combinations for proliferation. The results showed: both K_2 and K_5 strain present the same regularity in average stat. of buds proliferation; MS medium was the optimal medium suitable to buds proliferation of the tree in vitro. Different plant growth regulators and their combinations were supplemented to MS basic medium to check their influence on shoots culture. By multi-variance analysis. It could inferred that the optimal combination was 6-BA 1.0 mg/L + NAA 0.5 mg/L + IBA 0.5 mg/L.

Key words: the tetraploids of locust; tissue culture; medium; plant growth regulators

四倍体刺槐是从韩国引入到我国的刺槐 (*Robinia pseudoacacia*) 优良无性系, 是人工诱变植株^[1]。分用材型 (tetraploid locust) 和饲料型 (gigas type locust) 两大类。用材型具有速生、干形直、材质好、抗性强的特点^[2]; 饲料型具有速生、叶宽大, 非常适宜作为动物饲料的特点。发展四倍体刺槐对加快西部生态建设具有现实意义。但是四倍体刺槐由于引进的繁殖材料有限, 嫁接^[5]、扦插等常规无性繁殖方法扩大繁殖的速度慢, 难以满足需求, 采用组织培养技术进行快速繁殖是最好的途径。在现有的四倍体刺槐组培研究中^[1~4], 未见针对品系培养及品系间培养比较的报道, 本文选用适宜于我国西部地区栽植的 K_2 和 K_5 四倍体刺槐优良无性系^[6], 进行品系

间芽增殖培养比较研究, 为四倍体刺槐优良无性系的快速推广提供依据, 以期在西部退耕还林中发挥一定的作用。

1 材料与方法

1.1 材料

选用四倍体刺槐优良无性系 K_2 、 K_5 1a 生嫁接苗带腋芽茎段。

1.2 方法

1.2.1 芽增殖基本培养基培养比较 选用 MS、1/2MS、LS 和 WPM 四种基本培养基, 各基本培养基中均附加 1.0 mg/L 6-BA + 0.5 mg/L NAA, 蔗糖含量为 30 g/L。将 K_2 、 K_5 两个四倍体刺槐无性系经启

收稿日期: 2003-03-03

基金项目: 国家科技部专项资金项目“防沙治沙林木优良品种快繁技术研究”(2001188)

作者简介: 董丽芬 (1946-), 女, 陕西长安人, 教授, 研究方向为林木种苗繁育。

动培养产生的无根试管苗分别接种在这 4 种培养基上,每无性系一处理接种 10 瓶,各做 3 次重复,1 月后进行观察统计。

1.2.2 芽增殖最佳激素配比培养比较 在经基本培养基培养比较,筛选出四倍体刺槐 K_2 、 K_5 无性系适宜的基本培养基基础上,附加激素 6-BA、IBA、NAA,每种激素 4 个水平,均为 0.5、1.0、1.5、2.0 mg/L。其浓度组合采用交互作用的 $L_{32}(4^9)$ 正交表进行正交试验设计。培养所用外植体是四倍体刺槐无性系 K_2 、 K_5 的带腋芽茎段,接种在 MS + 6-BA 1.0 mg/L + GA₃ 0.5 mg/L 培养基上进行启动培养,获得的试管苗作为芽增殖培养实验材料。每无性系一处理接种 10 瓶,各做 3 次重复,1 月后进行观察统计。

1.2.3 培养条件 培养温度为 $25 \pm 2^\circ\text{C}$;相对湿度为 75%;光照为 1 000 lx,12 h/d;培养基 pH5.8。

2 结果与分析

2.1 基本培养基培养的筛选

在 MS、1/2MS、LS、WPM 培养基上附加 1.0 mg/L 6-BA + 0.5 mg/L NAA,蔗糖含量为 30 g/L 的情况下对四倍体刺槐 K_2 、 K_5 无性系芽诱导及增殖试验,选择苗高和丛生芽数作为观察指标,用 10 瓶的平均苗高与丛生芽数,3 个重复,4 种培养基每个指标共 12 个数据。对 K_2 、 K_5 无性系分别作单因素方差分析(表 1)。

表 2 芽增殖培养基激素配比的方差分析

Table 2 Variance analysis on different plant growth regulators combination of buds proliferation

方差来源	自由度	芽 高		芽 数		丛生芽发生率		
		K_2	K_5	K_2	K_5	K_2	K_5	
6-BA	3	3.13	2.76	6.81*	7.67*	42.19**	25.42**	$F_{0.01}(3,4) = 16.7$
NAA	3	8.80*	7.34*	7.01**	1.34	4.23	0.53	$F_{0.05}(3,4) = 6.59$
IBA	3	6.60*	9.22*	1.43	1.15	1.47	0.76	$F_{0.01}(9,4) = 14.7$
6-BA × NAA	9	3.20	0.27	0.41	0.53	9.53*	7.00*	$F_{0.05}(9,4) = 6.00$
BA × IBA	9	2.13	0.89	0.91	0.28	7.41*	6.55*	
误差	4							

培养基上芽增殖各指标值经方差分析(表 2),结果表明,6-BA 的不同水平间四倍体刺槐 K_2 、 K_5 无性系的丛生芽数和丛生芽发生率存在显著性差异;NAA 的不同水平间 K_2 、 K_5 无性系的芽高生长存在显著性差异, K_2 的丛生芽数存在显著性差异;IBA 的不同水平间 K_2 、 K_5 无性系的芽高生长存在显著性差异,丛生芽数差异不显著;6-BA × NAA 和 6-BA × IBA 对四倍体刺槐 K_2 、 K_5 无性系丛生芽的发生率存在显著性差异。

6-BA、NAA、IBA 不同水平对试管苗芽增殖各指

表 1 基本培养基筛选方差分析

Table 1 Variance analysis on selecting the optimal basal medium

变异来源	自由度	苗 高		丛生芽数		
		K_2	K_5	K_2	K_5	
培养基间	3	4.69*	4.36*	7.07*	6.00*	$F_{0.01}(3,8) = 7.59$
误差	8					$F_{0.05}(3,8) = 4.07$
总 和	11					

经方差分析表明,不同基本培养基对四倍体刺槐 K_2 、 K_5 无性系的芽高生长和丛生芽数存在显著性差异。进而就 2 个指标对培养基间进行多重比较(LSD 法 $LSD_{\text{苗高}} = 0.184$, $LSD_{\text{丛生芽数}} = 0.336$)表明,2 无性系在不同培养基上苗高生长及丛生芽增殖表现趋势基本一致, K_2 、 K_5 均表现出苗高生长以 MS 和 WPM 培养基为优,与 LS、1/2MS 存在显著差异;丛生芽增殖均以 MS 增殖最多、且健壮,与其它 3 种培养基差异显著,综上认为 MS 为 K_2 、 K_5 无性系适宜的基本培养基。

2.2 激素对芽增殖的影响

在芽增殖适合的基本培养基上,附加不同水平激素 6-BA、IBA、NAA,其浓度对比对四倍体刺槐 K_2 、 K_5 无性系芽诱导及增殖各指标影响的实验,由正交实验设计 $L_{32}(4^9)$ 安排试验,根据试验结果数据,分 2 个无性系,对芽高、芽数和丛生芽发生率指标分别作正交试验的方差分析(表 2)。

四倍体刺槐 K_2 、 K_5 无性系在不同激素组合培

标的影响经多重比较分析(K_2 品系的 $LSD_{\text{芽高}} = 0.195$, $LSD_{\text{芽数}} = 0.452$, $LSD_{\text{芽发生率}} = 2.625$; K_5 品系的 $LSD_{\text{芽高}} = 0.128$, $LSD_{\text{芽数}} = 0.308$, $LSD_{\text{芽发生率}} = 3.734$),综合方差分析和多重比较结果表明:6-BA 对于 K_2 无性系 2 水平较好,对于 K_5 无性系 2、3 水平较好,与其它水平差异显著;NAA 对于 K_2 无性系 1、2 水平较好,对 K_5 无性系 1 水平较好;与其它水平差异显著;IBA 对 K_2 无性系 1 水平较好,对 K_5 无性系 1~3 水平较好,与其它水平差异显著。

6-BA × NAA、6-BA × IBA 对试管苗芽增殖生长

各指标统计均值见表3。

表3 激素交互作用试管苗芽增殖各指标统计均值

Table 3 Average stat. of buds proliferation by influence of interaction among 6-BA and NAA, IBA

因素水平			芽高均值/cm				芽数均值/个				丛生芽发生率/%			
6-BA	NAA	IBA	K ₂		K ₅		K ₂		K ₅		K ₂		K ₅	
1	1	1	2.883	3.037	2.682	2.866	5.16	5.14	4.56	4.44	85.74	82.18	85.32	81.38
1	2	2	2.877	2.717	2.760	2.575	4.82	4.84	4.34	4.47	80.64	82.21	81.16	82.10
1	3	3	2.779	2.842	2.647	2.588	4.02	4.09	3.68	3.78	78.76	76.08	76.97	76.34
1	4	4	2.759	2.696	2.235	2.294	3.68	3.60	3.34	3.23	71.52	74.19	72.52	73.16
2	1	1	3.204	2.825	2.992	2.654	5.35	4.38	4.57	3.88	85.76	84.94	87.76	85.10
2	2	2	2.776	2.817	2.624	2.78	4.55	4.02	4.04	3.48	82.13	76.84	81.64	79.30
2	3	3	2.778	2.990	2.684	2.827	4.41	5.18	3.92	4.40	79.87	79.16	78.92	78.38
2	4	4	2.864	2.992	2.750	2.790	3.98	4.72	3.62	4.21	77.92	80.72	77.74	80.02
3	1	1	2.854	2.792	2.724	2.662	4.70	4.74	4.18	4.14	82.46	82.10	79.40	80.14
3	2	2	2.658	2.719	2.557	2.620	4.54	4.50	4.11	4.16	81.20	80.56	78.40	79.66
3	3	3	2.724	2.770	2.612	2.676	3.87	3.80	3.41	3.38	78.96	78.48	77.80	78.24
3	4	4	2.722	2.676	2.593	2.528	3.37	3.44	3.00	3.02	75.44	75.92	73.25	74.80
4	1	1	2.980	2.948	2.873	2.807	4.61	4.62	4.08	3.92	82.96	81.89	83.75	84.06
4	2	2	2.770	2.874	2.722	2.566	4.30	4.27	4.02	3.89	80.51	77.78	82.52	81.04
4	3	3	2.959	2.896	2.73	2.863	4.60	4.65	4.10	3.70	79.53	78.10	82.72	79.34
4	4	4	2.864	2.853	2.679	2.856	4.30	4.26	3.70	3.92	80.14	80.34	80.95	78.84

各指标均值经多重比较检验(K₂ 无性系的 $LSD_{芽高} = 0.586$, $LSD_{芽数} = 1.822$, $LSD_{芽发生率} = 5.625$; K₅ 品系的 $LSD_{芽高} = 0.813$, $LSD_{芽数} = 1.584$, $LSD_{芽发生率} = 5.734$)结果表明:对 K₂ 无性系而言,6-BA × NAA 以水平 2 × 1 和 1 × 1 较好,6-BA × IBA 以水平 1 × 1、1 × 2、2 × 1、2 × 4、3 × 1、3 × 2、4 × 1 较好;对 K₅ 无性系而言,6-BA × NAA 以水平 2 × 1 和 1 × 1 较好,6-BA × IBA 以水平 1 × 1、1 × 2、2 × 1、4 × 1 较好。

对以上单因素和交互作用综合分析可以得出,四倍体刺槐 K₂、K₅ 无性系各激素水平及其配比对芽增殖生长的影响有差异,但趋势基本一致,6-BA 以第 2 水平为优,NAA 和 IBA 以第 1 水平为优,6-BA × NAA 以水平 2 × 1 为优,6-BA × IBA 以水平 2 × 1 为优,所以 K₂、K₅ 无性系芽增殖激素最优配比为 2 × 1 × 1,即 6-BA 1.0 mg/L + NAA 0.5 mg/L + IBA 0.5 mg/L,此激素配比芽生长健壮、高度和粗度均匀,便于切割,可直接从增殖培养转入生根培养。

3 结论

四倍体刺槐 K₂、K₅ 无性系基本培养基、芽增殖

最佳激素配比实验的结果表明,K₂、K₅ 无性系芽增殖各指标各种培养基及激素配比情况下,生长有差异,但趋势表现一致。

四倍体刺槐 K₂、K₅ 无性系芽增殖最适宜的基本培养基均为 MS 培养基。

四倍体刺槐 K₂、K₅ 无性系芽增殖的最优激素配比为 6-BA 1.0 mg/L + IBA 0.5 mg/L + NAA 0.5 mg/L。

参考文献:

[1] 王树芝,田砚亭,李云. 四倍体刺槐无性系组织培养技术的研究[J]. 核农学报,2002,16(1):40-44.
[2] 王树芝,田砚亭,罗晓芳. 刺槐宽叶和四倍体无性系的组织培养[J]. 植物生理学通讯,1999,35(3):204-205.
[3] 孙满芝,王庆玲,乔伟. 四倍体刺槐组培中生长调节物质应用的研究[J]. 山东林业科技,2001,(5):17-19.
[4] 郭军战,舒庆艳. 四倍体刺槐组织培养中的外植体选择和消毒[J]. 西北林学院学报,2002,17(1):15-18.
[5] 撒文清,魏安智. 西部地区生态环境建设的优良树种四倍体刺槐[J]. 新疆林业,2002,(3):48.
[6] 常金龙,刘春铁,李丽丽,等. 四倍体刺槐嫁接育苗技术[J]. 河北林业,2002,(3):29.