

# 应用反应面设计法探讨蝴蝶兰类原球茎的增殖

李成慧

(江苏省苏州农业职业技术学院, 215008)

**摘要:**采用反应面设计法探讨了 5 个因素(NAA、蔗糖、麦芽糖、VB<sub>1</sub>、VB<sub>6</sub>)对蝴蝶兰类原球茎增殖的影响。结果表明:对于类原球茎增殖来说 NAA 的浓度最为重要,其次是蔗糖、麦芽糖和 VB<sub>1</sub>,而 VB<sub>6</sub> 对类原球茎增殖没有影响。并且筛选出了蝴蝶兰类原球茎增殖的最优组合是:NAA 为 0.9 mg/L、蔗糖 10 g/L、麦芽糖 15 g/L、VB<sub>1</sub> mg/L,类原球茎的增殖系数可以达到理论最大值 7.33。

**关键词:**蝴蝶兰;类原球茎;反应面设计法  
**中图分类号:**S682.31 **文献标识码:**B **文章编号:**1001-0009(2006)06-0133-02

蝴蝶兰(*Phalaenopsis*)形态优美,花色多样,具有很高的观赏价值和经济价值。利用植物组织培养技术进行蝴蝶兰的无性快速繁殖,具有重要的意义。蝴蝶兰的快速繁殖主要是通过类原球茎的扩张来实现<sup>[1~3]</sup>。一般认为一定量的细胞分裂素 6-BA 在类原球茎的诱导和增殖过程中起着关键的作用。但在很多情况下,培养基中仅添加 6-BA 并不能起很好的效果,适度添加 NAA、维生素 B 类等物质则具有协同促进作用,在蝴蝶兰的组织培养中,这方面的研究很少,尤其是在同时考察它们的作用方面少有报道。

反应面设计是多因素分析的有力工具,它既能分析各处理因子的影响,又能建立定量的数学模型,用较少的试验次数获得较多的信息<sup>[4]</sup>。由于这些优点人们已开始生物实验中应用这一高级的统计方法<sup>[5~7]</sup>。在植物组织培养中,也开始有相关报道<sup>[8]</sup>。本试验首次将这一方法应用于蝴蝶兰的组织培养研究中,对影响蝴蝶兰类原球茎增殖的 5 个因素(NAA、蔗糖、麦芽糖、VB<sub>6</sub>、及 VB<sub>1</sub>)进行了对比分析,以帮助选择和优化培养基配方。同时为反应面设计在蝴蝶兰组织培养上的应用作了一个尝试。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

本试验所用材料为由蝴蝶兰“迷你红”叶块诱导所得的类原球茎。在无菌条件下,用解剖刀将其顶端切除 1/3 后接种于不同培养基中,用于类原球茎增殖研究。

### 1.2 反应面设计

试验选用 5 因素 5 水平的反应面设计,各供试因子水平及其编码见(表 1)。共 36 个处理,每个处理 5 个试管,每个试管 1 个类原球茎。所用的培养基为:花宝 1 号 3.5 g/L、6-BA 2 mg/L、肌醇 100 mg/L、琼脂粉 9 g/L,再按照表(2)的设计添加各种不同剂量的添加物。



**作者简介:**李成慧,女,助教,1979 年生,现任苏州农业职业技术学院园艺与园林系教师,2004 年毕业于扬州大学农学院农学系,同年获得作物遗传育种专业硕士学位,2004 年参加工作至今,一直在从事园艺植物栽培应用与育种方面的教学与科研工作,主讲《园艺植物遗传育种学》、《花卉学》、《植物组织培养》等课程。

收稿日期:2006-07-03

表 1 因子水平及其编码

编码	NAA (mg/L)	蔗糖 (g/L)	麦芽糖 (g/L)	VB <sub>6</sub> (mg/L)	VB <sub>1</sub> (mg/L)
	X1	X2	X3	X4	X5
-2	0.1	0	5	0	1
-1	0.5	5	10	0.3	1.5
0	0.9	10	15	0.6	2
1	1.3	15	20	0.9	2.5
2	1.7	20	25	1.2	3.0

### 1.3 培养条件

培养室温度为 25~30℃,光照强度 1 500~2 000 Lx,光照周期为每日 16 h。

### 1.4 类原球茎增殖系数的确定

以继代培养 50 d 后的类原球茎数与继代当天的类原球茎数比值求得。

## 2 结果和分析

### 2.1 模型的建立

50 d 后统计类原球茎的增殖系数(表 2)。经回归分析和方差分析建立二次回归模型: $Y=6.60417-0.45625X_1^2-0.40625X_2^2-0.33125X_3^2-0.18125X_5^2-0.2375X_2X_3+0.3625X_4X_5$  (1)。

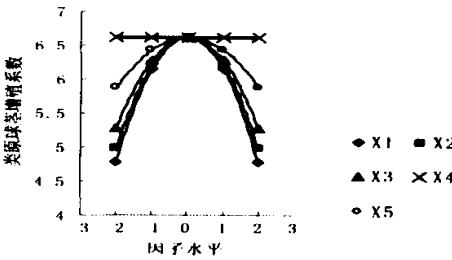


图 1 单因子效应

### 2.2 单因子效应解析

将模型中其他 4 个因子固定在 0 水平时,得出各因子在不同水平下的类原球茎增殖系数(图 1)。从单因子效应结果图可知,在 NAA 为 0.9 mg/L、蔗糖 10 g/L、麦芽糖 15 g/L、VB<sub>1</sub> 2 mg/L 时类原球茎的增殖系数达到最大值。

从试验因子对增殖系数的影响变幅我们也可以看出: X<sub>1</sub> (NAA)浓度的变化导致增殖系数在 4.779~6.604 之间变动,变幅达 1.825;蔗糖、麦芽糖、VB<sub>6</sub> 和 VB<sub>1</sub> 对增殖系数影响变幅分别为 1.625、1.325、0、0.725。因此从单因子作用效应角

度来看, NAA 的浓度最为重要, 其次是蔗糖, 麦芽糖, VB<sub>1</sub>。VB<sub>6</sub> 对蝴蝶兰类原球茎增殖系数没有影响。

表 2 反应面设计各组合的增殖率

处理	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	X <sub>4</sub>	X <sub>5</sub>	PLB 增殖系数
1	1	1	1	1	1	5.6
2	1	1	1	-1	-1	5.8
3	1	1	-1	1	-1	5.8
4	1	1	-1	-1	1	5.4
5	1	-1	1	1	-1	5.2
6	1	-1	1	-1	1	4.8
7	1	-1	-1	-1	1	5.6
8	1	-1	-1	1	-1	5.2
9	-1	1	1	1	-1	4.8
10	-1	1	1	1	1	4.8
11	-1	1	-1	-1	1	4.8
12	-1	1	-1	-1	-1	6.4
13	-1	-1	1	1	1	6.6
14	-1	-1	1	1	-1	6.0
15	-1	-1	-1	-1	-1	4.8
16	-1	-1	-1	-1	1	4.6
17	-2	0	0	0	0	4.0
18	2	0	0	0	0	4.8
19	0	-2	0	0	0	4.6
20	0	2	0	0	0	4.6
21	0	0	-2	0	0	5.0
22	0	0	2	0	0	4.8
23	0	0	0	-2	0	6.0
24	0	0	0	2	0	6.2
25	0	0	0	0	-2	5.4
26	0	0	0	0	2	5.6
27	0	0	0	0	0	6.6
28	0	0	0	0	0	6.4
29	0	0	0	0	0	7.0
30	0	0	0	0	0	6.8
31	0	0	0	0	0	6.4
32	0	0	0	0	0	6.6
33	0	0	0	0	0	6.6
34	0	0	0	0	0	7.0
35	0	0	0	0	0	6.4
36	0	0	0	0	0	7.0

2.3 双因子互作效应解析

对模型中互作效应达显著水平的两组因子进行分析, 将其他 3 个因子固定在 0 水平时, 可得到两试验因子互作对类原球茎增殖系数影响的回归方程:

$$Y_{2,3} = 6.60417 - 0.40625X_2^2 - 0.33125X_3^2 - 0.23750X_2X_3 \quad (2);$$

$$Y_{4,5} = 6.60417 - 0.18125X_6^2 + 0.36250X_4X_5 \quad (3).$$

由方程(2)可知 X<sub>2</sub>(蔗糖)和 X<sub>3</sub>(麦芽糖)间的互作关系: 当 X<sub>3</sub>(麦芽糖)分别取-2、-1、1、2 水平编码时, X<sub>2</sub>(蔗糖)对增殖系数的影响变幅分别为 2.644、2.1、2.1、2.644。也就是说, 麦芽糖浓度小于 15 g/L 时, 随其浓度的增加, 蔗糖对增殖系数的影响效应逐渐减少, 反之当麦芽糖浓度高于 15 g/L 时, 随着麦芽糖浓度的增加, 蔗糖对增殖系数的影响效应逐渐增加。当蔗糖和麦芽糖浓度均取 0 水平编码时, 类原球茎增

殖系数最大。

同样从方程(3)可以看出 X<sub>4</sub>(VB<sub>6</sub>)和 X<sub>5</sub>(VB<sub>1</sub>)的互作效应: VB<sub>1</sub> 浓度小于 2 mg/L 时, 随其浓度的增加, VB<sub>6</sub> 对增殖系数的影响效应也逐渐减少, 反之当 VB<sub>1</sub> 浓度高于 2 mg/L 时, 随着 VB<sub>1</sub> 浓度的增加, VB<sub>6</sub> 对增殖系数的影响效应逐渐增加。当 VB<sub>6</sub> 为 0 mg/L、VB<sub>1</sub> 为 1 mg/L 时类原球茎的增殖系数达到最大。

对以上建立的回归模型求导后还可以筛选出 5 个因子不同水平的最优组合, 当 X<sub>1</sub>、X<sub>2</sub>、X<sub>3</sub>、X<sub>4</sub>、X<sub>5</sub> 5 个因子的水平编码取 0、0、0、-2、2 即 NAA 为 0.9 mg/L、蔗糖为 10 g/L、麦芽糖为 15 g/L、VB<sub>6</sub> 为 0 mg/L、VB<sub>1</sub> 为 1 mg/L 时类原球茎的增殖系数达到理论最大值 7.33。

3 讨论

反应面设计又称为二次正交旋转组合设计, 它牺牲部分正交性而获得旋转性, 具有试验次数少, 计算简便以及部分消除回归系数之间相关性等特点。本试验中选择了 5 个因素, 每个因素设 5 个水平, 组合成 36 个处理。分析这 36 个处理, 得到了大量的信息, 包括各个因素的作用, 相对重要性以及它们的协同作用。本试验中通过反应面设计获得的理论最优配方在实际的应用中也具有很好的增殖效果, 说明通过反应面设计不仅能从少量的处理中提取到丰富的信息, 而且信息的无偏性较好。

试验结果表明激素类物质是影响类原球茎增殖的关键因子。在本试验中, 所用的激素类物质是 6-BA 和 NAA, 当 2 mg/L 的 6-BA 和 0.9 mg/L 的 NAA 配合使用时, 效果最好。除了激素类物质外, 碳源也是非常重要的因素, 一般在蝴蝶兰所用的培养基中, 所用碳源大多为单一的。而不同的碳源对类原球茎的生长发育起着不同的作用<sup>[9]</sup>。在本试验中, 蔗糖和麦芽糖之间存在显著的互作效应, 同时使用蔗糖和麦芽糖, 其效果要优于单独使用一种糖类。另外, 维生素类在植物组织培养中所起的作用是很重要的, 它能直接参与酶的形成, 以及蛋白质、脂肪的代谢等重要生命活动<sup>[10]</sup>。本试验表明 VB<sub>1</sub> 和 VB<sub>6</sub> 存在互作效应, 当不添加 VB<sub>6</sub>, 而只添加 1 mg/L VB<sub>1</sub> 时, 效果最好。

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, 1991. 247-257.  
[2] 曾宋君, 彭晓明. 蝴蝶兰的组织培养和快速繁殖[J]. 武汉植物学研究, 2000, 18(4): 344-346.  
[3] 张秀清, 王志武. 蝴蝶兰实生苗不同器官的离体培养[J]. 植物学通报, 1996, 13(1): 50.  
[4] 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.  
[5] 王介元. 应用回归旋转设计确定最佳施肥量的[J]. 土壤通报, 1987(2): 87-89.  
[6] 张剑斌, 吕庆茹, 刘金生. 应用正交旋转设计确定银中杨最佳施肥量的试验[J]. 防护林科技, 1998, (3): 25-28.  
[7] 蔡培思, 张忠诚, 李彦生. 2 次正交旋转设计统筹上下两茬作物的试验研究简报[J]. 耕作与栽培, 1993, (5): 7-8.  
[8] 徐位力, 罗焕亮, 范恩友. 二次正交旋转组合设计对马占相思组培增殖培养基的优化[J]. 广西植物, 2002, (11): 517-520.  
[9] Islam, M. O., Ichihashi, S. Effect of sucrose maltose and sorbitol on callus growth and plantlet regeneration in Phalaenopsis Doritaenopsis and Neofinetia. J. Jap. Soc. Hort. Sci. 1999, (68): 1124-1131.  
[10] 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, 2003. 71-76.