

顶果木组培增殖培养基的优化^{*}

徐位力¹ 许潮漩² 林荣华² 符晓萍¹ 马文卿¹ 赖树雄¹

(1. 广东省广州市林业科学研究所景观建设有限公司,广东 广州 510515;2. 广东省广州市增城林场,广东 广州 511300)

摘要 采用二次正交旋转组合设计对顶果木(*Acrocarpus fraxinifolius*)增殖培养基进行优化,建立增殖倍数(Y)对培养基中 Ca^{2+} 浓度(X_1)、6-BA 浓度(X_2)及 IBA 浓度(X_3)的正交回归模型: $Y=2.416-0.172X_1-0.255X_2+0.183X_1^2-0.211X_2^2+0.162X_3^2+0.331X_1X_2$ 。从模型可知,当 Ca^{2+} 浓度为 255 mg/L,6-BA 浓度为 0.76 mg/L,IBA 浓度为 0.16 mg/L 时,增殖倍数达最大值 4.45。模型预测值与实际验证结果较接近。

关键词 顶果木;组织培养;增殖;二次正交旋转组合设计

中图分类号:S722.3⁺⁷ 文献标识码:A 文章编号:1006-4427(2014)04-0058-04

Study on Optimal Multiplication Medium of *Acrocarpus fraxinifolius*

XU Weili¹ XU Chaoxuan² LIN Ronghua² FU Xiaoping¹
MA Wenqing¹ LAI Shuxiong¹

(1. Landscape construction Co., Ltd. of Guangzhou Forestry Research Institute, Guangzhou, Guangdong 510515, China;
2. Zengcheng Forest Farm of Guangzhou City, Guangzhou, Guangdong 511300, China)

Abstract The multiplication medium of *Acrocarpus fraxinifolius* was optimized with quadratic orthogonal rotation combination design. The quadratic orthogonal regression model of multiplication rate (Y) to three factors including concentration of Ca^{2+} (X_1), 6-BA (X_2) and IBA (X_3) was established as $Y=2.420-0.172X_1-0.255X_2+0.184X_1^2-0.211X_2^2+0.162X_3^2+0.331X_1X_2$. It was concluded from the model that when the concentration of Ca^{2+} (X_1), 6-BA (X_2) and IBA (X_3) was 255 mg/L, 0.76 mg/L and 0.16 mg/L respectively, the maximum multiplication rate (Y) was 4.45 which was close to the experiment result.

Key words *Acrocarpus fraxinifolius*; tissue culture; proliferation; quadratic orthogonal rotation combination design

顶果木(*Acrocarpus fraxinifolius*)别名顶果树,是苏木科(Caesalpiniaceae)顶果木属(*Acrocarpus*)落叶乔木,阳性速生树种,树高可达 40 m,胸径 1.5 m,树干通直,枝下高可达 20 m,在我国主要分布在广西、云南和贵州等省区^[1]。该树种生长快,萌芽力强,可培育大径级木材,也可作绿化、防风固沙、行道树和风景树;木材纹理直、耐水湿、材质坚硬、韧性好;在石灰岩土或红、黄壤土上都能正常生长^[1-3]。

近年来,随着我国木材单板业市场的发展,顶果木遭受较严重的砍伐,资源濒临枯竭,可供采种的母树极少^[3]。因此种植顶果木的市场潜力大,前景广阔。目前有关顶果木的研究主要集中在树种形态特征、生物学特性和造林技术方面^[4-6],有关组织培养的研究较少,国内只见从种子获得无菌苗进行离体培养的报道^[1]。本研究在已建立的顶果木优良单株无性繁殖体系基础上,采用二次正交旋转组合设计^[7]优化增殖培养基,以提高顶果木不定芽繁殖率。

^{*} 基金项目:广东省林业科技创新专项“顶果木引种和高效栽培技术研究与示范”(2010KJCX005)。
第一作者:徐位力(1972-),男,工程师,主要从事林木引种培育、园林绿化工程等工作,E-mail:498382470@qq.com。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以来源于广西百色的优良顶果木实生苗(种源编号:035)无菌腋芽为外植体,经离体培养后获得的无菌培养物作为试验材料。

1.2 试验设计

试验采用二次正交旋转组合设计法进行。3 个试验因子为 Ca^{2+} (X_1)、6-BA(X_2) 和 IBA(X_3),其中 Ca^{2+} 浓度设定 440 mg/L 为零水平,110 mg/L 为变化值;6-BA 设定 1.6 mg/L 为零水平,0.5 mg/L 为变化值;IBA 设定 0.5 mg/L 为零水平,0.2 mg/L 为变化值。用设定的参数在 DPS 数据处理平台运行^[7]后,得到试验因子不同水平的组合方案,见表 1。

表 1 试验因子不同水平组合方案

处理号	各因子编码值			各因子浓度/(mg · L ⁻¹)		
	X_1	X_2	X_3	Ca^{2+}	6-BA	IBA
1	1	1	1	550	2.10	0.70
2	1	1	-1	550	2.10	0.30
3	1	-1	1	550	1.10	0.70
4	1	-1	-1	550	1.10	0.30
5	-1	1	1	330	2.10	0.70
6	-1	1	-1	330	2.10	0.30
7	-1	-1	1	330	1.10	0.70
8	-1	-1	-1	330	1.10	0.30
9	1.682	0	0	625	1.60	0.50
10	-1.682	0	0	255	1.60	0.50
11	0	1.682	0	440	2.44	0.50
12	0	-1.682	0	440	0.76	0.50
13	0	0	1.682	440	1.60	0.84
14	0	0	-1.682	440	1.60	0.16
15	0	0	0	440	1.60	0.50

1.3 试验方法

按表 1 的试验方案配制好培养基,将离体培养后获得的无菌培养物接种到培养基上进行继代培养。每个试验处理接种 30 块丛芽材料,每块丛芽大小一致,培养 30 d 后,以高于 2.5 mm 的不定芽为增殖芽,统计数量,计算增殖倍数,公式如下:

增殖倍数 = 培养 30 d 的增殖芽数/接种总芽数。

2 结果与分析

2.1 增殖倍数

各处理的增殖倍数见表 2,由表 2 可知,15 个处理的增殖倍数变幅为 1.47 ~ 3.57,以 8 号处理的增殖倍数最高,即 Ca^{2+} 为 330 mg/L,6-BA 为 1.10 mg/L,IBA 为 0.30 mg/L 时,增殖倍数最大为 3.57。

2.2 增殖倍数与试验因子的回归关系

对不同处理增殖倍数进行方差分析,结果见表 3。根据方差分析结果,剔除 X_3 、 X_1X_3 、 X_2X_3 ($P > 0.10$) 3 个不显著项,然后对 3 个试验因子与增殖倍数的关系进行模拟,得出增殖倍数与 3 个试验因子的回归方程

为: $Y=2.416-0.172 X_1-0.255 X_2+0.183 X_1^2-0.211 X_2^2+0.162 X_3^2+0.331X_1X_2$ 。由回归方程进行模拟寻优,当 $X_1=-1.682$ 、 $X_2=-1.682$ 、 $X_3=-1.682$ 时,即 Ca^{2+} 为 255 mg/L,6-BA 为 0.76 mg/L,IBA 为 0.16 mg/L 时,增殖倍数的最大值 $Y_{max}=4.45$ 。

表 2 不同处理的增殖倍数

处理号	增殖倍数	处理号	增殖倍数	处理号	增殖倍数
1	2.12	6	1.72	11	1.70
2	1.97	7	3.17	12	1.47
3	2.33	8	3.57	13	2.57
4	2.42	9	2.42	14	2.72
5	1.75	10	2.97	15	2.17

表 3 增殖倍数的方差分析

变异来源	自由度	平方和	均方	F 值	P 值
常数项	1	119.1520	119.1520	1385.0069	0.00000
X_1	1	0.3845	0.3845	4.4817	0.05289
X_2	1	0.9179	0.9179	10.6827	0.00491
X_3	1	0.0219	0.0219	0.2679	0.61146
X_1^2	1	0.5419	0.5419	6.3122	0.02476
X_2^2	1	0.7015	0.7015	8.1664	0.01225
X_3^2	1	0.4424	0.4424	5.1551	0.03961
X_1X_2	1	0.8503	0.8503	9.8966	0.00653
X_1X_3	1	0.0219	0.0219	0.2675	0.61174
X_2X_3	1	0.0549	0.0549	0.6510	0.43264
回归	9	3.8457	0.4265	5.076	0.00956
剩余	13	1.1073	0.0841		
失拟	5	1.0542	0.2107	27.650	0.00007
误差	8	0.0531	0.0073		
总和	22	4.9530			

2.3 单因子效应对增殖倍数的影响

根据回归模型分析单一试验因子对试验结果的影响,结果见表 4。由表 4 可知,在设置的试验范围内,当其它因子均为零水平时, X_1 (Ca^{2+})的变化对增殖倍数影响的变幅为 2.249~3.066,极差为 0.817; X_2 (6-BA)的变化对增殖倍数影响的变幅为 1.356~2.467,极差为 1.111; X_3 (IBA)的变化对增殖倍数影响的变幅为 2.387~2.865,极差为 0.478。表明 6-BA 浓度的变化对顶果木增殖培养的影响最大,其次为 Ca^{2+} 浓度,最后为 IBA 浓度。

2.4 回归模型的验证

根据 3 个试验因子与增殖率的回归模型模拟寻优的结论,配制最优因子水平组合的培养基,对顶果木增殖芽进行继代培养。试验接种芽数为 30 个,培养 30 d 时增殖

表 4 单因子效应的增殖倍数变化

因子编码值	增殖倍数		
	Ca^{2+}	6-BA	IBA
-1.682	3.066	2.229	2.865
-1.341	2.846	2.357	2.687
-1.000	2.641	2.436	2.554
-0.500	2.418	2.467	2.429
0.000	2.288	2.387	2.387
0.500	2.249	2.205	2.429
1.000	2.305	1.917	2.554
1.341	2.395	1.661	2.687
1.682	2.528	1.356	2.860

芽数达到 124 个,增殖倍数为 4.13,比表 2 中最高的 8 号处理的增殖倍数(3.57)高出 15.68%,与回归模型最优的理论值 $Y_{\max}=4.45$ 比较接近。

3 结论与讨论

3.1 本研究采用的试验方法计算简便、试验次数少,可直接在预测值中确定最优区域^[7-8]。通过试验得出 Ca^{2+} 、6-BA 和 IBA 3 个因子的最优组合后,再进行试验验证,增殖倍数的实际值与理论值较接近,由此达到优化顶果木增殖培养基组分的目的。

3.2 从单因子效应分析结果看,除 6-BA 外, Ca^{2+} 浓度对试验结果的影响也较大,适当降低培养基中 Ca^{2+} 的浓度有利于促进顶果木不定芽分化和增殖。在以往某些木本植物的组织培养过程中,如桉树,也有相类似的情况出现^[8]。由此可以推测,在木本植物的组织培养中,适当调低培养基中 Ca^{2+} 浓度,可能对提高不定芽的分化和增殖倍数有较好的促进作用。

3.3 培养基中细胞分裂素和生长素浓度以及两者的比值均影响植物组织培养的增殖速度。研究结果表明,在顶果木增殖培养过程中,当 6-BA 浓度为 0.76 mg/L、IBA 浓度为 0.16 mg/L,两者比值为 4.75 时,可获得较好的增殖效果。

参考文献

- [1] 周传明,秦武明,吕曼芳,等. 顶果木离体培养研究[J]. 安徽农业科学,2012,40(3):1457-1458.
- [2] 谢福惠,莫新扎. 速生优良树种——广西顶果木初步研究[J]. 广西植物,1981,1(1):31-33.
- [3] 何关顺,文宝,何广琼. 乡土速生树种顶果木育苗技术[J]. 广西林业,2008(5):32.
- [4] 周全连,李文付. 顶果木栽培技术[J]. 林业科技开发,2007,21(1):91-92.
- [5] 杨成华. 速生珍贵树种顶果木[J]. 贵州林业科技,1989,17(2):59-62.
- [6] 吕福基,袁杰,朱德金. 顶果木的生物学特性及其繁殖栽培[J]. 西部林业科学,1987(1):27-30.
- [7] 唐启义,冯光明. 实用统计分析及其计算机处理平台[M]. 北京:中国农业出版社,1997:77-91.
- [8] 徐位力,苏开君,王伟平,等. 用二次正交旋转组合设计优化马占相思增殖培养基[J]. 广东林业科技,2003,19(4):13-16.