

# 氮、磷、钙、镁对杨树叶片分化及生长的影响

李红双, 刘巧辉

(南京信息工程大学 环境科学与工程学院, 南京 210044)

**摘要:** 试验选用三倍体毛白杨的叶片作为外植体,在不改变激素浓度及配比的前提下,通过改变 MS 培养基中元素 N、P、Ca、Mg 的浓度,培养数天后,对不同浓度的 N、P、Ca、Mg 对叶片分化再生及生长状况进行了研究探索。

**关键词:** 元素;毛白杨;叶片培养;分化

**中图分类号:** Q 945.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2007)12-0122-03

植物在其生长过程中需要各种营养成分去维持自己的正常生理活动,其中包括矿质元素。这些矿质元素有的作为植物体的组成成分,有的作为调节植物的生理功能,也有的二者兼备。在植物生长过程中与其相关的矿质元素大约 16 种。它们是 C、H、O、N、P、K、Ca、Mg、S、Fe、Zn、Cu、B、Mn、Mo 和 Cl。这 16 种元素根据它们在植物中存在的数量和植物需要的多少大致可分为大量元素和微量元素<sup>[1]</sup>。同样植物在离体培养条件下培养,其培养基中也需要各种营养成分。不同种植物,甚至同一种植物不同部分对营养的需求也不相同。

目前,各类组织培养中最常改动的因素是生长调节物质,尤其是生长素和细胞分裂素,其次是调整有机成分,而对培养基中的大量元素和微量元素多数是沿用传统配方<sup>[2]</sup>。大量资料表明,MS 培养基中 N、P、K 等大量元素的浓度和配比对不同组织的组织培养是适宜的<sup>[3]</sup>。但也有许多试验资料表明,MS 中的 N、P、K 等对外植体的诱导、再生等过程有不同的作用。不同的植物组织乃至同一种植物不同部分的组织对营养的要求亦不相同<sup>[2]</sup>。众所周知,矿质元素在植物生长发育中具有相当重要的作用。也有一些报道表明<sup>[4]</sup>,无机元素的含量及其盐的形式变化,会影响到细胞分裂的同步化过程和细胞胚的发生。因而推断,在细胞分裂和分化中也应该是重要的调节因子。那么,MS 培养基中 N、P、K 等大量元素对各种外植体的培养来说,其浓度及配比是否都是最佳的,目前尚无一致意见。对于 MS 中 N、P、K 等含量、配比对杨树叶片培养的影响问题也未见报道。该研究的主要目的就是探索 MS 中主要大量元素氮(N)、钙(Ca)、镁(Mg)、磷(P)在不同浓度下对杨树叶片分化、再生等的影响,并进一步寻找出这些元素的最佳浓度,为

进一步提高分化和再生频率提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

试验材料为 BT-18 号三倍体毛白杨。将处于休眠期的 BT-18 号毛白杨枝条水培于培养室中,让其萌发生长,当幼叶长至 3~4 cm<sup>2</sup> 时用作组织培养的外植体。按常规消毒接种方法处理后,将幼叶切割成 0.5 cm<sup>2</sup> 的小块,背面向下接种于诱导分化培养基上(基本培养基 MS 附加 6-BA 0.5 mg/g + KT 0.3 mg/g + NAA 0.2 mg/g + AD 30 mg/g),置于 (25±3)℃ 的培养室中培养诱导产生不定芽,培养室光照为 1 500~2 000 lx, 12 光/暗周期。

诱导产生的不定芽,按常规接种方法接种于 150 mL 三角瓶的壮苗培养基上(基本培养基 MS 附加 6-BA 0.3 mg/g + KT 0.2 mg/g + NAA 0.2 mg/g + AD 30 mg/g),三角瓶用塑料纸封口,置于 (25±3)℃ 的培养室中培养 4 周,此为试验用材。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 培养基的配制** 所用培养基均以前面诱导培养基为基础。只是改变 MS 培养基中大量元素 N、P、Ca、Mg 的配比,大量元素 N、P、Ca、Mg 的主要提供者 N 来自于 KNO<sub>3</sub> 和 NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>; P 为 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; Ca、Mg 分别是 CaCl<sub>2</sub> 和 MgSO<sub>4</sub>。其他成分不变。每种培养基做 4 个皿。在配制培养基时,其它成分与诱导培养基相同,只改变 MS 大量元素中的一种元素成分,将其配制成分不同浓度的 5 种培养基,其中 0(不含该元素)、1/2 倍(MS 中的 1/2 倍)、1 倍(正常 MS 含量)、2 倍(MS 中的 2 倍含量)、4 倍(MS 中的 4 倍含量),其它条件不变。

**1.2.2 接种与观察** 用壮苗培养 4 周后的杨树苗,取自新梢顶部第 3~5 片生长健壮、而且大小一致的叶片,在无菌条件下,用手术刀依次垂直叶脉的方向划 3 刀(不要完全切断),分别接种于激素浓度(诱导培养基)相同,元素含量不同的诱导培养基上,接种时叶片以其背面伤口处接触培养基,培养于 90 cm 的培养皿,每个皿中接种

第一作者简介:李红双(1965-),女,本科,副教授,主要从事植物营养及仪器分析应用研究。E-mail: lhsark@163.com。

收稿日期: 2007-07-23

6个叶片,用封口膜封好,置于(25±3)℃的培养室中培养诱导产生不定芽。在培养 10、20、30 d 后分别调查叶片再生芽的数量,并随时观察叶片的生长状况。

2 结果与分析

2.1 大量元素浓度对芽分化的影响

2.1.1 氮(N)对芽分化的影响 取生长良好的叶片接种到含氮不同浓度的培养基上,培养 10、20、30 d 后,观察各种培养基中叶片的生长状况及长芽情况(表 1)。从整个观察情况来看,接种 10 d 后,没有氮的培养皿中叶片从刀口处开始发红,20 d 后状况比较明显(图 1)。30 d

则全部死亡。植物缺氮是不能生存的。同样氮含量过高,如 N4,10 d 后叶片开始发黄,20 d 叶片周边发褐有的开始死亡,30 d 则全部死亡。含氮量太高,植物也会中毒死亡。中间阶段 10 d 基本没有差别,20 d 后 N1/2 生长有点缓慢,30 d 后 N1/2 明显看出营养不良,叶片松软发白,小芽生长不如 N1 健壮,且有部分愈伤组织坏死,N2 的培养皿中芽小,且生长有点卷曲还发黄。总之,植物缺氮就会失去绿色,而且生长缓慢甚至死亡。同样含氮量太高也会抑制植物生长。

表 1 不同浓度氮对杨树叶片生长及芽分化情况的影响					
N 浓度/倍	10 d 生长情况	20 d 芽数	生长情况	30 d 芽数	生长情况
0	刀口处有点发红	0	叶片刀口处发红开始死亡	0	全部死亡
1/2	基本正常	3.00	叶片生长缓慢	5.00	叶片松软、发白小芽,生长不如 N1
1	正常	5.25	生长正常	8.25	生长正常
2	基本正常	5.50	叶片生长与 1 相似	6.00	芽小且发黄,生长有点卷曲
4	叶片有点发黄	0	叶片发黄,周边已发褐	0	全部死亡

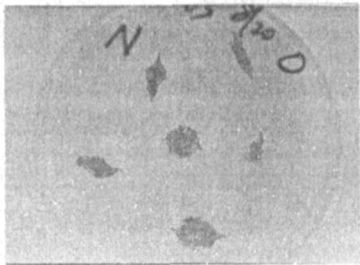


图 1 N0 20 d 生长情况

表 2 不同浓度磷对杨树叶片芽分化的影响					
P 浓度 / 倍	10 d 生长情况	20 d 芽数	生长情况	30 d 芽数	生长情况
0	叶片有点发黄	0	叶片发黄	0	个别死亡
1/2	正常	6.00	正常	8.50	芽生长基本正常
1	正常	5.25	正常	8.25	正常
2	正常	5.00	正常	7.50	芽大,营养充足
4	叶片发黄	1.00	芽少,叶片卷曲 周边开始褐化	1.70	芽小且少 大多数叶片发褐



图 2 P4 20 d 生长情况

2.1.2 磷(P)对芽分化的影响 磷通常以一价或二价

磷酸盐的形式被植物所吸收,植物对磷的吸收远远小于氮和钾。在 MS 培养基中  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  是磷的主要提供者。与上相同在配制诱导分化培养基时,MS 大量元素中磷配制成不同浓度的 5 种培养基,取生长良好的叶片接种到不同浓度的培养基上,培养 10、20、30 d 后的生长情况见表 2。虽然植物对磷的吸收远远小于氮和钾,植物缺磷也是不能生长的。不含磷的培养基在培养 1 周后就发现叶片发黄,30 d 后叶片死亡。观察发现 MS 中缺 P 时叶片死亡,无不定芽生成。当 P 的浓度在 1/2~2 MS 之间时,叶片平均出芽数随着 MS 中 P 元素浓度的增加而减少,但减少幅度不大。含磷太高 4 MS 时,则抑制叶片生长分化。另外还发现 P 的增加,其不定芽的产生部位主要分布在叶柄基和叶脉伤口处,而原培养基的不定芽主要叶柄基伤口处,其叶片伤口产生愈伤组织较多。这说明 P 的含量对不定芽的产生部位有一定影响。

2.1.3 钙(Ca)对芽分化的影响 取生长良好的叶片接种到含钙浓度不同的培养基上,培养 10、20、30 d 后的分别调查各种培养基上叶片芽分化数量及生长情况见表 3。钙是构成细胞壁的一种元素,果胶酸钙是植物细胞胞间层的主要成分,缺钙时分生组织受害最早,细胞壁形成受阻,细胞分裂受到影响。毛白杨叶片在不同浓度 Ca 的培养基中培养时,与 N 和 P 的影响不同。MS 中 Ca 的浓度为 0 时,叶片正常生长,不会死亡,只是叶片分化芽数减少。由表 3 可以看出,在培养初期(20 d)叶片平均出芽数均随着 MS 中 Ca 元素的浓度升高而加大,在 2 MS 时达最大,4 MS 则抑制生长,叶片偏绿出现中毒症状。到了后期(30 d),虽然分化芽数最多的还是 2 MS。但叶片及芽都偏绿,并且芽小不如正常 MS 培养基中生长状况好。

表 3 不同浓度钙对杨树叶片芽分化的影响

Ca 浓 度/倍	10 d 生长情况	20 d 芽数	生长情况	30 d 芽数	生长情况
0	正常	3.25	发黄	5.38	芽小且发黄不健壮
1/2	正常	4.25	正常	7.00	正常
1	正常	5.25	正常	8.25	正常
2	正常	6.25	正常	8.35	叶片偏绿
4	叶片偏绿	0.60	愈伤少叶片深绿色 (中毒症状愈伤水渍状)		全部死亡

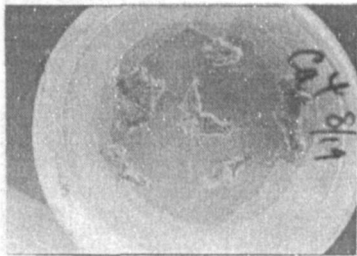


图 3 Ca4 20 d 生长情况

2.1.4 镁(Mg)对芽分化的影响 与上相同,将叶片接种到镁含量浓度不同的培养基上,培养 10、20、30 d 后的分别调查各种培养基的生长情况见表 4。MS 中 Mg 元素的浓度在 0~2 MS 之间变化时,叶片的平均出芽数随着 Mg 浓度的加大而增加,且从 20~30 d 的培养过程中,叶片的再生速率有较大提高。培养 20 d 时,Mg 元素浓度的变化对叶片再生速率影响不大。Mg 浓度为 2 MS 时,平均出芽数仅为 6.25 个芽/叶。培养 30 d 时,叶片的出芽数最多的还是 2 MS,只是芽有点发黄。但是 4 MS 生长情况不好,明显有抑制现象。

表 4 不同浓度镁对杨树叶片芽分化生长的影响

Mg 浓 度/倍	10 d 生长情况	20 d 芽数	生长情况	30 d 芽数	生长情况
0	正常	3.50	有点发黄	5.25	发黄
1/2	正常	4.00	正常	8.50	正常
1	正常	5.25	正常	8.25	正常
2	正常	6.25	正常	9.00	芽有点发黄
4	没变化	1.25	愈伤少叶片不膨胀	6.00	有的叶片死亡

3 讨论

在离体培养条件下培养植物外植体,其培养基中也需要各种营养成分。不同种植物的组织对营养有不同的需求,甚至同一种植物不同部分的组织对营养的需求也不相同。只有满足了各自的要求,生长才能尽如人意。因此,没有一种培养基能够适合一切类型的植物组织和器官培养。在建立一项新的培养体系时,首先必须找到一种能够满足该组织特殊要求的培养基,包括合适的激素种类配比,无机元素营养的种类与配比以及适宜的复合有机营养成分。MS 培养基是传统的几种培养基中最为常用的一种。尽管 MS 培养基的适用范围比较广(包括杨树的组培),但这种适用的广泛性是相对的。

参考文献

[ 1 ] 崔德才,徐培文.植物组织培养与工厂化育苗[ M ].北京:化学工业出版社 2003.  
[ 2 ] 黄学林,李悠菊.高等植物组织离体培养的形态建成及其调控[ M ].北京:科学出版社,1988.  
[ 3 ] 王家麟.植物组织培养及其应用研究概况[ J ].黑龙江农业科学,2006 (3): 86-89.  
[ 4 ] 潘瑞织.植物生理学[ M ].北京:高等教育出版社,2004.

Study on Effects of Several Elements on Growth Differentiations of *Populus tomentosa*

LI Hong-shuang, LIU Qiao-hui

(School of Enviromental Science and Engineering of Nanjing University of Information Science and Techonlogy, Nanjing 210044, China)

**Abstract:** The leaf blades of triploid *Populus tomentosa* were used as exophyte in this experiment. With the condition of being the same hormonal concentration and mixture ratio, the effects of trace elements with different concentration to differentiation reproduction and growth status of poplar leaf were studied by changing the element concentrations such as N, P, Ca, Mg in MS medium.

**Key words:** Elements; *Populus tomentosa*; Leaf blade culture; Differentiation

欢迎订阅《北方园艺》期刊

邮发代号 14-150 单月刊 每册定价 6.00 元 全年 72.00 元