

通过调配培养基优化葡萄试管苗的培养质量

张元杭¹, 林海荣², 魏 鹏¹, 徐岩岩¹, 明 博¹, 刘 彤²

(1. 石河子大学 生命科学学院, 新疆 石河子 832003; 2. 新疆兵团绿洲生态农业重点实验室 新疆 石河子 832003)

摘要: 通过分析田间植株营养成分调配了葡萄的生根培养基 H 配方。比较了 H, 1/2 MS, 以及 1/2 B₅ 3 种培养基对试管苗的培养效果。一元方差分析表明, H 和 1/2 MS 生根率显著大于 1/2 B₅ 配方, H 配方的株高和比叶面积显著高于另外 2 种配方。主成分分析表明, H 的综合培养状况优于另外 2 种培养基。总结认为, 基于植株营养成分分析进行培养基优化的方法可以在藤本植物上得到运用, 主成分分析方法在评价试管苗综合生长状况上有独特的优势。

关键词: 葡萄; 植株营养成分分析; 培养基; 主成分分析

中图分类号: S 663.103.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2007)11-0034-03

培养基的化学组成对组织培养的成功有着重要影响^[1]。培养基中营养的缺乏会引起植物体生物化学的、生理的和形态上的改变^[2]。进行培养基的优化筛选, 培育适应性良好和光合能力较强的壮苗, 是提高后期移栽成活率和提高离体植物组织培养效率的有效途径。

利用植物的营养成分分析进行培养基的调配是近年来国际上研究的一个热点问题。然而, 目前尚未见这种方法在藤本植物上应用的相关报道。现运用通过营养成分分析调配的培养基(H 配方), 常规生根配方 1/2 MS, 以及葡萄试管苗培养常用的 1/2 B₅ 3 种培养基进行葡萄试管苗的培养, 旨在揭示不同培养基的培养效果, 探索营养成分分析方法调配培养基在藤本植物上运用的可行性, 以期拓展此项方法在离体植物培养上的应用, 提高试管植物的微繁效率。

1 材料与方 法

1.1 基本培养基的调配

参照 Gon Ives^[3] 的方法进行植株营养成分分析, 调配出培养基 H。材料母本为田间生长多年的红提葡萄 (*Vitis vinifera* L)。取带有 3~4 片完全展开的叶片的幼嫩枝条, 送石河子大学分析测试中心测定干重中全 N、全 P、全 K、全 Ca、全 Mg 的含量。计算另 4 种大量元素与 N 元素的质量比例, 分别以 1/2 MS 培养基中 N 含量乘以相应的质量比例, 得到 H 配方中各大量元素含量(表 1)。进一步换算为该配方中化合物的含量:

CaCl₂ · 2H₂O: 481.9 mg · L⁻¹, MgSO₄ · 7H₂O: 371.1 mg · L⁻¹, KH₂PO₄: 220.7 mg · L⁻¹, KNO₃: 737.3 mg · L⁻¹, NH₄NO₃: 909.1 mg · L⁻¹。

试验中选用的另外 2 种配方为 1/2 MS 和 1/2 B₅。这 2 种培养基是在保持其它成分不变的前提下, 分别将 MS 和 B₅ 的大量元素减半所得到的。

表 1 H 配方中的 5 种大量元素的调配过程

	全 N	全 P	全 K	全 Ca	全 Mg
茎叶中元素含量 / g · kg ⁻¹	20.9	2.5	17.3	6.7	1.8
各元素与 N 的质量比例	1	0.1196	0.8278	0.3206	0.0861
H 配方中元素含量 / mg · L ⁻¹	420.4	50.3	348.0	134.8	36.2

1.2 培养方法

以上 3 种生根配方中均加入 IAA 1.0 mg · L⁻¹, 另附加 5.6 g · L⁻¹ 琼脂粉, 30 g · L⁻¹ 蔗糖, pH 5.8。接种 1.5 cm 左右的单芽茎段, 共计 3 处理 × 3 次 / 处理 × 5 瓶 / 次 × 4 株 / 瓶 = 180 株试管苗。培养于 150 mL 的三角瓶中, 各配方在培养架上随机排放, 培养温度 (25 ± 2) °C, 光 / 暗时间为 16 / 8 h, 光强 40 mol · m⁻² · s⁻¹。

1.3 观测指标与方法

培养 1 个月后, 选取长势均匀的试管苗, 在 10:00 ~ 11:00 测量以下指标: 生根率 / 处理、根长 / 株、生根数 / 株、展叶数 / 株、茎长 / 株、叶面积。为了避免取材部位不同引起的协方差作用, 统一选取茎尖以下的第 2 或者第 3 片完全展开的叶片进行叶片形态指标的测定。扫描叶片后在 Scion Image 软件中计算叶面积, 在 80 °C 烘干 24 h 后测定叶片干重。比叶面积 = 叶面积 / 叶干重。

1.4 数据处理

制图和统计分析借助 SPSS 13.0 完成, 利用 Excel 制表。采用 LSD 方法进行方差分析的多重比较。

2 结果与分析

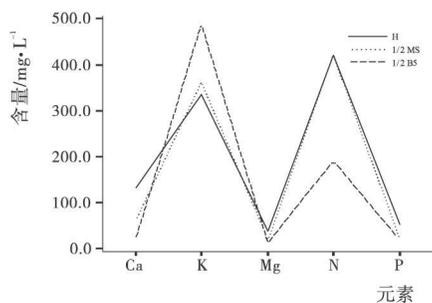
2.1 3 种配方中大量元素含量的分析

第一作者简介: 张元杭(1981-), 男, 硕士, 研究方向为园艺植物组织培养。

通讯作者: 刘彤(1968-), 男, 石河子大学副教授, 博士, 主要从事植物生理生态学研究。E-mail: betula@126.com。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30360017)。

收稿日期: 2007-06-26



3 种培养基中大量元素含量的比较图

图显示了 3 种培养基中大量元素的差异。可以看出, 1/2 B₅除了K 的含量明显比另外 2 种培养基较高以外, 其余大量元素含量均处于较低水平。1/2 MS 的元素含量总体上在 3 种培养基中处于中间水平。H 配方的 P、Ca、Mg 含量在 3 种培养基中是最高的。H 和 1/2 MS 配方的 N 含量明显比 1/2 B₅高。另外, 1/2 B₅和 1/2 MS

这 2 种应用较广泛的培养基中 P 的含量比较接近, 5 种大量元素相对含量的变化趋势也有一定的相似性, 很可能为 2 种培养基提供了较强的缓冲能力, 因而适合很多植物培养的一个重要原因。

2.2 各配方处理下试管苗生长的状况

试验中运用的 3 个配方都没有茎尖枯死和褐化现象的发生。表 2 显示了 3 种配方中试管苗的生长质量。培养基成分的变化没有对葡萄试管苗的根长和根数产生影响。3 个配方都取得了很高的生根率。H 和 1/2 MS 配方的生根率显著高于 1/2 B₅配方。另外, 这 2 种生根率较高配方的单株展叶数和叶干重也显著高于 1/2 B₅配方。表明了植物体是一个协调的系统, 根部发育会对植物地上部分的生长状况产生直接的影响。H 配方的株高和比叶面积显著高于另外 2 个配方。由于试管内的光照水平较低, 这种高的比叶面积是一种补偿低的光照水平的适应性反应^[4]。

表 2 试管苗在 3 种培养基上的发育状况

配方	展叶数/株	株高/株 / cm	比叶面积 / cm ² · g ⁻¹	叶干重/株 · g ⁻¹	生根率/株	根长/cm	根数
H	8.33 ± 0.67 ^a	10.73 ± 0.49 ^a	959.71 ± 35.01 ^a	4.30 ± 0.32 ^a	0.98 ± 0.01 ^a	5.07 ± 0.85 ^a	7 ± 1.156 ^a
1/2 MS	7.67 ± 0.34 ^a	8.53 ± 0.78 ^b	705.54 ± 27.98 ^b	3.23 ± 0.20 ^a	0.98 ± 0.02 ^a	6.0 ± 0.64 ^a	5.07 ± 2.186 ^a
1/2 B ₅	5.67 ± 0.33 ^b	7.4 ± 0.53 ^b	767.86 ± 42.46 ^b	3.10 ± 0.76 ^b	0.93 ± 0.02 ^b	3.93 ± 0.92 ^a	4.87 ± 0.333 ^a

注: 不同字母表示差异显著(p < 0.05)。

2.3 试管苗综合生长状况的主成分分析

表 2 的一元方差分析结果仅仅可以揭示各配方处理下单个特征之间的差异显著性。为了比较各个配方对试管苗整体发育状况的影响, 运用 SPSS 对试验数据进行了主成分分析。主成分分析可以对原本较多的具有一定相关性的变量进行重新组合, 生成少数相互独立的主成分, 并以主成分综合得分的大小对变量进行总体的评价。

试验对特征值大于 1 的主成分进行了提取, 满足条件的为前 3 个主成分。它们的累计方差贡献达到了 88.376%, 超过了 85% 的一般标准(表 3)。因此, 这 3 个主成分基本代表了原始因子的全部信息, 即完全能反映总体特征。

表 3 3 种培养基培养效果的主成分分析的全方差解释表

主成分	特征值	方差百分比/%	累计方差贡献/%
1	4.373	54.666	54.666
2	1.647	20.593	75.259
3	1.049	13.118	88.376
4	0.649	8.114	96.491
5	0.225	2.815	99.305
6	0.053	0.664	99.969
7	0.002	0.027	99.996
8	0	0.004	100

各培养基培养状况的综合得分由公式 $F = \beta_1 F_1 + \beta_2 F_2 + \beta_3 F_3$ 计算。其中, F 为综合得分的大小; β_1 、 β_2 、 β_3 分

别为 3 个主成分各自的加权系数, 由各自的方差贡献率除以这 3 个主成分总的方差贡献率得到; F_1 、 F_2 、 F_3 分别代表提取的前 3 个主成分。

经过计算 $\beta_1 = 0.619$ 、 $\beta_2 = 0.233$ 、 $\beta_3 = 0.148$, 表 4 给出了最终计算结果。各配方的综合得分高低顺序依次为: H、1/2 MS、1/2 B₅。因此, 在试验的 3 个配方中, 运用营养成分分析的方法调配的葡萄生根培养基的综合培养效果是最好的。

表 4 提取的前 3 个主成分得分及各配方培养状况的综合得分

配方	第 1 主成分得分	第 2 主成分得分	第 3 主成分得分	综合得分
H	1.237	0.405	0.511	0.936
1/2 MS	-0.057	0.779	-0.978	0.0027
1/2 B ₅	-0.830	-0.426	0.375	-0.5565

3 结语

在选定适宜外植体的条件下, 培养基的成分成为影响试管苗生根的直接因素^[3]。培养基中元素含量的大小以及不同元素之间的比例关系都会直接影响培养效果。根据不同的植物类型, 选择合适的培养基, 是提高快繁体系效率的关键。试验中, 营养成分分析调配的 H 配方顺应了植物对营养的需求, 取得了最佳的培养效果。这种结果很可能与其高的 Ca 含量有关。在培养基中 Ca 的含量是很低的, 因为它在水中的可溶性差。另外, 培养基中有 1/3 的 Ca 被琼脂构建胶体网络所利

用²，进行培养基调配时增加 Ca 的含量可以补偿这种 Ca 元素含量的降低³。更深层次的机理有待进一步探索。

培养基的调配是一项复杂的工作。不仅要满足试管苗生长对营养需求，还要兼顾生长调节剂的调控效能⁴。试验结果表明，基于植株营养成分分析优化培养基可以在藤本植物上得到运用。与正交设计，均匀设计及配方对比试验等方法相比，利用营养成分分析方法对培养基进行大量元素调配所需的工作量小，优化配方的周期短、效果理想。

对试管苗生长质量的评价常常因为指标太多而变的不好把握。试验表明，主成分分析方法以综合得分的高低考核各配方的总体培养效果，可以很好的解决这个问题。

参考文献

- [1] Růžič, D, Sař, M, Cerovč, R, et al. Contents of macronutrients and growth of sweet cherry rootstock in vitro[J]. Biol. Plant, 2004, 47: 463-465.
- [2] Monteiro A C B, Higashi E N, Gon C alves A N, et al. A novel approach for the definition of the inorganic medium components for micropropagation of yellow passionfruit (*Passiflora edulis* Sims. flavicarpa deg.)[J]. In Vitro cell. dev. Biol. Plant, 2000, 36: 527-531.
- [3] Gon lves S, Corrĩa P J, Martins-lou M A o, et al. A new medium formulation for in vitro rooting of carob tree based on leaf macronutrients concentration[J]. Biologia Plantarum, 2005, 49(2): 277-280.
- [4] Pigliucci M, Kolodnynska A. Phenotypic plasticity to light intensity in *Arabidopsis thaliana*: invariance of reaction norms and phenotypic integration[J]. Evolutionary Ecology, 2002, 16: 27-47.
- [5] 李胜, 张真, 李婷, 等. 培养基和培养条件对葡萄试管苗生根的影响[J]. 甘肃农业大学学报, 2006, 41(1): 24-29.
- [6] 刘彤, 魏鹏, 赵新俊, 等. 应用均匀设计优化香梨脱毒生根培养基[J]. 果树学报, 2006, 23(4): 635-637.

Optimization of Cultivation Status of Grape Seedlings in Vitro through Media Adjustment

ZHANG Yuan-hang¹, LIN Hai-rong², WEI Peng¹, XU Yan-yan¹, MING Bo¹, LIU Tong²

(1. Life Science College of Shihezi University, Shihezi 832003, China; 2. Key Laboratory of Oasis Ecological Agriculture of Xinjiang Bintuan, Shihezi 832003, China)

Abstract: In this article, rooting medium for grape (H medium) was adjusted through nutrient analysis of field plant. Growth quality of seedlings in vitro grew on H, 1/2 MS and 1/2 B₅ were compared. ANOVA revealed that rooting rates of H and 1/2 MS were significantly higher than 1/2 B₅. Besides, height and SLA of H were significantly higher than the other two media. Principal Component Analysis (PCA) indicated that the cultivation status of H was better than the other two media. It was concluded that medium optimization through nutrient analysis of field plant could be used for cultivation of liana, and PCA had advantage in evaluating the overall cultivation status of seeding in vitro.

Key words: Grape; Plant nutrient analysis; Medium; Principal component analysis

《科技信息》征稿

《科技信息》是自然科学与人文社会科学综合性期刊。旬刊。国内统一刊号:CN37-1021/N, 国际标准刊号:ISSN1001-9960。

《科技信息》内文设置了:科教视野、高校讲台、职业教育、教改前沿、教学研究、治校方略、企业与经济管理、建筑与工程、交通与路政、计算机与信息技术、机械与电子、图书与档案管理、医疗与保健、环保与绿化、法制与绿化、法制论坛、党建与政工、煤矿天地、理论纵横、问题与探论、财税科技、金融之窗等栏目(要求3000字为宜)。

投稿要求:

- 1.在篇首标明作者姓名、作者单位及单位所在省、市、邮编。
- 2.论文需有摘要(200字左右)、关键词(2~5个);作者简介(姓名、出生年、性别、民族、籍贯、工作单位、职务职称、研究方向);参考文献按统一文本要求附上。
- 3.希望您能提供详细的通信地址、邮编、联系电话、电子信箱,便于我们联系。
- 4.来信请以 Word 文件格式。

电话:0451-82501597 王老师

电子邮箱:kjxxzz_sh@163.com

kjxxzz9@163.com