

美国红枫的组织培养研究

宗树斌¹,周春玲¹,牛立军²,刘和风³,段春玲³

(1.莱阳农学院,青岛266109;2.北京林业大学;3.山东省林木种苗站)

摘要:作者以美国红枫为试验材料,对美国红枫组织培养的初代培养进行研究。采用 $L_{16}(4^4 \times 2^3)$ 型正交试验设计,研究了不同浓度的6-BA,IAA配比以及外植体叶片或嫩茎诱导率的影响。通过对试验结果的观察、比较和方差分析,得出不同浓度6-BA与IAA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+0.6-BA6mg/L+IAA0.3mg/L为最适培养基。

关键词:红枫;组织培养;培养基

中图分类号:S723.1+32

文献标识码:A

美国红枫(*Acer rubrum*)别名:红花槭、北方红枫、北美红枫、沼泽枫等,属槭树科槭属,原产于美国东北部。属于大型乔木,树型圆形,整洁优美。叶、花、果观赏价值均高,秋天叶子由黄绿色变为黄色,最后成为红色。春天开花,花红色。果实有翅,红色。其适应范围广,适应性、抗性强。耐寒耐旱耐湿性强。喜部分或全日照。美国红枫喜欢潮湿、肥沃的土壤。也能适应多种土壤类型,对土壤pH值的忍受范围也很宽。对土壤中盐碱度很敏感。忍耐最低气温-40℃,在所有枫树品种中,它对气候条件的忍耐范围最宽。对臭氧和二氧化硫有一定抗性^[4]。分布从北到南,穿越了加拿大和美国的大片东部地区。在夏威夷也有栽培。美国红枫生长速度快,每年达0.6~1m。寿命在100年左右^[5]。美国红枫是美国最受欢迎的绿化树种之一。被广泛用于公园、小区、街道等绿化美化场所,既可以做园林造景又可以作行道树,深受人们的喜爱^[6]。

美国红枫作为目前最流行的彩色绿化树种之一,市场需求十分巨大。但是目前对美国红枫的引进、应用方面的研究,还处在起步阶段。对美国红枫繁育技术进行研究,特别是快速繁育技术的研究非常少。本试验通过对美国红枫的组织培养快繁技术的初步研究,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及配比。为以后对美国红枫的组织培养研究的进一步进行以及为美国红枫在山东地区乃至全国的快速推广应用,发挥其园林绿化功效,提高园林绿化水平,提供基础性、技术性支持。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本试验材料为美国红枫实生苗,购自青岛蓝森环保科技有限公司,株高10~20cm。以叶片和嫩茎段为外植体。

1.2 试验方法

试验对4种因素:6-BA、IAA、培养基、外植体采用 $L_{16}(4^2 \times 2^3)$ 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30g/L,琼脂取8g/L。配制500mg/L的IAA和6-BA的母液,然后根据试验设计计算出各处理组应取生长调节物质的量。每个处理600ml分装到15瓶100ml的三角瓶内。在121℃下高压灭菌20min。

表1 美国红枫初代培养正交试验表

处理号	空		空		空	
	A	B	列	列	C	D
	6-BA(mg/L)	IAA(mg/L)	3	4	培养基	外植体
1	1(0.2)	1(0.1)	1	1	1(MS)	1(叶片)
2	1	2(0.3)	2	2	1	2(嫩茎段)
3	1	3(0.5)	3	3	2(WAP)	1
4	1	4(0.7)	4	4	2	2
5	2(0.4)	1	2	3	2	2
6	2	2	1	4	2	1
7	2	3	4	1	1	2
8	2	4	3	2	1	1
9	3(0.6)	1	3	4	1	2
10	3	2			1	1
11	3	3			2	2
12	3	4	4	3	2	1
13	4(0.8)	1	1	2	2	1
14	4	2	2	1	2	2
15	4	3	2	2	1	1
16	4	4	4	1	1	2
			3	4		1
			1	3		2

1.2.2 外植体的处理

选取健壮、完整、幼嫩的美国红枫,取其叶片和嫩茎段作为外植体。接种前先用流水冲洗大约20min左右,同时用小软刷去掉尘土,再用吸水纸吸干;然后用70%乙醇漂洗30s。再用10%次氯酸钠消毒5min,最后用无菌水清洗数次,用无

菌纸吸干水后接种。

1.2.3 接种

将叶片切成 5mm × 5mm 方块(含主脉),嫩茎段 5mm 左右,接种到培养基上,操作均在无菌操作台上进行。

1.2.4 培养

在温度为 24℃ ~ 26℃,光照为 12 ~ 14h,光强为 1000lx 的荧光灯的条件下培养。

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 10d 的记录结果如表 2 所示。

表 2 美国红枫初代培养第 10d 的试验结果

处理组	处理数 (瓶)	污染数 (瓶)	污染率 (%)	死亡数	死亡率 (%)	诱导数 (瓶)	诱导率 (%)
1	15	3	20	0	0	1	8.33
2	15	2	13.33	0	0	13	100
3	15	1	6.67	2	13.33	12	85.71
4	15	9	60	0	0	6	100
5	15	1	6.67	1	6.67	13	92.86
6	15	1	6.67	3	20	11	78.57
7	15	2	13.33	1	6.67	12	92.31
8	15	5	33.33	1	6.67	8	80
9	15	2	13.33	0	0	12	92.31
10	15	5	33.33	0	0	10	100
11	15	2	13.33	0	0	13	100
12	15	2	13.33	4	26.67	9	69.23
13	15	0	0	2	13.33	13	86.67
14	15	2	13.33	0	0	13	100
15	15	10	66.67	2	13.33	3	60
16	15	0	0	1	6.67	14	93.33

注:诱导率 = 未污染外植体诱导数/未污染外植体总数 × 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%

2.2 结果分析

2.2.1 不同因素对愈伤组织形成情况的影响

嫩茎段在第 2d 茎端就开始膨大,第 5d 所有嫩茎处理组都有嫩茎端膨大的现象,第 7d 开始出现愈伤组织,到第 8d 所有能被诱导的嫩茎均出现愈伤组织;叶片在第 3d 叶缘开始出现皱缩,到第 6d 所有的以叶片为外植体的处理组均有叶片出现皱缩,第 7d 开始出现愈伤组织,到第 9d 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 2 ~ 3d,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(能被诱导的)出现愈伤组织的大约需要 6 ~ 7d,而嫩茎段从开始形成愈伤组织到全部(能被诱导的)出现愈伤组织的大约需要 9 ~ 10d,因而叶片比嫩茎段的整齐度高。

由试验记录发现不同的培养基,不同的 IAA 浓度,不同的 6-BA 浓度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污染瓶数、死亡瓶数、诱导瓶数、计算诱导率见表 3。

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	6	11	-30	25.87	0	
	培养基	29	18	73	80.22	120	
培养基	WAP	18	9	90	88.24	120	
	差	11	9	-17	-8.02	0	
	IAA 浓度	0.1	6	3	39	72.22	60
	(mg/L)	0.3	10	3	47	94	60
IAA 浓度	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	60	
6-BA 浓度	差	10	3	10	21.78	0	
	0.2	2	2	32	55.17	60	
	(mg/L)	0.4	6	9	44	81.48	60
	0.6	4	10	44	78.57	60	
6-BA 浓度	0.8	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	4	8	12	26.31	0	

从表 3 中我们可以看出,叶片和嫩茎段对愈伤组织的诱导率的影响差别很大,而且用叶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的。

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 IAA 对愈伤组织的诱导率的影响(诱导率最大差值为 21.78)相对于外植体对愈伤组织诱导率的影响(诱导率差值 25.87)较小,但是相比培养基 WAP 和 MS 对愈伤组织的诱导率的影响(诱导率差值 8.02)要大的多。其中 IAA 的浓度为 0.3mg/L 时愈伤组织的诱导率最高,高达 94%。

不同浓度的 6-BA 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(诱导率差值 8.02)要大的多,但是相对于除了第一个梯度差别大,其它三个均差别很小。

不同浓度 6-BA 愈伤组织的诱导率不同,其中在浓度为 0.4mg/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(IAA) - D(外植体) - A(6-BA) - 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。

文章编号:1002-2724(2006)01-0003-04

葡萄组培苗适宜生长基质研究初探

杜振宇¹, 马海林¹, 马丙尧¹, 王清华¹, 王德明², 袁素萍¹

(1.山东省林业科学研究院, 济南 250014; 2.胶州市林业局)

摘要:以花生壳基质为主要材料与多种常用基质材料配合成的9种基质,并以康乃尔无土混合基质为对照,进行葡萄组培苗移栽试验,测定了各基质的理化性质,调查了葡萄组培苗移栽成活率及茎粗、株高、根长、叶片数等生长指标。试验结果表明,不同基质对葡萄组培苗生长的影响有明显差异,50%花生壳基质+25%蛭石+25%泥炭、80%花生壳基质+20%蛭石等配合基质的应用效果明显优于对照。

关键词:葡萄;组培苗;基质

中图分类号:S663.1

文献标识码:A

近年来随着葡萄酒业的迅速发展,酿酒葡萄的种植规模有了较大提高。利用组培技术快速培育酿酒葡萄优质

种苗是一条扩大生产的有效途径。组培苗在培养基生根后,需要经过在温室中驯化壮苗,才能移植到大田。在这一过程

收稿日期:2005-08-02

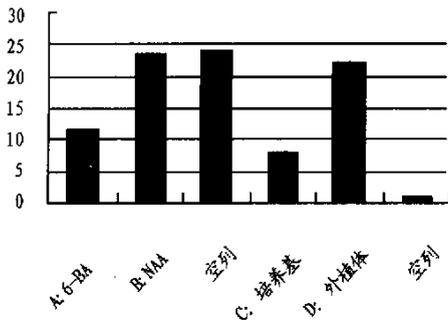


图1 R值分析直观图

以各因素的水平作横坐标,指标值作纵坐标,各因素的关系如图2。

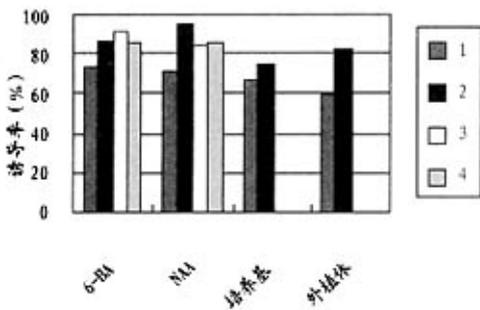


图2 各因素指数关系图

由图2可知,6-BA因素中以3水平的诱导率最高,IAA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(6-BA0.6mg/L+IAA0.3mg/L+WAP培养基+嫩茎段为最佳处理组合)。

种苗是一条扩大生产的有效途径。组培苗在培养基生根后,需要经过在温室中驯化壮苗,才能移植到大田。在这一过程

由方差分析可知:A(6-BA)、B(IAA)、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),说明嫩茎段为美国红枫愈伤组织诱导的最佳外植体,次要因素A(6-BA)、B(IAA)、C(培养基)可按照X_{max}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

3.1 美国红枫组织培养较易产生愈伤组织,愈伤组织形成较好。

3.2 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。

3.3 通过综合分析得出平均诱导率最高的组合为A₃B₂C₂D₂(6-BA0.6mg/L+IAA0.3mg/L+WAP培养基+嫩茎段为最佳处理组合)。

3.4 通过方差分析最终得出:外植体是差异最显著因素,嫩茎段为美国红枫愈伤组织诱导的最佳外植体。

参考文献:

- [1]Aurrillaga I, Merkle SA. Regenerating plant from in vitro cultuer of blackocust cotyledon and leaf explants hortScience[J]. 1993, 24(9):942~945
- [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]吴丽圆.蓝桉组织培养的研究[J].云南林业科技,1996,76(3):19~24
- [4]刘桂兰,观赏植物在园林应用中的突出重点与展示多样性问题[J].承德民族职业技术学院学报,2001(3):57~58
- [5]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
- [6]包英华.植物组织培养技术的应用[J].韶关学院学报(自然科学版),2002(4):26~28