

# 应用正交实验优化大花萱草试管苗生根的研究

赵玉芬<sup>1,2</sup>, 储博彦<sup>1,2</sup>, 尹新彦<sup>1,2</sup>, 刘满光<sup>1,2</sup>, 袁媛<sup>3</sup>

(1. 河北省林木良种工程技术中心, 河北 石家庄 050061; 2. 河北省林业科学研究院, 河北 石家庄 050061;

3. 河北省林业宣传中心, 河北 石家庄 050081)

**摘要:**采用  $L_9(3^3)$  正交实验设计, 研究了 IBA(0.1、0.3、0.5 mg/L)、白砂糖(25、35、45 g/L)、琼脂(3、4、6 g/L) 3 因素 3 水平组合对大花萱草“红运”试管丛生芽苗生根的影响。结果表明: 3 个因素中糖分对其生根有显著影响, 其大小排序为白砂糖>IBA>琼脂。筛选出 1/2MS+IBA 0.3 mg/L+白砂糖 45 g/L+琼脂 4 g/L 为最佳组合。

**关键词:**大花萱草; 丛生芽; 白砂糖; 生根率

**中图分类号:**S 682.1<sup>+</sup>9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)06-0100-03

糖作为碳源, 为细胞提供合成新化合物的碳骨架, 为细胞的呼吸代谢提供底物与能源, 糖还用以维持一定的渗透势。常用的碳源是蔗糖, 浓度为 2%~5%。生产中常用白砂糖代替化学纯或分析的蔗糖, 都未见有显著影响<sup>[1]</sup>。在大花萱草组织培养的相关文献中有分化、生根培养基均采用 3%蔗糖<sup>[2-4]</sup>的报道, 也有分化阶段采用 3%蔗糖而生根阶段降低至 1%~2%同时附加一定浓度激素的报道<sup>[5-8]</sup>且生根采用单芽接种方式。为降低生产成本, 前期进行了降糖、降脂试验, 结果表明高浓度的糖有利于丛生芽块生根。现以大花萱草“红运”为试材, 研究了糖分、激素、琼脂 3 种因素对丛生芽块生根的影响, 以期筛选适宜的生根培养基, 达到既保证苗木质量又降低成本的目的。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试材料为大花萱草“红运”(‘Baltimore oriole’)品种的试管丛生芽苗, 生根培养基以 1/2MS(大量元素减半)为基本培养基。

### 1.2 试验方法

试验设 IBA、白砂糖和琼脂 3 个因素, 每个因素设 3 个水平, 采用  $L_9(3^3)$  正交实验设计(表 1), 共 9 种处理, 每处理 18 瓶, 每瓶接种 5 块。试验因素及水平设计见表 1。2012 年 4 月 17 日选择生长一致的试管丛生芽苗, 将其切成 1 cm 左右, 直接接种于生根培养基上。培养基 pH 5.8, 培养温度 23~25℃, 光照强度 1 000~

表 1 正交实验因素及水平设计  $L_9(3^3)$

水平	IBA(因素 A) /mg·L <sup>-1</sup>	白砂糖(因素 B) /g·L <sup>-1</sup>	琼脂(因素 C) /g·L <sup>-1</sup>
1	0.1	25	3
2	0.3	35	4
3	0.5	45	6

2 000 lx, 光照时数 12~14 h/d。5 月 12 日调查各处理生根率和平均生根条数。

### 1.3 数据分析

试验所得数据用 Excel 软件分析, 并进行  $F$  显著性测验。

## 2 结果与分析

### 2.1 3 种因素对“红运”试管丛生芽苗生根率的影响

由表 2 可知, 处理 9 效果最好, 其生根率达到 85.71%, 平均生根条数为 6.03 条/块。但由表 3 生根率极差  $R$  的大小可知, 对大花萱草“红运”丛生芽试管苗生根率影响的大小排序为 B(白砂糖)>A(IBA)>C(琼脂), 3 个因素的最佳水平组合方案为  $A_2B_3C_2$ , 即 1/2MS+IBA 0.3 mg/L+白砂糖 45 g/L+琼脂 4 g/L。由表 4 可知, 白砂糖对大花萱草“红运”丛生芽试管苗生根率的影响达到了 5%差异性显著水平, 其它 2 个因素均未达到差异显著性水平。

表 2 正交实验结果

处理	A(激素)	B(白砂糖)	C(琼脂)	空	平均生根率/%	平均生根条数/条·块 <sup>-1</sup>
1	1	1	1	1	62.35	4.50
2	1	2	2	2	75.00	4.68
3	1	3	3	3	72.20	4.60
4	2	1	2	3	70.59	5.02
5	2	2	3	1	81.18	5.86
6	2	3	1	2	82.35	5.54
7	3	1	3	2	65.88	4.57
8	3	2	1	3	75.56	3.68
9	3	3	2	1	85.71	6.03

**第一作者简介:**赵玉芬(1974-), 女, 本科, 高级工程师, 现主要从事园林植物的栽培及组织培养技术等研究工作。E-mail: hbzyf74@163.com.

**基金项目:**河北省科技厅科技支撑计划资助项目(11220608D)。

**收稿日期:**2012-12-11

表3 生根率及生根条数的极差分析

极差	平均生根率/%				平均生根条数/条·块 <sup>-1</sup>			
	A	B	C	空	A	B	C	空
K1	209.55	198.82	220.26	229.24	13.78	14.09	13.72	16.39
K2	234.12	231.74	231.30	223.23	16.42	14.22	15.73	14.79
K3	227.15	240.26	219.26	218.35	14.28	16.17	15.03	13.30
k1	69.85	66.27	73.42	76.41	4.59	4.70	4.57	5.46
k2	78.04	77.25	77.10	74.41	5.47	4.74	5.24	4.93
k3	75.72	80.09	73.09	72.78	4.76	5.39	5.01	4.43
R	8.19	13.81	4.01	—	0.88	0.69	0.67	—

表4 生根率方差分析

变异来源	离差平方和	自由度	均方	F值	Fa
L <sub>A</sub>	106.89	2	53.45	4.31	F <sub>0.05</sub> (2,4)=6.94
L <sub>B</sub>	319.29	2	159.64	12.88*	F <sub>0.01</sub> (2,4)=18.00
L <sub>C</sub>	29.76	2	12.40		
L <sub>空</sub>	19.84	2			
L <sub>总</sub>	475.78	8	59.47		

## 2.2 3种因素对“红运”丛生芽试管苗生根条数的影响

由表3平均生根条数极差R可知,3个因素对大花萱草‘红运’丛生芽试管苗生根条数的影响大小排序为A(IBA)>B(白砂糖)>B(琼脂),3个因素的最佳水平组合方案为A<sub>2</sub>B<sub>3</sub>C<sub>2</sub>,即1/2MS+IBA 0.3 mg/L+白砂糖45 g/L+琼脂4 g/L。这与生根率的最佳水平组合配方相同,说明生根率与平均生根条数有极为密切的关联。由表5可知,3个因素均未达到差异显著水平。

表5 平均生根条数方差分析

变异来源	离差平方和	自由度	均方	F值	Fa
L <sub>A</sub>	1.31	2	0.66	1.146979	F <sub>0.05</sub> (2,4)=6.94
L <sub>B</sub>	0.91	2	0.45	0.791838	F <sub>0.01</sub> (2,4)=18
L <sub>C</sub>	0.69	2	0.57		
L <sub>空</sub>	1.59	2			
L <sub>总</sub>	4.50	8			

## 3 结论与讨论

在参试的3个因素中,糖分对大花萱草丛生芽试管苗生根率的影响最大,且达到了差异显著性水平,IBA次之,琼脂最小。3个因素对生根条数的影响没有显著性差异。表明糖分作为渗透压的调节者,在大花萱草的形态建成中直接影响着根的形成。IBA的影响小于糖分,有可能与大花萱草比较容易生根有关,因为在实际

的生产中,大花萱草“红运”丛生芽在MS或1/2MS不加任何生根激素的培养基中生根率也能达到80%~90%。琼脂的影响最小,这与琼脂在组织培养中只起固定支持作用而本身不提供任何营养有关,但是琼脂用量过低或过高直接影响着培养基的通气性、养分的扩散和运输,会造成植物发育不良<sup>[9]</sup>。

该试验得到大花萱草丛生芽试管苗生根培养的最佳水平组合配方为1/2MS+IBA 0.3 mg/L+白砂糖45 g/L+琼脂4 g/L。该水平组合并没有出现在9种处理中,体现了正交实验的优点,可以通过较少次数的试验取得最佳水平组合。若要进行全部组合试验,必须采用3<sup>3</sup>=27种配方,而利用正交实验只需9种配方,从而节省了大量的工作量,极大地提高了组织培养试验的效率。

以丛生芽的方式直接(不分切)接种生根,较单芽接种效率高,还可节省培养室空间和培养器皿,同时减少了培养基制备用工、接种用工、培养器皿洗涤用工,节省生根培养基所需的药品和耗材,从而在各个环节上降低了生产成本,适合工厂化育苗生产。

## 参考文献

- [1] 谭文澄,戴策刚. 观赏植物组织培养技术[M]. 北京:中国林业出版社,2001.
- [2] 王汉海,程贯召,杜延飞. 大花萱草新品种“金娃娃”的组织培养和快速繁殖[J]. 植物生理学通讯,2002,38(5):458.
- [3] 刘志洋,李海涛,朱祥春,等. 大花萱草组织培养研究[J]. 东北农业大学学报,2008,39(1):43-45.
- [4] 解有利,陈兰芬,石进朝. 大花萱草组织培养研究[J]. 北京农业职业学院学报,2007,21(5):25-27.
- [5] 孙月剑,车冬梅. 欧洲矮化大花萱草组织培养的研究[J]. 大连民族学院学报,2006,32(3):44-46.
- [6] 李艳梅,王桂兰,陈超,等. 大花萱草新品种“红运”快繁体系的建立[J]. 河南农业科学,2006(8):120-122.
- [7] 孔刚,施冰,相连宏. 大花萱草的组织培养[J]. 国土与自然资源研究,2001(3):79-80.
- [8] 赵玉芬,储博彦,尹新彦,等. 大花萱草工厂化快繁技术研究[J]. 北方园艺,2012(2):152-155.
- [9] 熊丽,吴丽芳. 观赏花卉的组织培养与大规模生产[M]. 北京:化学工业出版社,2002.

## Study on the Optimization for the Tube Seedlings Rooting of *Hemerocallis hybridas* by Using the Orthogonal Experiment

ZHAO Yu-fen<sup>1,2</sup>, CHU Bo-yan<sup>1,2</sup>, YIN Xin-yan<sup>1,2</sup>, LIU Man-guang<sup>1,2</sup>, YUAN Yuan<sup>3</sup>

(1. Hebei Province Engineering Technology Center of Forest Improved Varieties, Shijiazhuang, Hebei 050061; 2. Hebei Forestry Institute of Science and Research, Shijiazhuang, Hebei 050061; 3. Forestry Puplicity Center of Hebei Province, Shijiazhuang, Hebei 050081)

**Abstract:** By using L<sub>9</sub>(3<sup>3</sup>) orthogonal experimental design, Co-action of IBA and white granulated sugar and agar on the caespitose shoots rooting of *Hemerocallis hybridas* were studied. In the experiment, the concentration of IBA was 0.1,

# 西藏产茅膏菜丛生芽诱导和增殖的研究

杨 爽<sup>1</sup>, 王 勇<sup>2</sup>

(1. 西藏农牧学院 生物技术中心, 西藏 林芝 860000; 2. 西藏林芝地区农牧局, 西藏 林芝 860000)

**摘 要:**以茅膏菜的球茎、茎尖、茎段、叶片和实生苗无根芽为外植体,以 1/2MS 为基本培养基,研究了不同激素配比和不同接种株数对其丛生芽诱导和增殖的影响。结果表明:以茅膏菜实生苗无根芽为外植体,在光照 13 h/d, 3 000 lx 培养条件下,每瓶接种 5 丛,每丛 4 株,茅膏菜的最佳增殖培养基为 1/2MS+6-BA 0.1 mg/L+NAA 0.1 mg/L+蔗糖 25 g/L+琼脂 5.5 g/L。

**关键词:**茅膏菜;组织培养;丛生芽;增殖

**中图分类号:**S 567.23<sup>+</sup>9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)06-0102-03

茅膏菜 (*Drosera peltata* Smith var. *Lunata* C. B. Clarke) 属茅膏菜科茅膏菜属多年生食虫草本植物,是茅膏菜科在西藏仅有的 1 属 1 种,分布于米林、林芝、亚东、聂拉木、吉隆各县,多生高山林下草地或沼泽边缘草地,海拔 2 300~3 500 m,全草入药,具有解疮毒等功效<sup>[1]</sup>,是一种极具经济价值的药用植物<sup>[2-4]</sup>。随着市场需求量的不断增大,现有茅膏菜的数量已经供不应求,因此,利用组织培养技术对茅膏菜进行大量增殖,能够有效挽救匮乏的种质资源,填补市场供应的空缺。目前,有关茅膏菜属植物的研究主要集中于其药用价值、食虫机制、生态学研究<sup>[4-7]</sup>,对于西藏产茅膏菜的组织培养研究尚鲜见报道。该研究利用茅膏菜的球茎、茎尖、茎段、叶片和实生苗无根芽为外植体,以 1/2MS 为基本培养基,研究了不同激素配比、不同接种株数对其丛生芽增殖的影响,以期建立稳定的茅膏菜组培快繁体系提供基础数据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

茅膏菜健壮母株于 2011 年 5 月上旬采自林芝县齐正藏药基地;茅膏菜种子于 2010 年 9 月下旬采自林芝县

齐正藏药基地,种子直径 0.2 mm,千粒重 0.01 g,在 4℃ 黑暗密封保存至 2011 年 5 月上旬用于试验。

6-BA、NAA 为 Sigma 公司产品;其它试剂均为国产分析纯。

### 1.2 试验方法

1.2.1 外植体的获取与灭菌 选取当年生的生长健壮的无病害植株,在自来水下冲洗 1~2 h,边洗边用毛刷刷洗表面,在高浓度的洗涤液中浸泡 20 min,自来水下冲洗干净;分别摘取球茎、茎尖和茎段后,在超净工作台上,使用浓度为 75% 的酒精处理 30~60 s,再用无菌水冲洗 2 次,然后用 0.1% 的升汞溶液浸泡茎尖和茎段 5 min,用 0.1% 的升汞溶液浸泡球茎 9 min,然后均用无菌水冲洗 6 次,最后用无菌滤纸吸干表面水分(以叶片为外植体时,从无菌的茎尖或茎段上剪下即可)。无菌实生苗的获得:在超净工作台上用质量分数为 75% 的酒精处理种子 30 s 后,无菌水冲洗 2 次,再用 0.1% 升汞处理 10 min,最后用无菌水冲洗 6 次后接种于 1/2MS(大量元素减半)培养基上。50 d 后挑选生长状态较为一致的无菌实生苗(图 1)作为外植体。

1.2.2 培养材料的筛选 以球茎、茎尖、茎段、叶片和实生苗无根芽为外植体,以 1/2MS 为基本培养基,附加 6-BA 0.1 mg/L 和 NAA 0.1 mg/L;观察记录各外植体的存活和生长等情况。每个处理接种 20 瓶,每瓶外植体 4 个(丛),重复 3 次。

**第一作者简介:**杨爽(1982-),女,本科,讲师,现主要从事西藏当地濒危植物组织培养研究等工作。E-mail: yangshuang346429@163.com.

**基金项目:**西藏大学农牧学院青年科研基金资助项目(2012016)。

**收稿日期:**2012-12-10

0.3, 0.5 mg/L; the concentration of white granulated sugar were 25, 35, 45 g/L; the concentration of agar were 3, 4, 6 g/L. The results showed that the effects of each factor on the tube seedlings rooting was white granulated sugar > IBA > agar, the action of sugar reached at significant level, and 1/2MS+IBA 0.3 mg/L+white granulated sugar 45 g/L+agar 4 g/L was the optimal combination.

**Key words:** *Hemerocallis hybridas*; caespitose shoots; white granulated sugar; rooting rate