

## 应用均匀设计优化香石竹组培苗增殖培养

修景润<sup>1</sup>, 朴炫春<sup>1</sup>, 廉美兰<sup>1\*</sup>, 林长春<sup>2</sup>

(1. 延边大学农学院, 吉林 龙井 133400; 2. 延吉市林业局 吉林 延吉 133000)

**摘要:**应用均匀设计方法对香石竹组培苗的增殖体系进行优化研究,设计 BA 浓度、琼脂用量、蔗糖浓度、通气孔大小和氨态氮浓度 5 个因素试验,对观察值进行方差分析,结果表明:MS + BA 0.1 mg/L + 琼脂 7.5 g/L + 蔗糖 35 g/L + 铵态氮 10 mM 处理相对较好,通气口大小 2.25 cm,通过 10 个处理的回归分析得出 5 个因素对香石竹试管苗生长作用中不同调查项目 4 个拟合回归方程,并计算出极值和最佳因素配比,发现 BA 不适宜用在香石竹的增殖培养。

**关键词:**香石竹;组织培养;均匀设计

**中图分类号:** S681.5      **文献标识码:** A      **文章编号:** 1004-7999(2008)01-0065-04

香石竹别名麝香石竹,康乃馨(*Dianthus caryophyllus* L.),为石竹科<sup>[1]</sup>,原产南欧南部,为石竹科多年生草本花卉,是世界著名的 5 大切花之一,产量和消费量巨大.传统生产香石竹主要依靠侧芽扦插来扩大繁殖,在这种长期营养繁殖过程中,极易受到病毒侵染,使种源不断退化,切花质量变劣,产花量降低,病毒积累日益严重,栽培质量每况愈下<sup>[2]</sup>,为解决康乃馨生产上存在的问题,应用组织培养的方法培养康乃馨优良新品种.

在植物组织培养中,探索适宜的培养条件一直是研究的关键,常需要进行激素浓度、蔗糖浓度和氨态氮等条件的试验<sup>[3]</sup>,正交实验设计、正交拉丁方设计在参选因素、水平数多时要求做较多的试验.方开泰为了解决多因素多水平问题提出了均匀设计的思路,在各个领域应用均取得显著成效.

将香石竹组培的不定苗采用均匀设计法设计试验处理,对影响香石竹增殖和降低玻璃化产生的因素进行优化,选出最佳组合,同时可以大大减少试验次数,降低成本,为工厂化育苗提供技术依据.

## 1 材料与方法

选择生长健壮的香石竹植株,在双筒解剖镜下剥取茎尖(约 0.2 mm),接入 MS+琼脂 7 g/L+蔗糖 30 g/L 培养基中(pH 值 5.8).1 个月,接入的生长点分化成丛生芽,50 d 时形成不定苗,将所形成的不定苗切成高约 1 cm,带 2~3 片叶的外植体,作为本试验的材料.

### 1.1 基本培养基和培养条件

以 MS 为基本培养基,培养温度(25±2)℃,相对湿度 75%,光照强度 1 600 lx,每天光照 16 h.

收稿日期: 2007-10-25      基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30560094).

作者简介: 修景润(1981—),男,吉林农安人,延边大学农学院园艺系,在读硕士.廉美兰为通讯作者,

Tel: 0433-3263389. E-mail: mllian@ybu.edu.cn

## 1.2 均匀设计

本试验为 5 因素 10 水平,选定以 6-BA 浓度、琼脂浓度、蔗糖浓度、透气孔直径和氨态氮作为参选因素,分别记为  $X_1$ 、 $X_2$ 、 $X_3$ 、 $X_4$ 、 $X_5$ (表 1). 试验方案使用  $U_{10}^*(10^8)$  均匀设计,选 1、3、4、5、7 列(表 2).

每个处理接种 10 瓶,每瓶 3 个外植体. 培养 28 d 后测量各株高、鲜重、干重、节数,对测定结果运用 SPSS 软件和 DPS 软件处理数据,进行方差分析和逐步回归分析.

表 1 均匀设计试验因素与水平表

Table 1 The factor and level for uniform designing (mg/L, g/L, cm, mM)

| 处理<br>Treatment | 因素 Factor |       |       |       |       |
|-----------------|-----------|-------|-------|-------|-------|
|                 | $X_1$     | $X_2$ | $X_3$ | $X_4$ | $X_5$ |
| 1               | 0.8       | 7.0   | 45    | 0.50  | 5     |
| 2               | 0.5       | 9.0   | 25    | 0     | 15    |
| 3               | 0.9       | 6.0   | 30    | 2.00  | 30    |
| 4               | 0.7       | 8.0   | 15    | 1.25  | 45    |
| 5               | 0.2       | 5.5   | 40    | 0.25  | 40    |
| 6               | 0         | 6.5   | 10    | 0.75  | 25    |
| 7               | 0.1       | 7.5   | 35    | 2.25  | 10    |
| 8               | 0.6       | 4.5   | 55    | 1.00  | 20    |
| 9               | 0.4       | 5.0   | 20    | 1.50  | 0     |
| 10              | 0.3       | 8.5   | 50    | 1.75  | 35    |

表 2  $U_{10}^*(10^8)$  均匀设计试验方案

Table 2 The experimental scheme of uniform design of  $U_{10}^*(10^8)$

| 处理<br>Treatment | 因素 Factor |         |        |          |        |
|-----------------|-----------|---------|--------|----------|--------|
|                 | 1         | 3       | 4      | 5        | 7      |
| 1               | 9(0.8)    | 6(7.0)  | 8(45)  | 3(0.50)  | 2(5)   |
| 2               | 6(0.5)    | 10(9.0) | 4(25)  | 1(0)     | 4(15)  |
| 3               | 10(0.9)   | 4(6.0)  | 5(30)  | 9(2.00)  | 7(30)  |
| 4               | 8(0.7)    | 8(8.0)  | 2(15)  | 6(1.25)  | 10(45) |
| 5               | 3(0.2)    | 3(5.5)  | 7(40)  | 2(0.25)  | 9(40)  |
| 6               | 1(0)      | 5(6.5)  | 1(10)  | 4(0.75)  | 6(25)  |
| 7               | 2(0.1)    | 7(7.5)  | 6(35)  | 10(2.25) | 3(10)  |
| 8               | 7(0.6)    | 1(4.5)  | 10(55) | 5(1.00)  | 5(20)  |
| 9               | 5(0.4)    | 2(5.0)  | 3(20)  | 7(1.50)  | 1(0)   |
| 10              | 4(0.3)    | 9(8.5)  | 9(50)  | 8(1.75)  | 8(35)  |

## 2 结果与分析

### 2.1 方差分析

试验发现 10 个处理的香石竹试管苗生长效果明显不同(表 3). 处理 7 和 9 的株高显著

优于其他处理,其它处理间无显著性差异.另外,在节数方面处理 9 最好,且与处理 7 之间无显著性差异.虽然处理 5 在鲜重与干重方面好于其它处理,但其玻璃化苗数最多,综合考虑,处理 7 和 9 较为适合香石竹的生长,但处理 9 苗生长较为纤细,生长势较弱,处理 1、4、5 和 8 玻璃化现象较为严重.所以 7 处理相对于其它处理较好,即 MS + BA 0.1 mg/L + 琼脂 7.5 g/L + 蔗糖 35 g/L + 铵态氮 10 mg/L,通气孔大小以 2.25 cm 较为适宜.

表 3 不同处理对香石竹增殖的影响

Table 3 Effect of different treatment on proliferation in vitro of *Dianthus caryophyllus* L. (cm,mg)

| 处理<br>Treatment | 株高<br>Height | 鲜重<br>Fresh weight | 干重<br>Dry weight | 节数<br>Node | 玻璃化苗<br>Vitrification Seeding |
|-----------------|--------------|--------------------|------------------|------------|-------------------------------|
| 1               | 3.33 b       | 1.23 b             | 0.13 b           | 3.10 d     | 10                            |
| 2               | 2.66 b       | 0.19 d             | 0.02 c           | 4.30 c     | 0                             |
| 3               | 2.30 b       | 0.26 cd            | 0.05 c           | 2.50 d     | 0                             |
| 4               | 3.42 b       | 0.59 cd            | 0.05 c           | 5.00 bc    | 8                             |
| 5               | 5.76 b       | 2.23 a             | 0.18 a           | 4.90 bc    | 25                            |
| 6               | 4.06 b       | 0.31 cd            | 0.04 c           | 4.71 bc    | 0                             |
| 7               | 10.46 a      | 0.72 c             | 0.13 b           | 5.75 ab    | 0                             |
| 8               | 2.97 b       | 1.59 b             | 0.16 b           | 2.90 d     | 10                            |
| 9               | 9.25 a       | 0.21 d             | 0.02 c           | 6.80 a     | 0                             |
| 10              | 2.02 b       | 0.16 d             | 0.03 c           | 2.40 d     | 0                             |

## 2.2 逐步回归分析

通过 10 个处理的回归分析,得出 5 个因素对香石竹试管苗生长作用中不同调查项目的拟合方程:

在株高方面  $Y = 1.0982 + 3.911X_4 + 0.0762X_5 - 0.0004X_3^2 + 0.0019X_5^2 - 0.1334X_1X_4 + 0.0310X_1X_5 + 0.33562X_2X_4 - 0.2481X_4X_5$ ,  $R^2 = 0.999$  ( $P < 0.01$ ), 回归方程的拟合效果很好; 鲜重方面  $Y = 0.1493X_3 - 1.0578 - 1.2409X_1 + 2.9992X_1^2 - 0.0596X_1X_3 - 0.3123X_1X_4 - 0.0083X_2X_3 + 0.1493X_2X_4 - 0.0432X_3X_4$ ,  $R^2 = 0.997$  ( $P < 0.05$ ), 回归方程的拟合效果很好; 干重方面  $Y = 0.0079 - 0.0275X_2 + 0.0207X_3 + 0.2995X_1^2 - 0.0002X_3^2 - 0.3053X_1X_4 - 0.0009X_2X_3 + 0.0059X_2X_4 + 0.0029X_4X_5$ ,  $R^2 = 0.999$  ( $P < 0.05$ ), 回归方程的拟合效果很好. 节数方面,  $Y = 7.6318 - 0.1405X_5 + 0.0038X_5^2 - 0.0909X_1X_3 - 0.0098X_2X_5$ ,  $R^2 = 0.997$  ( $P < 0.05$ ), 回归方程的拟合效果很好. 以上就是对 4 个调查项目拟合的回归方程, 分别对其求极值(表 4). 按表 4 得各种因素配比可以分别得到最大株高、鲜重、干重和节数. 因此可以根据不同的试验目的按不同的因素用量配比进行试验. 但在香石竹组织培养过程中极易出现玻璃化现象, 因此在按不同试验目的进行实验时还应该考虑到这一问题. 在以往的单因素试验中 BA 浓度和  $NH_4^+$  浓度过高玻璃化现象发生较为严重, 而琼脂、蔗糖和通气性则与玻璃化现象正相关. 为此, 在香石竹组培过程中既要考虑增殖系数又要考虑玻璃化现象, 不能加入过多的 BA 和  $NH_4^+$ , 同时应考虑适当的多加入一些琼脂和蔗糖.

表4 均匀设计法对香石竹增殖的体系优化

Table 4 Uniform designing to optimize proliferation in tissue culture of *dianthus caryophyllus* L.

| 项目 Item         | X <sub>1</sub> /(mg/L) | X <sub>2</sub> /(g/L) | X <sub>3</sub> /(g/L) | X <sub>4</sub> /cm | X <sub>5</sub> /mM | 最大值 Max |
|-----------------|------------------------|-----------------------|-----------------------|--------------------|--------------------|---------|
| 株高 Height       | 0                      | 9.00                  | 29.62                 | 2.25               | 1.01               | 15.87   |
| 鲜重 Fresh weight | 0                      | 4.52                  | 54.84                 | 0.00               | 39.44              | 5.07    |
| 干重 Dry weight   | 0                      | 9.00                  | 29.63                 | 2.25               | 1.01               | 0.45    |
| 节数 Node         | 0                      | 4.72                  | 32.19                 | 2.24               | 1.11               | 7.43    |

### 3 讨论与结论

应用均匀设计进行香石竹增殖试验,试验数据经回归分析,确定主要影响因子,对试验的效应做出准确的综合评价,从而选出香石竹增殖的最优培养基,即 MS + BA 0.1 mg/L + 琼脂 7.5 g/L + 蔗糖 35 g/L + 铵态氮 10 mM,通气孔大小 2.25 cm,有利于香石竹增殖培养。

#### 参考文献:

- [1] 王莲英,朱秀珍,虞佩珍. 中国名贵花卉鉴赏与栽培[M]. 合肥:安徽科学技术出版社,1997.
- [2] 聂庆娟,王进茂,梁海勇,等. 康乃馨的繁殖[J]. 河北林果研究,1997(1):50-52.
- [3] 张春华,朴炫春,廉美兰,等. 培养基组成对满天星试管苗增值的影响[J]. 延边大学农学学报,2005,27(1):35-39.

## Optimize proliferation in tissue culture of *dianthus caryophyllus* L. apply uniform designing

XIU Jing-run<sup>1</sup>, PIAO Xuan-chun<sup>1</sup>, LIAN Mei-lan<sup>1\*</sup>, LIN Chang-chun<sup>2</sup>

(1. Agricultural College of Yanbian University, Longjing Jilin 133400, China;

2. Forestry Bureau of Yanji City, Yanji Jilin 133000, China)

**Abstract:** The optimization of plant regeneration system in vitro culture of *Dianthus caryophyllus* L. was studied with the uniform design. The experiment optimized by uniform design experiment of 5 factors at 10 concentration levels. The 5 factors include 6-BA, agar, sucrose, venthole and  $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ . The results indicated that NO. 7 is the best, the medium MS + BA 0.1 mg/L + agar 7.5 g/L + sucrose 35 g/L +  $\text{NH}_4^+ - \text{N}$  10 mM and venthole 2.25 cm. The 10 levels were treated by regression analysis, 4 regression equations were obtained. According to the 4 equations, the maximum was calculated and the best allocated proportion was obtained, BA is not fit to multiply for *Dianthus caryophyllus* L.

**Key words:** *Dianthus caryophyllus* L.; tissue culture; uniform designing