

## 6-BA、IBA、2,4-D对杖藤组培增殖的影响

曾炳山, 刘英, 许煌灿, 尹光天

(中国林业科学研究院热带林业研究所, 广东广州 510520)

**摘要:** 研究了6-BA、IBA和2,4-D对杖藤组培物增殖的影响。结果表明,6-BA对增殖芽数、丛芽率和母芽高均有显著的作用,IBA和2,4-D仅对增殖芽数有显著影响。适宜于增殖培养的激素浓度分别为6-BA 4.0 mg/L,IBA 0.25 mg/L,2,4-D 0.25 mg/L。以此激素浓度组合,连续增殖培养6~7代后,平均的增殖芽数可稳定在10个左右。

**关键词:** 杖藤; 植物激素; 丛芽诱导; 继代增殖

**中图分类号:** S723.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2003)01-0049-03

## Influence of 6-BA, IBA and 2,4-D on proliferation of *Calamus rhabdocladus*

ZENG Bing-shan, LIU Ying, XU Huang-can, YIN Guang-tian

(The Research Institute of Tropical Forestry, Guangzhou 510520, China)

**Abstract:** This paper deals with the influence of 6-BA(6-benzylaminopurine), IBA(indolebutyric acid) and 2,4-D(2,4-dichlorophenoxyacetic acid) on in vitro proliferation of *Calamus rhabdocladus* Burret. The experimental results show that 6-BA has eminent influence on proliferation rate of explants, shoot amount proliferated per explant and shoot height. IBA and 2,4-D only have eminent influence on shoot amount proliferated per explant. The appropriate concentrations of 6-BA, IBA and 2,4-D in proliferation medium of *C. rhabdocladus* are 4.0 mg/L, 0.25 mg/L and 0.25 mg/L respectively. After seven subcultures on medium supplemented with appropriate concentration of plant growth regulators, shoot amount proliferated per propagule can reach as high as 11.33.

**Key words:** *Calamus rhabdocladus* Burret; plant growth regulator; proliferation; subculture.

杖藤(*Calamus rhabdocladus* Burret)又名华南省藤,是我国华南地区的商品藤种之一<sup>[1]</sup>。上世纪70年代以来,我国棕榈藤资源长期处于过度采收状态,华南省藤天然资源也遭到严重破坏,原藤产量急剧下降,每年需从东南亚进口原藤30 000 t以上<sup>[2]</sup>。要实现我国原藤自给的目标,必须推广栽培棕榈藤,而大面积栽培的种苗问题又需通过组培快繁来解决。为此,我们开展了杖藤组织培养研究。诱导增殖是棕榈藤组培的难点之一<sup>[3]</sup>,现将植物激

素对杖藤组培增殖影响的研究结果报道如下。

### 1 试验材料与与方法

#### 1.1 试验材料和培养条件

种胚外植体采自鼎湖山自然保护区。采集时,果实已显现形态成熟,种皮由黄变黑,胚乳变硬。表面消毒前,除去果皮果肉,洗净种子。消毒方法为75%酒精1 min+0.1% HgCl<sub>2</sub> 15 min,无菌水冲洗

收稿日期: 2001-11-27; 修订日期: 2002-03-18

基金项目: 国家自然科学基金“棕榈藤萌蘖机理研究”的研究内容之一(39470957)

作者简介: 曾炳山(1969-),男,江西井冈山人,硕士,副研究员,从事热带林木组培快繁和基因转化研究。

3~4次,每次10 min,而后取出种胚进行丛芽诱导的激素试验。

培养条件为培养基 pH5.8±0.2、培养温度 28±2℃,每天光照 10 h,光照强度 2 000 lx。基本培养基为改良的 MS 培养基。

## 1.2 试验方法

1.2.1 试验设计 选取其它藤类植物组培常用的植物生长调节剂 6-BA、IBA 和 2,4-D 为参试激素,各设置 3 个浓度水平,6-BA 为 3.0 mg/L、4.0 mg/L、5.0 mg/L,IBA 为 0.1 mg/L、0.25 mg/L、0.5 mg/L,2,4-D 为 0.25 mg/L、0.5 mg/L、0.75 mg/L。采用正交试验设计  $L_9(3^4)$ ,6-BA 安排在第一列,IBA 安排在第二列,2,4-D 安排在第四列,第三列空。每处理组合重复 15 瓶,每瓶接 3 个外植体。受污染的影响,试验结束时可测定的重复数不等,按随机均分瓶数的原则,以 2 个重复统计。

1.2.2 试验观察 培养 45 d 后,测定反映增殖速度的增殖芽数和反映诱导效率的丛芽率。藤类离体芽

的高度对壮苗和生根有显著影响<sup>[4,5]</sup>,因而对芽苗高度也进行观测和分析。选出激素浓度的最佳水平组合后,配制培养基对杖藤进行连续的继代培养,连续观察增殖芽数 7 代,验证试验结果。

## 2 结果与分析

### 2.1 激素浓度与丛芽诱导

正交试验的丛芽率的方差分析结果表明<sup>[6]</sup>,细胞分裂素 6-BA 浓度水平间的丛芽率差异显著,而 IBA 和 2,4-D 浓度水平间的丛芽率没有显著差异。6-BA 浓度为 3.0 mg/L 时,丛芽率仅 1.28%,而浓度为 4.0 mg/L 时,丛芽率提高至 5.53%,但浓度进一步提高到 5.0 mg/L 时,丛芽率为 5.60%,没有明显的提高。多重比较显示,6-BA 浓度为 4.0 mg/L 和 5.0 mg/L 时的丛芽率显著高于浓度为 3.0 mg/L 时的丛芽率。因而,从诱导效率来讲,6-BA 浓度应为 4.0~5.0 mg/L。

表 1 不同浓度的 6-BA, IBA, 2,4-D 对杖藤培养物丛芽诱导的影响<sup>[7]</sup>

Table 1 Clump shoot percentage at different hormone concentrations and multiple comparison

6-BA 浓度 6-BA concentration (mg/L.)	丛芽率 Clump shoot percentage (%)	同源组 Homogeneous groups	IBA 浓度 IBA concentration (mg/L.)	丛芽率 Clump shoot percentage (%)	同源组 Homogeneous groups	2,4-D 浓度 2,4-D concentration (mg/L.)	丛芽率 Clump shoot percentage (%)	同源组 Homogeneous groups
3.0	1.28	b	0.10	2.80	a	0.25	4.40	a
4.0	5.53	a	0.25	5.38	a	0.50	2.56	a
5.0	5.60	a	0.50	4.23	a	0.75	5.45	a

表 2 不同浓度的 6-BA, IBA, 2,4-D 对杖藤培养物增殖芽数的影响

Table 2 Number of shoots proliferated by embryo at different hormone concentrations and multiple comparison

6-BA 浓度 6-BA concentration (mg/L.)	增殖芽数 Number of shoots proliferated per embryo	同源组 Homogeneous groups	IBA 浓度 IBA concentration (mg/L.)	增殖芽数 Number of shoots proliferated per embryo	同源组 Homogeneous groups	2,4-D 浓度 2,4-D concentration (mg/L.)	增殖芽数 Number of shoots proliferated per embryo	同源组 Homogeneous groups
3.0	0.128	c	0.10	0.280	c	0.25	1.418	a
4.0	0.827	b	0.25	1.385	a	0.50	0.385	b
5.0	1.393	a	0.50	0.683	b	0.75	0.545	b

### 2.2 激素浓度与丛芽数量

丛芽数量的方差分析结果表明 6-BA、IBA 和 2,4-D 对种胚增殖芽的数量均有显著的影响,其中 6-BA 的影响达极显著水平。随着 6-BA 浓度的提高,芽的增殖数量显著上升,以 5.0 mg/L 时增殖芽数最多。IBA 三个浓度水平间的增殖芽数也均有显著差异,以中间浓度 0.25 mg/L 时增殖的芽数最多。2,4-D 则低浓度时增殖的芽数最多。因而,从

增殖芽数来看,6-BA 的适宜浓度为 5.0 mg/L,次适宜浓度为 4.0 mg/L,IBA 的最适浓度为 0.25 mg/L,2,4-D 的最适浓度也为 0.25 mg/L。

### 2.3 激素浓度与母芽高生长

据单叶省藤(*C. simplicifolius* C. F. Wei)、短叶省藤(*C. egregius* Burret)和黄藤(*D. margaritae* (Hance)Becc.)的研究报道,离体芽的高度对壮苗和生根有显著的影响,芽苗高度大于 2.0 cm 时才有

利于壮苗和生根<sup>[4,5,8]</sup>。芽苗高度的方差分析结果表明,6-BA 浓度对芽苗高度有显著影响,而 IBA 和 2,4-D 三个浓度水平间的芽苗高度无显著差异。当 6-BA 浓度增至 5.0 mg/L 时,芽苗高度仅为 1.91 cm,显著小于浓度为 0.4 mg/L 和 0.3 mg/L 时的芽苗高度。6-BA 浓度为 5.0 mg/L 时增殖芽数最多,但芽苗过小不利于壮苗和生根,因而应选择 4.0 mg/L 作为 6-BA 的最适浓度。

表 3 不同浓度的 6-BA, IBA, 2,4-D 对杖藤培养物高生长的影响

Table 3 Shoot height at different hormone concentrations and multiple comparison

6-BA 浓度 6-BA concentration (mg/L)	芽苗高度 Shoot height (cm)	同源组 Homogeneous groups	IBA 浓度 IBA concentration (mg/L)	芽苗高度 Shoot height (cm)	同源组 Homogeneous groups	2,4-D 浓度 2,4-D concentration (mg/L)	芽苗高度 Shoot height (cm)	同源组 Homogeneous groups
3.0	2.47	a	0.10	2.20	a	0.25	2.02	a
4.0	2.65	a	0.25	2.43	a	0.50	2.51	a
5.0	1.92	b	0.50	2.41	a	0.75	2.51	a

表 4 连续继代杖藤培养物的增殖芽数和丛芽率

Table 4 Number of proliferated shoots and clump shoot percentage at successive subcultures

培养代数 Number of subcultures	2	3	4	5	6	7
丛芽率 Clump shoot percentage(%)	26.9	88.0	90.5	90.6	95.5	96.5
增殖芽数 Number of proliferated shoots (No. / mother shoot)	3.42	3.68	6.24	7.05	10.05	11.33

### 3 小 结

(1) 细胞分裂素 6-BA 对丛芽率、增殖芽数和母芽高均有显著影响。6-BA 浓度为 4.0 mg/L 和 5.0 mg/L 时的丛芽率显著高于浓度为 3.0 mg/L 时的丛芽率。增殖芽数则以 5.0 mg/L 时最大, 4.0 mg/L 时适中, 3.0 mg/L 时最低。但 5.0 mg/L 时芽苗高度仅 1.92 cm, 显著低于 4.0 mg/L 以下的芽苗高度。芽苗高度低于 2.0 cm 不利于壮苗和生根, 因而 6-BA 的适宜浓度水平为 4.0 mg/L。

(2) IBA 三个浓度水平间的丛芽率和芽苗高度无显著差异, 但水平间的增殖芽数有差异显著, 其最适浓度为 0.25 mg/L。

(3) 与 IBA 相同, 2,4-D 的三个浓度水平间, 仅增殖芽数差异显著, 其最适浓度为 0.25 mg/L。

(4) 以 6-BA、IBA 和 2,4-D 三者的最适浓度配制增殖培养基, 对杖藤进行连续的继代培养, 增殖芽数和丛芽率逐步提高, 至 6~7 代后, 增殖芽数稳定在 10 个左右, 丛芽率稳定在 95% 左右, 达到组培快繁的要求。

### 2.4 继代增殖

配制 6-BA、IBA 和 2,4-D 浓度分别为 4.0 mg/L、0.25 mg/L、0.25 mg/L 的培养基, 对激素试验后的芽苗进行连续的继代培养, 增殖芽数和丛芽率的测定结果如表 7。从表 7 可以看出, 随着继代次数的增加, 丛芽率和增殖芽数不断增加, 至第 6 代后, 增殖芽数稳定在 10 个左右, 丛芽率稳定在 95% 左右, 完全可以满足组培快繁的要求。

### 参考文献:

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志(13 卷 1 分册)[M]. 北京: 科学出版社, 1991.
- [2] 许煌灿, 尹光天, 曾炳山, 等. 棕榈藤研究[M]. 广州: 广东科技出版社, 1994.
- [3] Ramanuja Rao I V, Yusoff A M, Rao A N, *et al.* Propagation of Bamboo and Rattan Through Tissue Culture [M]. Singapore: published by The IDRC Bamboo and Rattan Research Network, 1990.
- [4] 刘 英, 曾炳山, 许煌灿, 等. 棕榈藤继代培养增殖和成苗特性的研究[J]. 林业科学研究, 1996, 9(6): 579-585.
- [5] 曾炳山, 许煌灿, 刘 英, 等. 棕榈藤组培苗根的诱导研究[J]. 林业科学研究, 1998, 11(3): 260-264.
- [6] 林德光. 生物统计的数学原理[M]. 沈阳: 辽宁人民出版社, 1981.
- [7] 南京农学院. 田间试验和统计方法[M]. 北京: 农业出版社, 1978.
- [8] 刘 英, 曾炳山, 尹光天. 黄藤继代增殖和成苗的繁殖体选择[J]. 林业科学研究, 1998, 11(2): 152-155.