昆明学院学报　2012，34(3)：37～40　CN 53－1211/G4　ISSN 1674－5639
Journal of Kunming University

二次多项式逐步回归在狭叶仙鹤藓生长研究中的应用

陈　林[1]，杨　蕾[2]，王艺璇[1]，孙文向[1]，王建光[1]，陈穗云[1]，李永川[3*]
（1. 云南大学 生命科学学院，云南 昆明 650091；2. 红云红河烟草（集团）有限责任公司 技术中心，云南 昆明 650202；3. 云南省植保植检站，云南 昆明 650034）

摘要：应用二次多项式逐步回归方法构建了不同营养元素对狭叶仙鹤藓的植株高度和植株数量的影响方程，并定量研究了不同元素对狭叶仙鹤藓的生长情况影响. 结果表明，N 和 Ca^{2+} 和适量的 Mg^{2+} 能够在狭叶仙鹤藓的生长中起到促进作用；而 K^+ 对狭叶仙鹤藓的植株高度会产生不利影响，适量的 K^+ 能够促进狭叶仙鹤藓的植株数量.

关键词：狭叶仙鹤藓；二次多项式逐步回归；营养元素；Benecke 培养基
中图分类号：Q949.35　**文献标识码**：A　**文章编号**：1674－5639(2012)03－0037－04

The Application of Quadratic Polynomial Stepwise Regression on the Growth of *Atrichum angustatum* (Brid.) B. S. G

CHEN Lin[1], YANG Lei[2], WANG Yi-xuan[1], SUN Wen-xiang[1], WANG Jian-guang[1], CHEN Sui-yun[1], LI Yong-chuan[3]
(1. School of Life Science, Yunnan University, Yunnan Kunming 650091, China;
2. Technology Center of Hongyun Honghe Tobacco Group, Yunnan Kunming 650202, China;
3. Yunnan Province Plant Protection and Test Department, Yunnan Kunming 650034, China)

Abstract: The quadratic polynomial stepwise regression method was used to build the equation which indicated the impact of different nutrients on the plant height and the total number of plants of *Atrichum angustatum* (Brid.) B. S. G. by quantitative study of the regression equation. The results show that N and Ca^{2+} and an appropriate amount of Mg^{2+} could promote the growth of this moss while K^+ has a bad impact on the plant height and an appropriate amount of K^+ could increase the total number of plants.

Key words: *Atrichum angustatum* (Brid.) B. S. G; quadratic polynomial stepwise regression; nutrient elements; Benecke culture

苔藓植物走过了一条漫长的进化历程，其历史比有花植物早约 200 万 a[1]. 苔藓植物是植物界的拓荒者，可防止水土流失、可促进生态系统的演化[2]，是环境质量的指示植物[3]；另外苔藓植物在医药、园艺、工农业方面均有经济价值[4]. 然而，在实际生产中野生苔藓由于样品采集比较困难，并且数量较少，已不能满足科学研究和生产的需求[5]. 为此，人们利用植物组织培养技术可以在较短时间内获得大量的材料，为解决这一难题提供了便利. 苔藓是最早用于组织培养研究的植物，开创了植物组织培养的先河[6]. 从 1902 年 Haberlandt 尝试利用苔藓进行组织培养研究到现在，苔藓植物组织培养获得了长足的发展[7－10]. 但是，苔藓植物组织培养中要成功获得愈伤组织不仅与组织培养的培养基密切相关，而且不同的苔藓植物所用的培养基也存在差异[11]. 因此，在对一种新的苔藓植物进行组织培养时除了借鉴和参考前人的经验外，还要进行大量的实验筛选. 然而，在对培养基进行必要改良的时候，往往更多的是依靠技术人员的经验和对苔藓植物的宏观认识，缺乏针对性和系统性，工作量较大，并且改良结果也很难预测. 为此，人们将数理统计方法应用于各种植物组织培养的培养基及营养元素的分析研究，以期对组织培养的培基进行优化筛选[12－13].

二次多项式逐步回归是基于最小二乘法原理通过逐步回归剔除对因变量不起作用或作用极小的因子，挑选出显著性因子，最终得出最优回归模型的经典数理统计方法[14]. 该方法目前大量应用于重工业、化工及农业[15－17]领域，但是，将该方法用于植物

收稿日期：2012－03－12
基金项目：云南大学理（工）科校级科研资助项目（2010BY007）；云南大学生命科学学院植物科学研究所青年教师基金资助项目（ZW201002）
作者简介：陈林（1985—），男，云南昆明人，硕士研究生，主要从事烟草分子生物学、生理生化及数据信息挖掘研究.
通讯作者：李永川（1962—），男，云南楚雄人，高级农艺师，主要从事植物保护研究. E-mail：kmyongchuan@163.com

组织培养培养基成份对植物生长的影响还鲜见报道. 本文以狭叶仙鹤藓(*Atrichum angustatum* (Brid.) B. S. G)(属仙鹤藓属:*Atrichum*),金发藓科(Polytrichaceae)植物[18-21]为材料,在前期研究的基础上应用二次多项式逐步回归的方法,研究不同营养元素对狭叶仙鹤藓生长状况的影响. 通过模型研究分析得到不同营养元素对狭叶仙鹤藓生长影响的大小和方向,为狭叶仙鹤藓的大量扩繁提供一定的技术支持和理论支撑,同时也为组织培养相关的科研技术工作人员提供一定的方法参考,希望能具有一定的借鉴价值.

1 材料与方法

1.1 材料

狭叶仙鹤藓采集于昆明市金殿公园后山,将它培养在由均匀设计方法设计的 Benecke 培养基上(见下表 1),培养 30 d 后测量其植株高度和植株数量.

1.2 方法

以均匀设计的培养基配方为自变量,测量到的植株高度及植株数量为因变量,因其自变量因变量间数值差异较大,为避免回归系数过小及自变量为 0 带来的交互作用分析困难,采取先对自变量培养基配方及因变量植株高度、植株数量进行 0.1 ~0.9 极差规格化预处理,再应用二次多项式逐步回归方法分别建立回归方程.

1.3 数理统计分析

采用 DPS 7.05 软件进行均匀设计和二次多项式逐步回归方程的建立及分析.

2 结果及分析

2.1 培养基配方的均匀设计及指标测量

实验基于 Benecke 培养基配方进行各个组分的均匀设计,狭叶仙鹤藓培养于各培养基上 30 d 后测量植株平均高度及植株总数,见表 1.

表 1 培养基配方及测量指标

培养基编号	NH_4NO_3 (*X*1)/(mg·L^{-1})	$CaCl_2$ (*X*2)/(mg·L^{-1})	KH_2PO_4 (*X*3)/(mg·L^{-1})	$MgSO_4$·$7H_2O$(*X*4)/(mg·L^{-1})	$FeCl_3$·$6H_2O$/(mg·L^{-1})	植株高度(*Y*1)/mm	植株总数(*Y*2)/株
1	350	0	200	150	微量	6.75	135
2	150	150	0	50	微量	8.90	258
3	200	200	300	50	微量	7.69	200
4	100	50	100	300	微量	5.71	80
5	0	100	150	100	微量	6.88	179
6	300	300	50	200	微量	10.77	334
7	250	50	50	0	微量	8.72	253
8	200	100	100	100	微量	7.92	293

应用 DPS 7.05 软件进行基于 Benecke 培养基配方的各个组分的均匀设计,得到反映培养基均匀性的参数为:中心化偏差 $CD = 0.3070$,$L2$ - 偏差 $D = 0.0528$,修正偏差 $MD = 0.3588$,对称化偏差 $SD = 1.1459$,可卷偏差 $WD = 0.4268$,设计矩阵条件数 $C = 8.0954$,D - 优良性 $= 0.0000$. 由此可见,其矩阵条件数 C 略微偏大,表示各因子间有轻度线性相关,但是考虑到实验次数较少,实验旨在初步探讨各个营养元素对于狭叶仙鹤藓的植株高度、植株数量的影响,因此尚在可接受范围内,矩阵均匀性符合实验需要,可以应用于后续的建模分析.

2.2 二次多项式逐步回归方程的建立

2.2.1 植株高度二次多项式回归方程的建立

以 0.1 ~0.9 极差规格化后的培养基配方为自变量,植株高度为因变量,应用 DPS7.05 建立植株高度二次多项式逐步回归方程:$Y1 = 0.47 + 0.33 \times X1^2 + 0.82X2 \times X4 - 1.65X3 \times X4$. 同时得到二次多项式逐步回归方程的相关统计学指标:相关系数 $R = 0.9945$,F 值 $= 120.1920$,p - 值 $= 0.0002$,剩余标准差 $S = 0.0344$, Durbin-Watson 统计量 $d = 2.2850$. 由以上回归方程统计学指标可以看出,回归方程能够正确反映各因素与植株高度之间的关系,可靠性较高. 从各影响因素的方程回归系数来看,*X*1(NH_4NO_3),*X*2($CaC1_2$)与植株高度呈正相关关系;*X*3(KH_2PO_4)与植株高度呈负相关关系;*X*4($MgSO_4$·$7H_2O$)在不同取值条件下可能与植物高度关系不同,因 *X*2($CaC1_2$)与 *X*4($MgSO_4$·$7H_2O$),*X*3(KH_2PO_4)与 *X*4($MgSO_4$·$7H_2O$)有交互作用,随着 *X*2($CaC1_2$),*X*3(KH_2PO_4)的取值不同,*X*4($MgSO_4$·$7H_2O$)的影响大小和方向会产生变化.

回归方程取理论最大值 $Y1 = 1.2532$,此时自变量的理论最佳值为 $X1 = 0.8999$,$X2 = 0.9000$,$X3 = 0.1000$,$X4 = 0.8999$. 研究 *Xi* 与 *Y*1 的作用关系时,固定其他 3 个因素为理论最佳值,可以得到 *Xi* 与 *Y*1 的变化关系(如下图 1). 对图形进行分析可以得到:在回归方程取理论最大值,即理论植株高度最高时,*X*1(NH_4NO_3),*X*2($CaC1_2$),*X*3(KH_2PO_4)与植株高度呈正相关. 植株高度随着 *X*1(NH_4NO_3)的增大呈现较缓慢的增加;而随着 *X*2($CaC1_2$),*X*4($MgSO_4$·$7H_2O$)的增大呈现较为快速的增加;*X*3(KH_2PO_4)与植株高度呈负相关,随着 *X*3(KH_2PO_4)的增大,植株高度明显降低.

2.2.2 植株数量二次多项式回归方程的建立

以 0.1 ~0.9 极差规格化后的培养基配方为自变量,植株数量为因变量,应用 DPS7.05 建立二次多项式逐步回归方程:$Y2 = 0.56 - 0.57X2^2 - 2.13X3^2 - 1.00X4^2 + 1.39X1 \times X4 + 3.08X2 \times X3$. 同时得到表征二次多项式逐步回归方程的可靠性的统计学指标:相关系数 $R = 0.9982$,F 值 $= 113.5062$,p - 值 $= 0.0088$,剩余标准差 $S = 0.0294$, Durbin-

Watson 统计量 $d = 1.742$. 由以上回归方程统计指标可以看出,回归方程效果较好,能够正确反映各因素与植株数量之间的关系,可靠性较高. 从方程回归系数来看,植株数量与 $X1$(NH_4NO_3)呈正相关;植株数量与 $X2$($CaCl_2$),$X3$(KH_2PO_4)的平方项呈负相关;与 $X1$(NH_4NO_3),$X4$($MgSO_4 \cdot 7H_2O$)的交互项,与 $X2$($CaCl_2$),$X3$(KH_2PO_4)的交互项呈正相关;$X1$(NH_4NO_3),$X4$($MgSO_4 \cdot 7H_2O$),$X2$($CaCl_2$),$X3$(KH_2PO_4)之间存在交互作用.

下讨论 Xi 与 $Y2$ 的变化关系(见图 2).

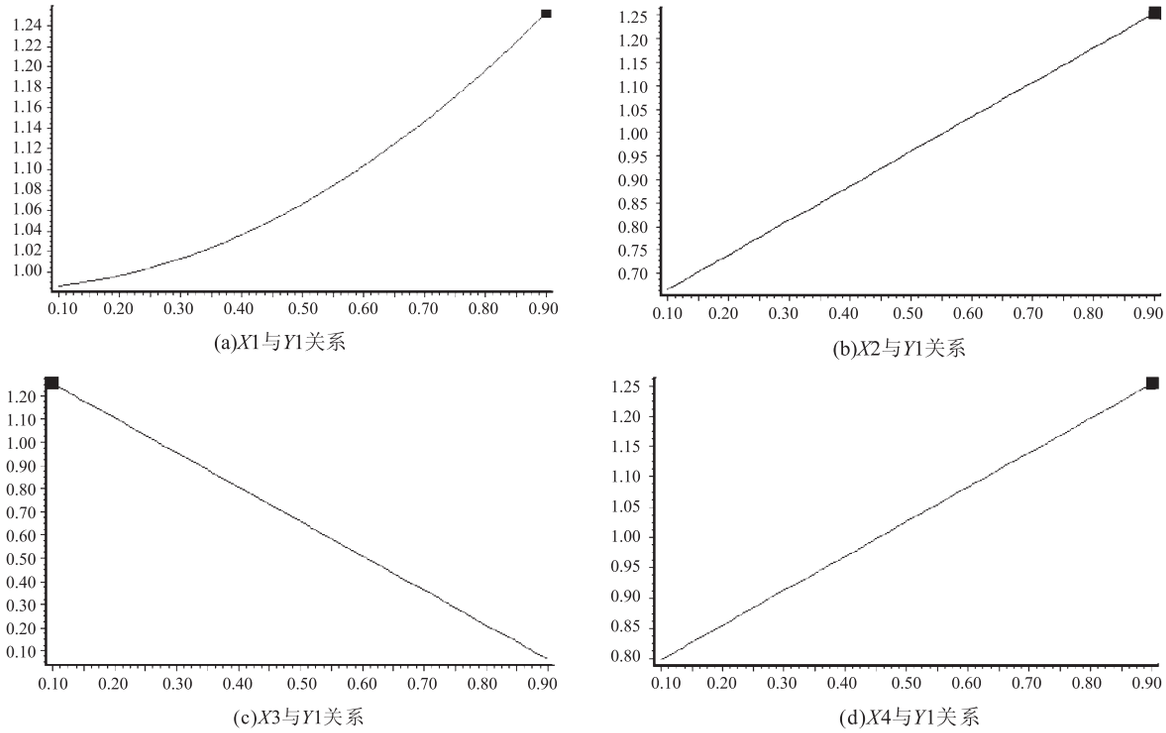

图1 各个因素与植株高度的关系图

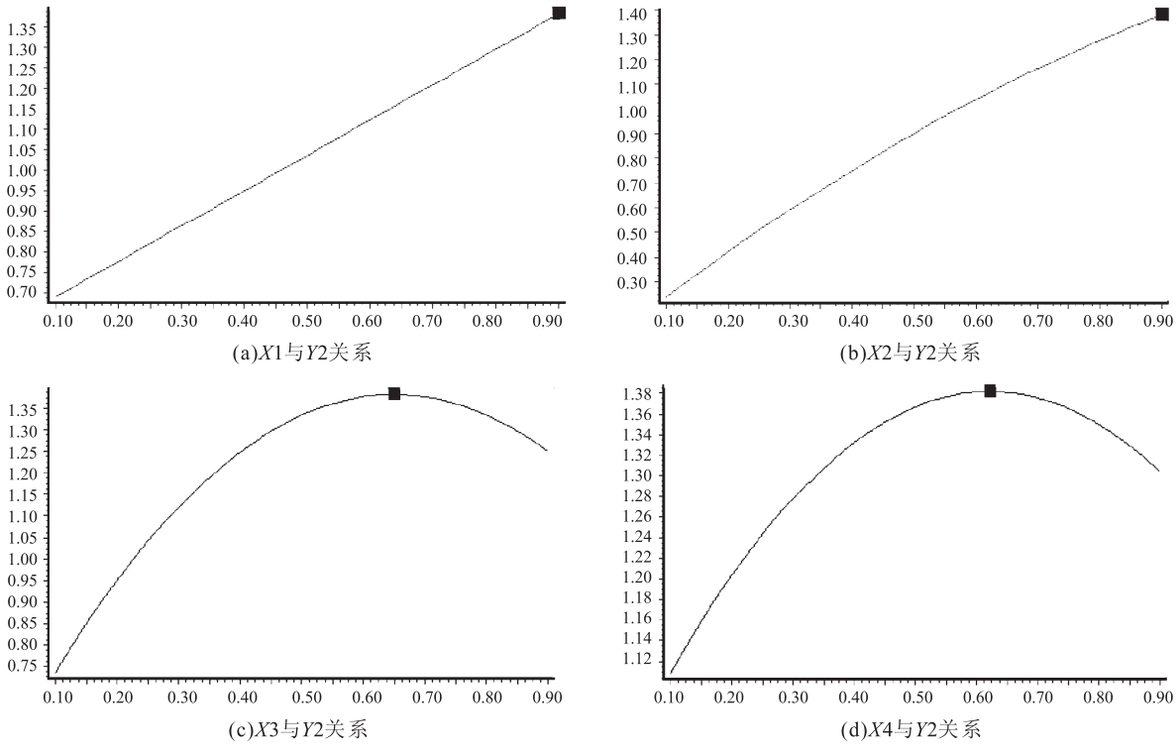

图2 各个因素与植株数量的关系图

回归方程取理论最大值为 $Y2 = 1.3817$，此时自变量的理论最佳值为 $X1 = 0.9000$，$X2 = 0.9000$，$X3 = 0.6504$，$X4 = 0.6222$，研究 Xi 与 $Y2$ 的作用关系时，固定其他 3 个因素为理论最佳值，可以得到 Xi 与 $Y2$ 的变化关系图（见图 2）. 对图形进行分析可以得到：在回归方程取理论最大值，即植株数量最多时，$X1$（NH_4NO_3），$X2$（$CaCl_2$）与植株数量呈正相关，植株数量随 $X1$（NH_4NO_3），$X2$（$CaCl_2$）的增大而快速增加；$X3$（KH_2PO_4），$X4$（$MgSO_4 \cdot 7H_2O$）与植株数量呈先增加后降低的趋势.

2.2.3 培养基配方与植株高度和数量关系综合分析

综合上述两个二次多项式回归方程来看，$X1$（NH_4NO_3），$X2$（$CaCl_2$）对植株高度和数量都趋向于正向积极的促进作用；$X4$（$MgSO_4 \cdot 7H_2O$）对植株高度起到促进作用，对植株数量在一定范围内起到促进作用，用量过大会使植株数量减少；$X3$（KH_2PO_4）对植株高度起负面作用，对植株数量在一定范围内起促进作用.

3 讨论

在前期研究中筛选了适合狭叶仙鹤藓生长发育的培养基，结果表明，Beneck 培养基比 MS 培养基更有利于孢子悬浮液发育为植株[22]. 为了进一步优化 Beneck 培养基，提高狭叶仙鹤藓扩繁的数量和质量，本文中应用均匀设计方法得到了 8 组调整元素用量组合的培养基. 从均匀性参数上来看，除矩阵条件数（$C = 8.0954$）略高外，其他参数都较好. 矩阵条件数略高，表明实验各个因子之间稍有共线性，但是本实验只是初步探索狭叶仙鹤藓生长过程中各个营养元素的影响，实验次数较少，因此均匀设计结果可以保证后续分析的正常进行，如果要得到更满意的结果还需适当增加实验次数，增加矩阵均匀性.

均匀设计可以起到一定的培养基筛选效果，但是不能定量分析各个因素对狭叶仙鹤藓生长的影响，为此，以均匀设计的培养基为自变量，狭叶仙鹤藓植株高度和植株数量为因变量分别构建了二次多项式逐步回归方程，通过对回归方程的分析表明：NH_4NO_3，$CaCl_2$ 能够对狭叶仙鹤藓植株高度和植株数量起到有益作用，即 N 和 Ca^{2+} 能够在狭叶仙鹤藓的生长中起到促进作用；但是，K^+ 对狭叶仙鹤藓的植株高度会产生不利影响，不过适量的 K 元素能够促进狭叶仙鹤藓的植株数量，而大量使用也会对狭叶仙鹤藓的植株数量产生不利影响；而适量的 Mg^{2+} 对狭叶仙鹤藓的生长同样也是有促进作用的. 因使用的是 Ca^{2+}，K^+，Mg^{2+} 等离子的盐类，以后尚须考虑和探索其阴离子对狭叶仙鹤藓生长发育的作用，以及盐中阴阳离子的互作效应. 此外，在后续的研究中，期望狭叶仙鹤藓大量扩繁并保证植株质量，应在质量浓度为 0 ~ 350 mg/L 的用量范围内，大量使用 NH_4NO_3，$CaCl_2$，中量使用 $MgSO_4 \cdot 7H_2O$，少量使用 KH_2PO_4.

致谢：感谢中国科学院昆明植物研究所黎兴江研究员对本研究中植物材料的鉴定！

[参考文献]

[1] HEEKMNAN D S, GEISER D M, EIDELL B R, et al. Molecular evidence for the early colonization of land by fungi and plnats[J]. Seience, 2001, 293: 1129 - 1133.

[2] 汪庆，贺善安，吴鹏程，等. 苔藓植物的多样性研究[J]. 生物多样性，1999，7(4)：332 - 339.

[3] 谢维，曹同，韩桂春，等. 苔藓植物对抚顺地区大气污染的指示作用研究[J]. 生态学杂志，1999，18(3)：1 - 5.

[4] 王桂花，谢树莲，张峰，等. 山西蟒河自然保护区苔藓植物研究[J]. 山西大学学报：自然科学版，2007，30(4)：532 - 537.

[5] 张楠，杜宝明，季梦成. 苔藓植物组织培养研究进展[J]. 浙江农林大学学报，2011，28(2)：305 - 313.

[6] HOHE A, RESKI R. From axenic spore germination to molecular farming one century of bryophyte in vitro culture[J]. Plant Cell Report, 2005, 23: 513 - 521.

[7] OHTA Y, HIROSE Y. Induction and characteristics of cultured cells from some liverworts of Jungermanniales[J]. Hattori Bot Lab, 1982, 53: 239 - 244.

[8] 李文安. 地钱在离体条件下的无性繁殖及脱分化与再分化的研究[J]. 植物学报，1990，32(11)：825 - 857.

[9] 高永超，沙伟，张晗. 不同植物生长物质对牛角藓愈伤组织诱导的影响[J]. 植物生理学通迅，2003，39(1)：29 - 32.

[10] 潘一廷，施定基，杨明丽，等. 小立碗愈伤组织诱导和培养[J]. 植物生理学通讯，2005，41(3)：293 - 296.

[11] LAL M. The culture of bryophytes in cluding apogamy, apospory, parthenogenesis and protoplasts[G]//DYER A F, DUCKETT J G. The experimental Biology of Bryophytes. Londan: Academic Press, 1984.

[12] 李艳，王青，李英慧，等. 正交设计在黄金鱼花组织培养中的应用[J]. 园艺学报，2011，28(6)：570 - 571.

[13] 玄雪梅，王艳，蔡伟民. 正交设计法在刺墙藓原代组织培养中的应用[J]. 生物技术，2004，14(3)：32 - 33.

[14] 郭会利. 多元回归分析的逐步回归预测模型[J]. 数学教学与研究，2009(26)：92 - 93.

[15] 阮光辉，肖义越. 二次多项式逐步回归在油田压裂产能预测中的应用[J]. 地质科学，1981(1)：87 - 93.

[16] 周丛丛，李洁，张晓光，等. 基于人工神经网络的聚合物驱提高采收率预测：人工神经网络与二次多项式逐步回归方法的对比[J]. 大庆石油地质与开发，2008，27(3)：113 - 116.

[17] 向仰州，刘方，周琳莉，等. 改良粉煤灰作多年生黑麦草栽培基质配方的效果[J]. 贵州农业科学，2009，37(8)：147 - 149.

[18] REDFEARN P L, TAN B C, HE S A. A newly updated and annotated chechlist of Chinese mosses[J]. Journ Hattori Bot Lab, 1996, 79: 163 - 357.

[19] 陈帮杰，万宗玲，高谦，等. 中国藓类植物属志：上册[M]. 北京：科学出版社，1963.

[20] HYVONEN J, WU P C. The identity of Microdendron sinense: Polytrichaceae[J]. The Bryologist, 1993, 96: 631 - 634.

[21] LIU Y, JIA Y, WANG W, et al. A taxonomic reassessment of Microdendron inferred froim molecular and morphological evidence[J]. The Bryologist, 2005, 108: 591 - 599.

[22] 李骏盈，陈林，李育中，等. 几种苔藓植物的组织培养[J]. 云南大学学报：自然科学版，2011(S1)：324 - 329.