

多因子正交试验对鞭炮花丛生芽诱导条件的筛选

高 健 强

(铜仁学院 生化系 贵州 铜仁 554300)

摘 要: 利用正交试验设计方法探讨 6-BA、NAA、2,4-D 和蔗糖对丛生芽诱导影响。结果表明: 蔗糖和 6-BA 的浓度对鞭炮花丛生芽诱导的影响最大, 高浓度的 2,4-D 对于愈伤组织的诱导和增殖具有良好的促进作用, 但对芽的分化有抑制作用。筛选出诱导鞭炮花丛生芽的最适培养基为 MS+2.0 mg/L 6-BA+1.4 mg/L NAA+25 g/L 蔗糖+0.7%琼脂。该培养基可使外植体一步诱导出苗, 并获得移栽成活的植株。

关键词: 正交试验设计; 鞭炮花; 丛生芽; 诱导

中图分类号: S 681.903.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001—0009(2008)11—0155—02

鞭炮花(*Crossandra pungens*, 别名吉祥草、炮仗竹、爆仗竹、爆竹花), 炮仗竹属玄参科, 多年生常绿草本植物, 耐修剪, 能保持植株的优美。爆竹花的筒状花酷似点火欲燃的鞭炮, 盛开于翠绿而纤细的枝条上, 给人以喜庆热烈的感觉。可盆栽或吊盆栽种, 装饰阳台、庭院或悬挂于廊下, 效果都很好。鞭炮花一般采用扦插繁殖, 但成活率较低, 并且鞭炮花喜温热, 不耐寒, 因此在我国北方地区难以越冬^[1]。组织培养是快速繁殖鞭炮花的有效途径, 关于鞭炮花组织离体培养虽有报道^[2], 但愈伤组织分化率较低。研究以鞭炮花幼叶为外植体, 采用正交试验设计方法, 对影响鞭炮花丛生芽发生的因素进行分析, 筛选出诱导鞭炮花丛生芽的最佳条件, 为鞭炮花大量微体快繁和优良种质保存奠定了良好的基础。

1 材料与方法

以鞭炮花叶片为外植体, 用流水冲洗 3 h, 在无菌条件下经 70%酒精消毒 45 s, 再用无菌水冲洗 1~2 次, 然后用 0.1%的升汞浸泡 8 min, 无菌水冲洗 4~5 次, 接种于不同的不同处理的培养基上。以 MS 培养基为基本培养基, 附加不同浓度的 6-BA、NAA、2,4-D 和蔗糖, 参照蒋向辉等^[3-4]的方法设计正交试验 $L_9(3^4)$ 的方案, 按正交试验表形成不同配比的培养基, 培养基中琼脂为 0.7%, pH 值 5.8 采用透明玻璃锥形瓶培养, 每瓶含培养基大约 25 mL, 每一处理接种 5 瓶, 每瓶 5 个外植体。培养基的详细配比见表 1。培养条件: 温度 $(26\pm2)^{\circ}\text{C}$, 光照强度 $30\sim40\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 每日光照 10 h, 14 h 黑暗。鞭炮花叶片接种于无菌培养基 60 d 后统计分化系数。统计方法参照盖钧益方法^[4], 用 SPSS13.0 软件

分析数据。

表 1 鞭炮花丛生芽诱导正交设计 $L_9(3^4)$ 结果

组合号	因子				平均每瓶丛生芽总数
	A	B	C	D	
1	1.5	0.6	0	21	23
2	1.5	1	0.4	25	28
3	1.5	1.4	0.8	29	15
4	2	0.6	0.4	29	27
5	2	1	0.8	21	27
6	2	1.4	0	25	32
7	2.5	0.6	0.8	25	29
8	2.5	1	0	29	18
9	2.5	1.4	0.4	20	29
K ₁	86	79	73	79	
K ₂	66	73	84	89	
K ₃	76	76	71	60	
M ₁	28.67	26.33	24.33	26.33	
M ₂	22.00	24.33	28.00	29.67	
M ₃	25.33	25.33	23.67	20.00	
R	6.67	2.0	4.33	9.67	

注: K 为同一因子同一水平丛生芽总和, M 为平均数, R 为极差; 1, 2, 3 分别为不同的水平。A: 6-BA (mg/L); B: NAA(mg/L); C: 2,4-D(mg/L); D: 蔗糖(g/L)。

2 结果与分析

2.1 丛生芽的诱导

鞭炮花幼叶接种 8~10 d 后, 各切口周围出现了浅黄色的愈伤块, 愈伤诱导率为 100%, 20 d 左右愈伤开始变绿, 35 d 左右出现大小各异、数目不等的丛生芽(图 1、2)。表 1 结果表明: 4 种因子对鞭炮花丛生芽诱导影响差异较大, 其顺序为: 蔗糖>6-BA>2,4-D>NAA。最佳培养基组合为 $A_2B_3C_1D_2$, 即 MS+2.0 mg/L 6-BA+1.4 mg/L NAA+25 g/L 蔗糖+0.7%琼脂。对不同因子处理的不定芽数进行方差分析发现, 培养基中 6-BA 与蔗糖浓度对不定芽分化的影响达到显著水平。2,4-D 作为植物生长调节剂物质, 它最显著的作用是引起脱分化和未组织化的细胞生长。研究通过对 2,4-D 单因素

作者简介: 高健强(1972-), 男, 湖南桃江人, 硕士, 讲师, 主要从事植物遗传与育种研究工作。E-mail: gaojianqiang72@126.com。
收稿日期: 2008-05-27

作用的比较分析发现,高浓度的 2,4-D 虽然对于愈伤组织的诱导和增殖有较好的促进作用,但对芽的分化表现出一定的抑制作用,这与郝建平等^[5]在甜芥愈伤组织诱导和分化研究中的结果一致。

2.2 光照对鞭炮花丛生芽诱导的影响

研究中鞭炮花愈伤组织暗培养 2 周后再转入光培养与一直用光培养所得丛生芽数在 $\alpha=0.05$ 水平上有显著性差异,由此可初步确定,鞭炮花丛生芽诱导先进行

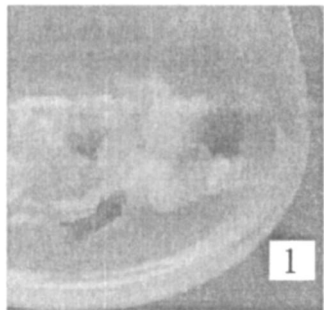


图 1 鞭炮花愈伤诱导(30 d)

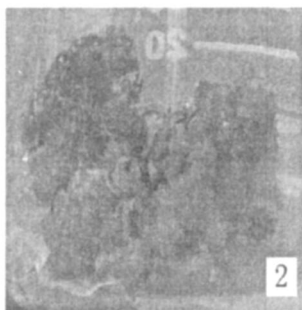


图 2 鞭炮花丛生苗诱导

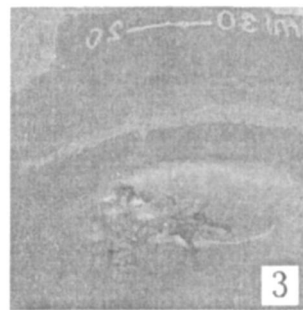


图 3 鞭炮花生根诱导

3 结论与讨论

研究以鞭炮花幼叶为外植体,通过正交设计方法筛选出诱导丛生芽的最适培养基:MS+2.0 mg/L 6-BA+1.4 mg/L NAA+25 g/L 蔗糖+0.7%琼脂。该培养基可使外植体一步诱导出苗,2 次继代后每块愈伤丛生芽数达 26 个。该培养体系可以缩短培养周期、降低繁育成本,在鞭炮花快繁中具有重要的实际应用价值。研究中还发现,在培养基添加一定浓度的 2,4-D 对于鞭炮花愈伤组织的诱导具有较好的促进作用,可为细胞悬浮培养技术提取鞭炮花有效成分提供一定的参考。

研究发现在鞭炮花丛生芽的诱导中先进行暗培养后再进行光培养效果较好,光照是影响鞭炮花丛生芽分化的因素,至于暗处理的时期、处理时间及暗处理将影响鞭炮花哪些生理因素的变化等方面还有待进一步研究。

鞭炮花花期较长,花量大,颜色橙红,又易于采集。

暗培养后再进行光培养效果较好。

2.3 丛生芽生根与移栽

丛生芽长至 2 cm 左右时,转接到生根培养基 MS+0.5 mg/L 6-BA+0.4 mg/L NAA+25 g/L 蔗糖+0.7%琼脂,生根率均达 100%。在培养苗长至 5~7 cm 时,小心地将苗取出,洗净根部培养基,将苗移入灭过菌的草皮土+泥炭土+苔藓(体积比为 1:1:1)中,移栽后定期浇水,避免高温直晒,移栽成活率高达 91.5%。

除可作为垂直绿化、观赏花卉外,据陈炳华等^[6]认为将其花瓣作为供试材料,提取天然色素,将有较大的科研价值。鞭炮花快繁体系的建立,对通过细胞悬浮培养提取鞭炮花有效成分有较大的参考价值。

参考文献

- [1] 林兵,黄敏玲.垂直绿化植物炮仗花的育苗技术[J].福建农业科技,2001(6):44.
- [2] 谢利娟,吴红芝,李晓东,等.爆仗竹组织培养快繁技术研究[J].深圳职业技术学院学报,2006,5(4):31-33.
- [3] 蒋向辉,余朝文,谷合勇.观赏辣椒一步成苗诱导条件的筛选[J].植物生理学通讯,2007,43(4):705-707.
- [4] 盖钧益.试验统计方法[M].1版.北京:中国农业出版社,2000:278-294.
- [5] 郝建平,张江涛.8种甜芥的种子消毒及愈伤组织诱导和增殖条件[J].植物研究,2004,21(1):65-69.
- [6] 陈炳华.炮仗串迎春来[J].植物杂志,2001(2):17.

Selection of Caespitose Shoots Inducing Condition of *Crossandra pungens* Using Orthogonal Experimental Designed

GAO Jian-qiang

(Department of Bio-chemistry Tongren College Tongren, Guizhou 554300 China)

Abstract: The effect of plant growth regulators including 6-BA, NAA, 2,4-D and sucrose on inducing caespitose shoots of *Crossandra pungens* was studied using an orthogonal experimental designed. The results showed that the most important factor affecting on inducing caespitose shoots was the ratio of 6-BA and sucrose, high 2,4-D concentration was helpful for propagation of callus and was unfavourable for differentiation of shoot. The best medium inducing caespitose shoots of *Crossandra pungens* was MS+6-BA 2.0 mg/L+NAA 1.4 mg/L+sucrose 25.0 g/L. The Seedling could be directly induced from the explant using this medium. And many regeneration plantlets were obtained.

Key words: Orthogonal experimental designed; *Crossandra pungens*; Caespitose shoots; Inducing