柠条锦鸡儿组培苗继代培养中矿质元素的吸收规律

富艳臣¹, 邓正正², 王力华², 马利莘², 刘 阳³

(1. 新宾县林业局 国管站, 辽宁 新宾 113200; 2. 中国科学院 沈阳应用生态研究所, 辽宁 沈阳 110016;
3. 辽宁省林业科学研究所, 辽宁 沈阳 110032)

摘 要:比较柠条锦鸡儿在 MS、WPM、B5 三种基本培养基中对 P、K、Ca、Mg、Mn、Cu 等主要矿质元素的吸收规律, 用向量分析方法找出三种基本培养基中的限制因子。结果表明: 矿质养分整体供应水平是影响柠条锦鸡儿组培苗吸收矿质元素的关键因子; 除此之外, MS 培养基的 Ca、P 水平偏低, WPM 和 B5 培养基的主要限制因子分别为 K、Mn 和 Ca、P、K。

关键词:柠条锦鸡儿; 组织培养; 矿质养分; 吸收规律

中图分类号: S793.3; S722.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-1714(2007)03-0013-04

The Absorption Laws of Mineral Elements in the Process of Plant Tissue Culture of *Caragana korshinskii*

FU Yan - chen¹, DENG Zheng - zheng², WANG Li - hua², MA Li - ping², LIU Yang³

(1. Administrative Station of State - Owned Forestry Farm of Xinbin County Forestry Bureau, Xinbin 113200, China; 2. Institute of Applied Ecology, CAS, Shenyang 110016, China; 3. Liaoning Academy of Forestry Science, Shenyang 110032, China)

Abstracts: The absorption laws of such mineral elements as P, K, Ca, Mg, Mn and Cu in the process of plant tissue culture of *Caragana korshinskii* were studied in different media of MS, WPM and B5. Meanwhile, the restrictive factors were found in these media by Vector Analysis. The results showed that the overall levels of minerals were major restrictive factors for the cultured seedling of *Caragana korshinskii*. Furthermore, Ca and P levels were lower in the MS medium. K and Mn in the WPM medium, and Ca, P and K in the B5 medium were major restrictive factors.

Key words: *Caragana korshinskii*; tissue culture; mineral elements; absorption laws

离体植物的生长和形态建成可以通过控制矿质营养的最佳浓度组成来有效调节^[1,2]。植物种和变种对不同矿质营养元素的特异性不同^[1]。为优化培养条件,有必要为每一个种甚至基因型确定最佳的营养组成。以往人们在研究矿质营养对离体植物形态建成的影响时,主要集中在单个元素或单个无机盐^[3],并未过多考虑元素间的相互关系。而养分间的某些相互作用会涉及一种养分对另一种养分吸收和利用的影响,或者只是比较不同培养基对培养物生长的影响^[4,5],而未究其原因。鉴于此,本文研究柠条锦鸡儿离体芽在不同培养基中增殖生长过程中矿质养分的吸收规律,为进一步优化培养基打好基础。目前已知柠条锦鸡儿在增殖阶段的最佳培养基为 MS + 6 - BA 2mg·L⁻¹ + GA 2mg·L⁻¹^[6]。

1 材料与方法

1.1 试验材料

柠条锦鸡儿组培苗。

1.2 增殖阶段培养基

增殖培养基以 MS、WPM、B5 为基本培养基,附加 6 - BA 2mg·L⁻¹和 GA 2mg·L⁻¹,白糖 30g·L⁻¹,琼脂 7g·L⁻¹。

1.3 组培苗养分分析

1.3.1 组培苗养分测定

在增殖培养阶段,柠条锦鸡儿经过 4 次继代(30d/次)后,在第 5 个继代周期里进行组培苗矿质养分的测定。配培养基时,每个三角瓶中分装 60ml 培养基,称重,记为 W₀。接上苗后再称重记为 W₁,则苗的初始重为 W₁ - W₀。留一定量的苗,对其矿

质营养浓度(干重)进行测定,作为初始浓度。每隔1周取样测定1次,称重,记为 W_i , 苗的增重即可求得,共取样4次。所有离子用美国 PE 公司生产的 ICP3000 型电感耦合全谱等离子直读光谱仪测定。

1.3.2 组培苗养分分析方法

增殖阶段组培苗所测的养分含量变化用向量分析^[7-10]进行评价。向量分析在植物生长和营养状态对试验处理的响应方面是一个有力的工具,把植物生物量、养分浓度和养分含量联系在一起进行养分评价。向量分析法是在一张矢量图上进行(图1),比较诊断对象的干物质重量(多称生物量)和养分组成情况。以养分含量(X)、养分浓度(Y)和生物量(Z)的函数关系 $X = f(Y, Z)$ 为基础,在横轴(X轴)右上方引入一个辅助坐标轴(Z轴),根据研究需要确定参比对象,把参比对象的3个参数视为100(空心点示之),然后分别绘制诊断对象的向量线。根据向量的大小、方向判断各营养元素营养状况(亏缺、充足、奢侈消耗、毒害、稀释等)及其程度(表1)。

图1 向量分析图

表1 植物营养诊断说明指导

适量类型	相对变化			说明
	生物量	养分浓度	养分含量	
A	+	-	+	稀释
B	+	0	+	充足
C	+	+	+	缺乏
D	0	+	+	奢侈消耗
E	-	++	+ -	超量
F	-	-	-	超量

本试验以 MS 培养基中的幼苗养分浓度、含量为对照,计算不同时期 WPM、B5 培养基中幼苗相对养分浓度、含量,进行养分状况评价。

2 结果与分析

2.1 培养1周后不同培养基中柠条锦鸡儿对矿质营养吸收的影响

柠条锦鸡儿在不同培养基中培养1周后,各矿质元素含量出现不同程度的负增长,即出现离子外流现象,见图2。

图2 柠条锦鸡儿培养1周后矿质养分含量变化

Williams^[11]在研究影响离体培养矿质吸收的因子时也出现了同样的现象,但并未对其作深一步的分析。本次试验中,K在WPM中有外流,P、Ca在MS和B5培养的组培苗中都有不同程度的外流,尤其Ca在B5中流出量最多。通过比较这3个基本培养基,发现原培养基中矿质元素含量相对较低,在培养第1周里都有不同程度的外流,如Ca在MS、WPM和B5中含量分别为 $194.64\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $195.83\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $113.20\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,表现为在MS和B5中有外流;K在MS、WPM和B5中含量分别为 $752.94\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $482.08\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $966.51\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$,表现为在WPM中有外流,推断组培苗和基本培养基的矿质养分离子间存在离子数量平衡问题。适当提高培养基中的矿质养分浓度,可使组培苗与培养基养分间尽快达到数量平衡,有利于组培苗吸收矿质养分进行生长。

2.2 培养2周后不同培养基中柠条锦鸡儿对矿质营养吸收的影响

把组培苗的初始含量和浓度值看作100,1周、2周和3周测得的含量和浓度都除以初始含量和浓度再乘以100%,即得不同阶段的相对含量和相对浓度,结果见表2。

柠条锦鸡儿组培苗转接到新鲜培养基后,所有离子的相对浓度都降低,这可能和离子外渗有关。第1周(图2),在MS中柠条锦鸡儿组培苗中K的相对含量增加,其它矿质离子的相对含量减少。从向量大小来看,都比较集中,所以影响因子都不是太大。在WPM中相对含量增加的有P、Ca、Cu, B5中相对含量增加的是 K^+ ,且相对含量增加的矿质离子都落在稀释区,不是限制因子。但是相对含量减少的其它离子都落在对抗区域,主要是由离子间的拮抗作用引起的,例如B5和MS培养基中,当柠条锦鸡儿组培苗吸收 K^+ 增加时, Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 的吸收相对减少;而在WPM中, Ca^{2+} 、 Cu^{2+} 吸收量增加的同时,降低对 K^+ 的吸收。从向量大小看, B5中的 Ca^{2+} 、 K^+ 含量是影响较大的因子, WPM中的 Mn^{2+} 是

主要的影响因子。

表 2 柠条锦鸡儿在不同阶段的相对浓度及相对含量

时间(周)	培养基	相对浓度						相对含量					
		K	P	Ca	Mg	Mn	Cu	K	P	Ca	Mg	Mn	Cu
1	MS	60.95	55.91	50.34	53.39	55.45	52.36	100.07	91.80	82.65	87.65	91.03	85.97
	WPM	43.78	45.03	47.64	43.99	34.78	44.64	98.70	101.52	107.41	99.19	78.41	100.63
	B5	51.70	43.78	26.84	43.97	36.66	36.34	117.01	99.07	60.75	99.52	82.98	82.25
2	MS	48.46	53.42	43.05	47.87	48.62	52.46	104.47	115.16	92.80	103.21	104.82	113.09
	WPM	31.55	34.21	38.45	37.08	30.55	47.32	102.53	111.19	124.98	120.50	99.28	153.79
	B5	41.96	50.56	35.32	45.28	42.33	42.23	83.72	100.88	70.47	90.35	84.46	84.26
3	MS	47.66	44.72	54.65	51.63	47.74	48.37	101.87	95.59	116.82	110.36	102.05	103.41
	WPM	42.41	57.68	48.72	40.04	24.87	43.96	113.70	154.64	130.62	107.35	66.67	117.86
	B5	51.27	53.77	50.73	43.76	59.40	52.38	107.71	112.96	106.58	91.93	124.79	110.03

图 3 柠条锦鸡儿第 1 周的养分状态

Teng 和 Timmer^[12](1990)报道在杂交杨树上过量磷诱导微量元素的失调,在 2 倍的最佳处理中,观察到 Zn、Cu 缺乏的症状。P 诱导微量元素缺乏在农作物和果树上也有大量报道。但在本次试验中,观察到 WPM 中 P 的净吸收量增加,而 Cu 的净吸收量也增加,说明 WPM 中 P 的含量未超出最佳范围。

结合上面组培苗适应阶段的讨论,不难看出,相对于 WPM 培养基,MS 中 Ca 含量显得少一些,因而在这阶段出现外流。因此,在对 MS 培养基进行改良时,应当适当提高 Ca、P 的含量。

到第 2 周(图 4),组培苗在不同培养基中对矿质离子的吸收表现各异。在 MS 中,组培苗对 K、P、Mg、Mn、Cu 的吸收都有所增加,处于稀释状态,说明 MS 中的组培苗经过第一阶段的适应调节后,在第 2 周里对 P、K、Mg、Mn、Cu 矿质营养开始迅速吸收利用,同时从生物量增加程度也能反映出来。MS 中柠条锦鸡儿在前 2 周内平均增重 3.04g,而在 WPM、B5 中分别增重 2.7g、2.11g;尽管 WPM 中的组培苗对 P、K、Ca、Mg、Cu 的相对吸收也增加,处于稀释状态,但 WPM 中组培苗从一开始对 Mn 就没有吸收,始终处于对抗状态,也就是说 Mn 与某一种或几种离子处于拮抗状态。而 Mn 在绿色植物中的主要功能是参与光合放氧反应,直接影响到干物质产量。因而在所调查的矿质养分中,WPM 中影响组培苗生长的主要

限制因子可能是 Mn。B5 中只有 P 相对含量增加,其它离子都处于对抗状态,相对含量都减少,可能是由于 B5 中整体矿质营养水平失调引起的。

图 4 柠条锦鸡儿第 2 周的养分状态

2.3 培养 3 周后不同培养基中柠条锦鸡儿对矿质营养吸收的影响

到了第 3 周(图 5),MS 培养基中相对含量增加的有 K、Ca、Mg、Mn、Cu, WPM 培养基为 K、P、Ca、Mg、Cu,而 B5 中是 K、P、Ca、Mn、Cu,相应的总生物量分别增加了 5.04g、1.94g、2.51g。

图 5 柠条锦鸡儿第 3 周的养分状态

从前 3 周的数据可以看出,各元素的相对浓度变化不大,而组培苗的相对含量在不同培养基中好像比浓度更敏感,可能因为它反映了组培苗大小的可变性。从数据还能判断出,组培苗对矿质离子的吸收受培养基中总的矿质供应水平和离子相对比率的影响。

(下转第 25 页)

tum)、舞毒蛾、黄褐天幕毛虫、黄斑波纹杂毛虫 (*Cyclophragma undans fasciatella*)、椴卷叶象 (*Henicolabus giganteus*)、双簇天牛、黄胡蜂等。

2.2.3.7 灌木丛

本区的灌丛分为高山灌丛和荒山及河滩两岸灌丛。前者分布在海拔 1 250m 以上的老秃顶子和花脖子山顶,主要植物有红丁香、胡榛子、锦带花等。森林昆虫种类主要有毛榛梢小蠹 (*Cryphalus mandschuricus*)、平尾无翅蝗 (*Zubovskia planicaudata*)、亚翅度蝗 (*Podismopsis juxtapenna*) 等。而荒山及河滩两岸灌丛多分布在海拔 300m 以下,主要灌木有榛子、胡枝子、荚迷、珍珠梅、柳树丛等。主要森林昆虫有隐头叶甲 (*Coptocephalus* sp.)、长翅燕蝗 (*Eirenephilus longipennis*)、榛卷叶象 (*Apoderus coryli*)、榛实象 (*Curculio dieckmanni*)、杨叶甲、双痣圆龟蝽 (*Coptosoma biguttula*)、梨光叶甲 (*Smaragdins semiaurantiaca*)、环斑猛猎蝽 (*Sphedanolestes impressicollis*)、大刀螂 (*Paratenodera aridifolia*) 等。

3 治理对策

3.1 搞好森林害虫监测预报,采取点上监测与面上监测相结合;主要森林害虫重点监测与突发性害虫监测相结合;地面监测与低空监测相结合;专兼测报人员相结合。只有这样,才能及时掌握森林害虫的

发生趋势和动态,为防治决策提供科学依据。

3.2 加强综合性营林措施,提高森林生态系统的调控能力。在促进健康森林,建设稳定森林生态系统的共同目标前提下,林业系统各职能部门应密切配合,协同作战,使森林病虫害防治贯穿林业生产全过程,选育抗性品种,合理搭配树种营造混交林,对纯林和低产林进行改造;实施封山育林,增加生物的多样性,提高森林自控能力,实现可持续控灾,维护生态平衡。

3.3 对目前本区内危害严重的森林害虫,如栗山天牛、日本松干蚧等,积极采取对环境安全的无公害防治技术,实现科学控灾。

3.4 以现有管氏肿腿蜂 (*Scleroderma guani*) 繁育中心为平台,深入开展天敌昆虫的研究,大力开展益鸟招引、释放天敌、以菌治虫等生物防治技术。

3.5 对潜在危险性的森林害虫,在深入研究其生物学、生态学特性的基础上,采取有效措施,以防扩大蔓延,造成更大的灾害。

3.6 积极开展检疫和疫情普查工作,杜绝外来有害生物侵入。加强产地检疫、调运检疫和复检,杜绝外来有害生物传入,保护我县林业生产和生态安全。

(责任编辑:苑 辉)

(上接第 15 页)

3 结 论

本实验测试 MS、WPM、B5 培养基对柠条锦鸡儿生长有影响的主要矿质离子的吸收规律。结果表明,组培苗转接完 1 周左右,苗与培养基之间有一个离子数量平衡问题,因此推断,在矿质养分供应、矿质吸收和植物生长方面,矿质养分整体供应水平是关键因子。虽然试验得出 MS 是柠条锦鸡儿增殖培养的最佳基本培养基^[6],但还存在 Ca、P 水平偏低的缺陷,有待对 MS 培养基做进一步改进。通过试验也知道 WPM、B5 培养基之所以不适合柠条锦鸡儿增殖培养,主要的限制因子分别为 K、Mn 和 Ca、P、K。

参 考 文 献:

- [1] Saric, M, Krstic B, Skoric D. Element diversity in sunflower inbred lines[J]. *Helia*, 1991, 14(15): 41 - 48.
- [2] Leifert C, Murphy K P, Lumsden P J. Mineral and carbohydrate nutrition of plant cell and tissue culture[J]. *Crit. Rev. Plant Sci*, 1995, 14: 83 - 109.
- [3] Evans M, M S, Barton M K. Genetics of angiosperm shoot apical meristem development[J]. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol*, 1997, 48: 673 - 701.
- [4] 郝岗平, 杜希华, 尤勇, 等. 不同因素对离体培养的银杏

幼茎腋芽生长发育的影响[J]. *林业科学研究*, 2000, 13 (2): 217 - 221.

- [5] 克贤, 李伟, 徐秒珍, 等. 长白落叶松组织培养的研究[J]. *林业科学*, 1996, 32(2): 125 - 133.
- [6] 王力华, 邓正正, 姚晓福, 等. 锦鸡儿属中 3 种植物的组织培养及快速繁殖[J]. *植物生理学通讯*, 2004, 40(4): 456.
- [7] HEINSDORE D. Untersuchungen über die wirkung mineralischer dungung auf das wachstum und den ernährungszustand von kiefern kulturen auf sandboden im nordostdeutschen tiefland[J]. *Arch. Forstwes*, 1967, 16: 3 - 35.
- [8] KRAUSE H H. Untersuchungen über die Melioration degradiert-er Sandböden im nordostdeutschen Tiefland[J]. *Arch. Forstwes*. 1965, 14: 499 - 532.
- [9] A D MUNSON, V R TIMMER. Site - specific growth and nutrition of planted *Picea mariana* in the Ontario Clay Belt. I. Early performance[J]. *Can. J. For. Res*, 1989, 19: 162 - 169.
- [10] D L HAASE, R ROSE. Vector analysis and its use for interpreting plant nutrient shifts in response to silvicultural treatments[J]. *Forest Science*, 1995, 41: 54 - 66.
- [11] R R Williams. Factors determining mineral uptake in vitro [J]. *Acta Horticulturae*. 1991, 289: 165 - 168.
- [12] Teng Y, Timmer V R. Phosphorus - induced micronutrient disorders in hybrid poplar[J]. *Plant and Soil*, 1990, 126: 19 - 51.

(责任编辑:张素清)