

植物组织培养常用基本培养基的数量分析

杨秀平, 刘莉丽

(西北农林科技大学 林学院, 陕西 杨陵 712100)

摘要:利用多元统计方法对 MS 等 14 种植物组织培养中较为常用的基本培养基进行了分析, 结果表明: 在 1.40 的聚类水平上可将 14 种培养基分成 4 类, 第 1 类包括 3 种培养基(White, Miller, Heller), 第 2 类括 6 种培养基(MS, LS, ER, NT, NN, H), 第 3 类括 3 种培养基(B₅, N₆, SH), 第 4 类括 2 种培养基(DKW, WPM); 大量元素第 1、2 主成分分别代表 Na₂SO₄ 和 KNO₃, 它们权重系数分别为 -0.382 56 和 -0.494 46。微量元素第 1、2 主成分分别代表 MnSO₄ · H₂O 和 NiSO₄ · 6H₂O, 它们权重系数分别为 0.412 08 和 -0.478 19。有机成分第 1 主成分代表叶酸和生物素, 它们的权重系数分别均是 0.600 15, 第 2 主成分代表肌醇和硫胺素, 它们的权重系数分别是 0.532 81 和 0.530 52。并对组织培养研究中基本培养基筛选的方法进行了讨论。

关键词:组织培养; 基本培养基; 数量分析; 筛选

中图分类号:S723.132 **文献标志码:**A **文章编号:**1001-7461(2010)01-0097-04

Quantitative Analysis on Some Common Basal Media Used in Plant Tissue Culture

YANG Xiu-ping, LIU Li-li

(College of Forestry, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: Fourteen basal media commonly used in plant tissue culture research were studied using the methods of cluster analysis and principal components analysis. The results showed that: (1) Under the 1.40 classification level according to Chi-square distance, all the 14 basal media could be classified into 4 groups. The first group included 3 basal media (White, Miller, Heller), the second group included 6 (MS, LS, ER, NT, NN, H), the third group included 3 (B₅, N₆, SH), and the fourth group included 2 (DKW, WPM); (2) For the macro-elements, the first and the second principal components represent Na₂SO₄ and KNO₃, and were -0.382 56 and -0.494 46 respectively, and for the micro-elements, the weight coefficient of MnSO₄ · H₂O and NiSO₄ · 6H₂O were 0.412 08 and -0.478 19 respectively. For the organic substances, the first principal component represented folacin and biotin, and the weight coefficients was all 0.600 15, and the second principal component represented myoinositol and thiamine, and the weight coefficients were 0.532 81 and 0.530 52 respectively. The methods of basal media screening in plant tissue culture research were also discussed.

Key words: tissue culture; basal mediums; quantitative analysis; screening

在建立一个新植物的组织培养体系时, 基本培养基的筛选是首先要研究的问题之一。从 Gautheret 和 White 早期提出的愈伤组织培养基和根培养基到现在发展的各种培养基, 营养成分及其浓度差异很大, 根据 George 等统计, 截至 1987 年在国际期

刊上公开发表的培养基有 685 种^[1]。虽然许多培养基之间具有或多或少的衍生关系, 而且常用的培养基种类远远低于这个数目, 但如何从众多的培养基中选择其中几种进行试验以筛选出适合于特定植物的培养基仍常常是令研究者头痛的一件事情, 一般

的做法是参考对近缘植物的研究结果并结合研究者的经验选择少数几种培养基进行比较试验,因此选择的盲目性较大,很有可能漏选最适培养基。本文利用多元统计方法,对常用基本培养基成份进行了研究,以期组织培养研究中基本培养基的筛选提供依据。

1 数据来源与分析方法

在大量查阅文献资料的基础上,选择了较为常用的 14 种基本培养基(White、MS、B5、SH、N6、NN、DKW、WPM、H、Miller、Heller、ER、NT、LS)^[1-6]为样本、成分为变量利用 DPSv3.01 软件进行 Q 型聚类分析和主成分分析。对于配方中缺少的成分其含量用 0 表示。聚类分析前数据经规格化变换(极差正规化),采用卡方距离计算距离系数,利

用离差平方和法进行系统聚类。

2 结 果

2.1 聚类分析

由表 1 可看出,在 14 种基本培养基中 MS 与 LS 最为相似(距离系数 0.330 6),其次是 NN 与 H (0.579 8),Heller 与 DKW 及 H 之间的差异最大,其距离系数分别为 1.629 0 和 1.496 8。由图 1 可看出,所采用的聚类方法聚类效果较好,在 1.40 的聚类水平上可将 14 种培养基分成 4 类,第 1 类包括 3 种培养基(White,Miller,Heller),第 2 类括 6 种培养基(MS,LS,ER,NT,NN,H),第 3 类括 3 种培养基(B5,N6,SH),第 4 类括 2 种培养基(DKW,WPM)。

表 1 14 种基本培养基间的距离系数

Table 1 Distance coefficients among the 14 basal media

	White	MS	B5	SH	N6	NN	DKW	WPM	H	Miller	Heller	ER	NT
MS	1.085 33												
B	1.158 68	0.971 52											
SH	1.220 01	1.092 22	0.887 33										
N6	1.045 83	0.792 39	0.760 67	1.015 95									
NN	1.073 26	0.629 84	0.976 82	1.051 21	0.865 57								
DKW	1.378 14	1.227 55	1.285 28	1.345 36	1.246 60	1.185 54							
WPM	1.310 68	1.188 04	1.084 88	1.131 23	1.127 81	1.086 76	1.032 97						
H	1.222 12	0.849 27	1.150 82	1.220 62	1.052 40	0.579 86	1.382 26	1.270 33					
Miller	0.870 55	0.931 34	1.079 91	1.147 73	0.889 30	0.969 76	1.360 83	1.253 94	1.165 50				
Heller	1.197 16	1.445 47	1.263 61	1.445 66	1.356 24	1.339 46	1.629 03	1.441 42	1.496 83	1.195 72			
ER	1.149 39	0.751 23	0.983 96	1.163 71	0.794 79	0.821 76	1.194 42	1.114 79	1.042 30	0.946 79	1.344 44		
NT	1.218 12	0.830 23	1.143 24	1.260 22	1.011 96	0.978 72	1.407 93	1.307 80	1.142 96	1.100 97	1.474 57	1.056 51	
LS	1.136 96	0.330 67	0.942 36	1.079 16	0.838 92	0.716 01	1.309 41	1.188 19	0.929 88	0.924 14	1.373 20	0.810 44	0.767 69

2.2 主成分分析

分别按大量元素、微量元素和有机成分进行主成分分析,表 2 给出了其前 5 个主成分的特征值、贡献率、累计贡献率和特征向量。可以看出,大量元素第 1、2、3、4、5 主成分分别代表 Na₂SO₄、KNO₃、Na—Fe—EDTA、NH₄NO₃ 和 MgSO₄·7H₂O,它们权重系数分别为-0.382 56,-0.494 46,-0.442 63,-0.491 68 和-0.448 3。微量元素第 1、2、3、4、5 主成分分别代表 MnSO₄·H₂O、NiSO₄·6H₂O、H₃BO₃、Zn(NO₃)₂·6H₂O 和 H₃BO₃,它们权重系数分别为 0.412 08、-0.478 19、0.465 08、-0.602 73和 0.541 84。有机成分第 1 主成分代表叶酸和生物素,它们的权重系数分别是0.600 15和 0.600 15,第 2 主成分代表肌醇和硫胺素,它们的权重系数分别是 0.532 81 和 0.530 52,第 3 主成分代表谷氨酰胺,其权重系数为 0.874 42。

图 1 14 种基本培养基的系统聚类图

Fig. 1 Dendrogram of the 14 basal media

表 2 主成分分析结果

Table 2 Results of principal components analysis

项目		主 成 分				
		1	2	3	4	5
大量元素	特征根	5.482 25	2.964 44	2.089 60	1.638 96	1.488 27
	贡献率/%	32.248 54	17.437 87	12.291 76	9.640 93	8.754 52
	累计贡献率/%	32.248 54	49.686 41	61.978 17	71.619 10	80.373 63
	特征向量					
	NH ₄ NO ₃	0.252 67	0.184 49	0.072 73	−0.491 68	−0.166 75
	KNO ₃	0.172 01	−0.494 46	−0.034 43	0.040 95	0.051 87
	CaCl ₂ · 2H ₂ O	0.261 43	−0.185 42	0.269 37	−0.225 30	−0.358 15
	MgSO ₄ · 7H ₂ O	0.085 93	0.290 08	0.033 76	0.246 06	−0.448 30
	KH ₂ PO ₄	0.213 99	0.092 59	−0.024 50	−0.205 14	−0.006 98
	(NH ₄) ₂ SO ₄	0.053 96	−0.276 67	0.029 29	0.263 33	0.442 06
	NH ₄ H ₂ PO ₄	−0.014 07	−0.178 22	−0.180 33	0.236 96	−0.155 12
	NaH ₂ PO ₄ · H ₂ O	−0.256 66	−0.133 09	0.308 47	0.117 35	0.160 79
	K ₂ SO ₄	0.109 38	0.456 89	0.138 34	0.162 39	0.303 68
	Ca(NO ₃) ₂ · 4H ₂ O	0.075 38	0.484 12	0.020 91	0.109 68	0.285 19
	Na ₂ SO ₄	−0.382 56	0.053 90	0.254 21	−0.034 67	−0.103 76
	KCl	−0.36364	0.024 42	0.302 49	−0.163 89	−0.001 19
	Na ₂ · EDTA	0.369 03	−0.010 61	0.306 09	0.116 50	0.081 69
	FeSO ₄ · 7H ₂ O	0.369 06	−0.011 38	0.305 69	0.116 88	0.081 23
	Fe ₂ (SO ₄) ₃	−0.15907	0.14071	−0.31298	0.34856	−0.320 00
	Na-Fe-EDTA	−0.077 37	0.040 20	−0.442 63	−0.475 04	0.308 02
	FeCl ₃ · 6H ₂ O	−0.340 81	0.008 59	0.366 03	−0.151 88	−0.000 15
微量元素	特征根	4.233 79	2.594 68	1.875 14	1.564 05	1.340 17
	贡献率/%	30.241 32	18.533 43	13.393 84	11.171 80	9.572 62
	累计贡献率/%	30.241 32	48.774 75	62.168 59	73.340 39	82.913 01
	特征向量					
	KI	−0.213 99	0.164 59	−0.192 93	−0.106 84	0.541 84
	H ₃ BO ₃	−0.226 47	0.267 94	0.465 08	−0.058 76	0.247 12
	MnSO ₄ · 4H ₂ O	−0.359 36	0.212 62	0.104 66	0.088 50	−0.397 18
	MnSO ₄ · H ₂ O	0.412 08	0.196 97	0.144 29	−0.266 60	−0.046 26
	ZnSO ₄ · 7H ₂ O	−0.359 56	0.188 94	0.096 72	0.106 37	−0.379 63
	Na ₂ MoO ₄ · 2H ₂ O	0.300 36	0.283 10	0.037 47	0.454 14	0.008 43
	MoO ₃	−0.05422	−0.062 93	−0.275 76	−0.115 01	0.416 11
	CuSO ₄ · 5H ₂ O	0.407 78	0.244 30	0.147 83	−0.077 26	0.010 17
	CoCl ₂ · 6H ₂ O	0.303 68	0.301 73	−0.035 63	0.469 97	0.075 89
	Zn(NO ₃) ₂ · 6H ₂ O	0.247 12	0.032 02	0.207 40	−0.602 73	−0.190 58
	NiSO ₄ · 6H ₂ O	0.091 51	−0.472 35	0.410 54	0.142 28	0.074 21
	AlCl ₃	0.050 42	−0.478 19	0.376 42	0.242 89	0.106 05
	Zn · Na ₂ · EDTA	0.011 21	−0.156 15	−0.194 42	−0.046 70	−0.206 84
	CoSO ₄ · 7H ₂ O	−0.225 65	0.263 43	0.462 31	−0.062 41	0.257 67
有机成分	特征根	2.485 97	2.106 82	1.098 92	0.974 71	0.675 78
	贡献率/%	31.074 68	26.335 30	13.736 54	12.183 87	8.447 28
	累计贡献率/%	31.074 68	57.409 99	71.146 52	83.330 39	91.777 67
	特征向量					
	肌醇	0.117 20	0.532 81	0.010 48	−0.527 02	0.141 71
	烟酸	0.482 23	0.276 56	0.096 65	−0.324 04	0.318 71
	吡哆醇	0.061 80	0.323 58	0.289 81	0.696 26	0.525 09
	硫胺素	−0.039 43	0.530 52	0.159 81	0.151 30	−0.360 59
	甘氨酸	0.155 42	−0.476 17	0.334 46	−0.191 97	0.464 11
	谷氨酰胺	−0.061 96	−0.070 40	0.874 42	−0.124 40	−0.350 83
	叶酸	0.600 15	−0.104 35	−0.047 69	0.169 20	−0.258 96
	生物素	0.600 15	−0.104 35	−0.047 69	0.169 20	−0.258 96

3 讨论

迄今世界上已研制出许多基本培养基的配方，通常根据培养基的成分和元素的浓度等特点将它们分为四类，即：富集元素平衡培养基（包括 MS、LS、

BL、ER 等）、高硝酸钾含量培养基（包括 B5、N6、SH 等）、中等无机盐含量的培养基（包括 H、Nitsch、Miller 等）和低无机盐培养基（包括 White、WS、HE 等）^[7]。可以看出，本研究所划归的第 3 类与高硝酸钾含量培养基类完全对应、第 1 类与低无机盐培养

基类基本对应、第 2 类与富集元素平衡培养基类基本对应,从而反映了本文分类的合理性,同时根据各培养基间的距离系数(表 1)可进一步了解同类培养基之间差异性的相对大小,这是传统分类所不及的。

聚类分析选择的截集水平不同,分类数就会不同。该文选择截集水平 1.40 时可分为 4 类。如果选择截集水平 1.84 时可分为 2 类、1.60 时可分为 3 类、1.25 时可分为 5 类等。在实际工作中可根据工作量的大小事先确定用于初步筛选的基本培养基的数量,再根据这一要求确定聚类水平,然后可根据文献资料和个人经验从每 1 类中选出 1 种培养基进行试验,确定出较适宜的基本培养基后,再结合距离系数(表 1)和聚类结果(图 1),找出与该培养基最为相似的若干种培养基进行比较,从而确定最适基本培养基。然后再分别根据大量元素、微量元素和有机成分主成分分析的结果,首先考虑第 1 主成分,再依次考虑其它主成分,选取权重系数较大的若干成分调整其浓度进行比较试验,以确定最佳配方,这样便可以大大提高工作效率。

植物组织培养所用基本培养基种类很多,本文仅选取了 14 种较为常用的基本培养基进行了聚类分析和主成分分析,在实际应用中若想从更多基本培养基中进行筛选,可参考本文所采用的方法另行研究和使用的。另外,从主成分分析的结果看,降维效

果不十分明显,对于大量元素第 1 主成分的贡献率仅为 32.2%,前 5 个主成分的累积贡献率仅达到 80.4%,对于微量元素第 1 主成分的贡献率仅为 30.2%,前 5 个主成分的累积贡献率仅达到82.9%,对于有机物质第 1 主成分的贡献率仅为31.1%,前 4 个主成分的累积贡献率仅达到83.3%。所以根据主成分分析结果调整某些重要成分的浓度以优化培养基的效果可能不甚明显,这时不仅要考虑第 1 主成分,而且要考虑第 2 和第 3 主成分,不仅要考虑权重系数最大的培养基成分,而且要考虑权重系数次大的成分。

参考文献:

[1] 肖尊安. 植物生物技术[M]. 北京:化学工业出版社,2005:21.
[2] 郑成木,刘世平. 亚热带热带植物微繁殖[M]. 长沙:湖南科学技术出版社,1993:50.
[3] 元英进. 植物细胞培养工程[M]. 北京:化学工业出版社,2005:29-30.
[4] 谢启昆. 药用植物组织培养[M]. 上海:上海科学技术出版社,1986:18-19.
[5] 刘后利. 作物育种研究与进展[M]. 北京:农业出版社,1993:253.
[6] 陈正华. 木本植物组织培养及其应用[M]. 北京:高等教育出版社,1986:55-56.
[7] 王关林,方宏筠. 植物基因工程[M]. 北京:科学出版社,2002:352-353.

(上接第 96 页)

使细胞中的酶系统迅速活跃起来,促进细胞的分生和分化作用,进而形成大量的愈伤组织,有助于不定根的形成。另外,外源激素还能影响插穗内部营养物质的分配,使插穗下切口附近变成吸收营养物质的中心。营养物质集中于插穗基部,这对愈伤组织和不定根的形成有促进作用^[6]。本试验和其他试验一样证实了外源激素对插穗产生不定根具有促进作用^[5,7-9]。但在处理过程中要注意针对不同植物选取不同药剂并注意处理的时间。

参考文献:

[1] 叶长秋. 金叶接骨木嫩枝扦插试验[J]. 中国林副特产,2005(5):1-2.
[2] 顾玉红,安洋,高述民,等. 金叶接骨木的组织培养和快速繁殖[J]. 植物生理学通讯,2004,40(5):593.
[3] 哈特曼 H T. 植物繁殖原理和技术[M]. 郑邢文译. 北京:中国林业出版社,1985.
[4] 徐兴友,孟宪东. 四种野生花灌木硬枝的扦插[J]. 东北林业大学学报,2004,6(32):61-63.
[5] 师晨娟,刘勇,胡长寿. 青海云杉硬枝扦插繁殖研究[J]. 江西农业大学学报:自然科学版,2002,24(2):259-263.
[6] 梁玉堂,龙庄如编. 树木营养繁殖原理和技术[M]. 北京:中国林业出版社,1993.
[7] 张育松,赖明志. 五种外源物质对台湾种茉莉扦插生根的效应[J]. 福建农业大学学报,1997,26(1):44-47.
[8] 陈登雄,蔡邦平,董建文,等. 使君子扦插繁殖技术[J]. 浙江林学院学报,2000,17(4):384-388.
[9] 兰阿峰,梁宗锁,王俊儒. 金银花扦插育苗技术的研究[J]. 西北林学院学报,2006,21(2):93-96.

图 1 金叶接骨木生根类型观察

Fig. 1 The type of rooting