

# 组织培养中花楸缺素症的研究

舒 钰<sup>1</sup>, 周 野<sup>2</sup>, 王 丹<sup>1</sup>, 李 晶<sup>1</sup>

(1. 黑龙江省林业科学研究所, 黑龙江 哈尔滨 150081; 2. 黑龙江省农业科学院 食品加工研究所, 黑龙江 哈尔滨 150069)

**摘 要:**以百花花楸带侧芽茎段为试材,研究了培养基配方中分别缺失氮磷钾元素的症状,以期选择适合植物生长的培养基配方提供理论依据。结果表明:最早出现缺素症状的是缺氮培养,其次是缺钾培养和缺磷培养;根系活力、光合速率、叶绿素含量以及干重都是缺氮培养的花楸最低,其次是缺钾,缺磷表现相对较高,但也都显著低于对照。

**关键词:**组织培养;缺素试验;花楸;缺氮培养;缺磷培养;缺钾培养

**中图分类号:**S 723.1<sup>+</sup>33 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)03-0096-04

培养基是植物组织培养的物质基础,也是植物组织培养能否获得成功的重要因素之一<sup>[1]</sup>。植物组织培养成功与否,一方面取决于培养材料本身的性质,另一方面取决于培养基的成分。因此在建立一项新的培养系统时,选择适合的培养基并掌握正确的制备方法是组织培养的前提。事实上,植物组织培养的发展紧密的伴随着培养基的研制史。对植物营养需求的不断认识,对已有培养基的改进,或者将新发现的植物生长调节物质、有益成分应用于培养基之中,将会大大促进组织培养的迅速发展。

百花花楸(*Sorbus pohuashanensis* (Hance) Hed. l),又名花楸树、臭山槐,不仅花美叶丽,而且入秋后红果累累,娇艳欲滴,是一种优美的园林风景树,分布于中国黑龙江、吉林、辽宁、内蒙、甘肃、河北、山西、山东等省区。该研究对组织培养进行了缺素症研究,旨在为试验或者生产中直观地从植株外部形态来判断养分的丰缺、为科学改进培养基的配方提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试材料选取百花花楸带侧芽茎段。取花楸生长情况良好的当年休眠的枝条,放入烧杯中,加入适量的水和洗涤剂,搅拌洗涤 10 min,再在流水中刷洗干净,然后截成小段,每个带腋芽茎段切成 1.5~2.5 cm。置于超净工作台上,用 70%乙醇浸泡数秒钟,用无菌水冲洗 3~5 次,再用 0.2%升汞浸泡 6~8 min,无菌水冲洗 5 次

以上,用无菌滤纸吸干水分,接种在初代培养基中(MS+NAA 0.5 mg/L+2%蔗糖,pH 6.0)。

### 1.2 试验方法

待花楸长势良好后,对百花花楸进行缺素试验,试验设 4 个处理:对照(CK),缺氮(N),缺磷(P),缺钾(K),每个处理设 6 次重复。采用不完全的 MS 培养基,微量元素 KI:0.83 mg/L, H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>:6.2 mg/L, MnSO<sub>4</sub>·4H<sub>2</sub>O:22.3 mg/L, ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O:8.6 mg/L, Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O:0.25 mg/L, CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O:0.025 mg/L, CoCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O:0.025 mg/L, Na<sub>2</sub>·ENT:37.3 mg/L, FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O:27.8 mg/L, C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>·2H<sub>2</sub>O 100 mg/L, NC<sub>5</sub>H<sub>4</sub>COOH:0.5 mg/L, C<sub>12</sub>H<sub>17</sub>CLN<sub>4</sub>OS·HCl:0.1 mg/L, C<sub>8</sub>H<sub>11</sub>O<sub>3</sub>N·HCl:0.5 mg/L, NH<sub>2</sub>·CN<sub>2</sub>·COOH:2 mg/L, 蔗糖 2%,琼脂浓度为 0.65%,大量元素用量见表 1,用配好的 HCl,和 NaOH 溶液将培养基 pH 调到 6.0,培养基分装采用 100 mL 的三角瓶,2 层封口膜。

表 1 培养基配方

Table 1		Medium formula			
元素名称 Element name	分子式 Formula	对照(CK) 用量 Contrast consumption	缺氮(N)用量 Deficiency nitrogen consumption	缺磷(P)用量 Deficiency phosphorus consumption	缺钾(K)用量 Deficiency potassium consumption
硝酸铵	NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1 650	0	33	2 351
磷酸二氢铵	NH <sub>4</sub> H <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	900	0	40.52	148.75
硝酸钾	KNO <sub>3</sub>	0	0	0	0
磷酸二氢钾	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	170	2 728	0	0
硫酸镁	MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	370	370	370	370
氯化钙	CaCl <sub>2</sub> ·2H <sub>2</sub> O	440	440	440	440

### 1.3 项目测定

2011 年 5 月 8 日开始缺素培养,每隔 8 d 记录百花花楸缺素表现,2011 年 5 月 25 日测定百花花楸的整株干重,根系活力,和光和速率,叶绿素含量。

干重用称重法,根系活力用 TTC 法,光和速率用 TPS-1 便携式光和仪测定,叶绿素含量用 752 紫外可见分光光度计测定。

**第一作者简介:**舒钰(1982-),女,硕士,助理研究员,现主要从事园林植物与森林培育工作。E-mail:shuyu919@163.com.

**责任作者:**李晶(1963-),女,硕士,研究员,现主要从事园林植物与森林培育工作。E-mail:lijing0426@163.com.

**基金项目:**黑龙江省森林工业总局青年基金资助项目(sgzjQ2010004)。

**收稿日期:**2012-10-18

2 结果与分析

2.1 组织培养中花楸缺素症状表现

组织培养中花楸缺素症状见表 2。

表 2 组织培养中花楸缺素症状表现

处理	5 月 8 日	5 月 16 日	5 月 24 日	6 月 1 日	6 月 9 日	6 月 17 日	6 月 25 日
Treatments	May 8th	May 16th	May 24th	June 1st	June 9th	June 17th	June 25th
CK	正常	正常	正常	正常	正常	正常	正常
Contrast							
缺 N	生长缓慢,无	症状首先出现在下位	老叶叶脉间失绿变	老叶叶缘开始干枯,	老叶个别叶中间有褐	中下位叶片部分焦	停止生长,整株
Deficiency nitrogen	明显症状	老叶,老叶叶尖稍有	黄,整个叶片大部分	叶尖呈焦枯状	色灼伤斑点,并开始	枯,整株叶片失绿	叶片淡黄,焦
		变黄卷曲	变黄		脱落,部分嫩叶变黄	变黄	枯状
缺 P	生长相对缓	下位老叶有个别失去	老叶呈深绿色	叶尖处有斑块,呈坏	新叶颜色较(CK)深,	整株无光泽,呈暗绿	坏死斑块增多,
Deficiency phosphorus	慢,无明显症状	光泽		死状	个别老叶脱落	色,下位老叶焦枯状	生长受到抑制或
						并有斑块	停止生长
缺 K	正常	老叶叶尖变黄,个别	下位老叶部分焦枯	上位新叶软而且很	中位叶部分焦枯坏	大部分叶焦枯坏死	死亡
Deficiency potassium		叶片出现黄色小斑点	翻卷	薄,叶尖颜色发黄	死,新生叶小而薄	状,生长停止	

表 3 花楸缺素生理指标

处理	叶绿素 a	叶绿素 b	叶绿素总量	光合速率	根系活力	干重
Treatments	Chl a/mg · g <sup>-1</sup>	Chl b/mg · g <sup>-1</sup>	Total chl/mg · g <sup>-1</sup>	Photosynthesis rate /μmol · m <sup>-2</sup> · s <sup>-1</sup>	Root activity /FW · g · h <sup>-1</sup>	Dry weight /g · 株 <sup>-1</sup>
CK Contrast	0.98	0.66	1.64	29.15	101.58	0.83
缺 N Deficiency nitrogen	0.53	0.36	0.89	21.78	70.17	0.51
缺 P Deficiency phosphorus	0.81	0.59	1.40	24.04	90.26	0.37
缺 K Deficiency potassium	0.70	0.53	1.23	22.12	83.69	0.55

由图 1 可以看出,在缺乏 N、P、K 的情况下,光合速率均显著低于对照,分别是 CK 的 74.71%,82.47%,75.88%,缺氮对花楸的光合速率影响最大,即影响光合能力。缺氮肥后,叶绿素含量减少,降低光反应;亦减少叶片蛋白态氮百分率,而蛋白质是酶的主要组成成分,也使暗反应进行受阻。钾、磷等参与糖类代谢,缺乏时便影响糖类的转变和运输,这样也就间接影响了光合作用;同时,磷也参与光合作用中间产物的转变和能量传递,所以对光合作用有影响;钾参与光合作用,对光合作用的每个环节都有促进作用,包括光合磷酸化作用、希尔反映、光合电子传递。因此,在缺乏 N、P、K、时,植物光合速率都显著低于 CK。

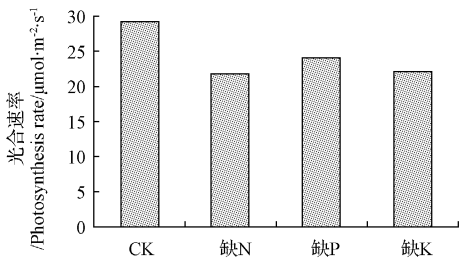


图 1 不同缺素处理对花楸光合速率的影响

Fig. 1 Effect of different elements deficiency on photosynthetic rate of *Sorbus pohuashanensis*

2.2 不同缺素处理对花楸生理指标的影响

由表 3 可知,花楸在缺氮、磷、钾时的生理指标(光合速率、根系活力、叶绿素含量、干重)均显著低于对照,其中,缺氮处理对花楸影响最大。

由图 2 可以看出,缺氮时花楸叶绿素含量最低,是 CK 叶绿素含量的 54.26%,缺钾是 CK 的 75%,缺磷是 CK 的 85%,说明磷对花楸叶绿素的作用较小,原因是 N 参与光合作用,是叶绿素、磷脂、核酸的重要组成部分,缺氮时,影响了叶绿素的合成。

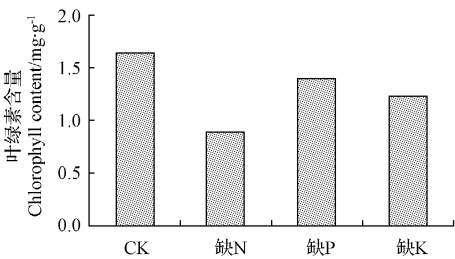


图 2 不同缺素处理花楸叶绿素含量的影响

Fig. 2 Effect of different elements deficiency on chlorophyll content of *Sorbus pohuashanensis*

植株的干物重直接反映了生长的状况,由图 3 可知,缺乏 N、P、K 植物的干重都明显低于 CK,其中缺 P 最为显著,是 CK 的 44.57%,缺 N 和缺 K 分别是 CK 的 61.44%和 66.26%。因为 P 是原生质、细胞核、生物膜的重要组成部分,在缺 P 的情况下,也影响植株对 N 的吸收,减少了植物蛋白质的积累;N 和 K 也是构成细胞的重要元素,缺乏 N、P、K、的任何一种都会影响植株的

正常生长和发育,导致植株干重降低。但是,缺乏 N、P、K 植株所表现的干物重的差异可能与植物本身的品种需肥规律有关。

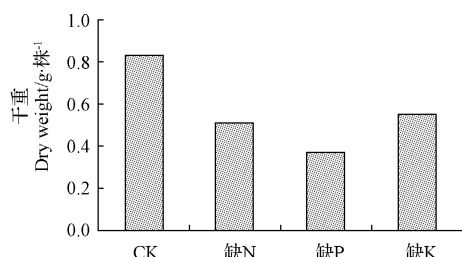


图3 不同缺素处理对花楸植株干重的影响

Fig. 3 Effect of different elements deficiency on plant dry weight of *Sorbus pohuashanensis*

植物根系是活跃的吸收器官和合成器官,根的生长情况和活力水平直接影响地上部的营养状况及产量水平,根系活力就是一个表征植物根系的量。由图4可知,花楸在缺乏 N、K、P 时植株的根系活力显著低于 CK,分别是 CK 的 69.07%,88.85%和 82.39%。因为,根系活力与植株的光合作用和呼吸强度有关,N 是脱氢酶的辅助因子如:UQ、FMN 的主成分,同时又是电子传递体细胞色素系统的组成成分。

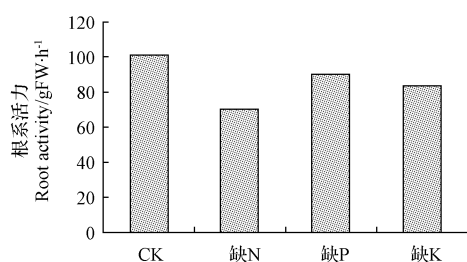


图4 不同缺素处理对花楸根系活力的影响

Fig. 4 Effect of different elements deficiency on root vigor of *Sorbus pohuashanensis*

### 3 结论与讨论

花楸缺素症状的出现比一般作物<sup>[2-6]</sup>要早,其原因可能是因为组织培养中,光照条件、水分和温度都比较适合花楸生长。从该试验结果来看,最早出现缺素症状的是缺 N 试验,N 是蛋白质、酶、叶绿素、核酸、磷脂生物碱等的组成部分,在植物生命活动中占有首要位置,

又称为生命元素。缺 N 会影响植物体内生化反应的进行,植株缺氮时,植物矮小,叶小色淡或发红,分枝少,产量低。百花花楸的症状首先出现在下位的老叶,老叶叶尖变黄卷曲,随着缺氮时间的延长,缺氮程度加剧,老叶开始脱落,部分嫩叶变黄,整株植物失绿变黄。缺素处理 1 个半月植株死亡。

磷是磷脂的主要成分,磷脂又是原生质、细胞核、生物膜的重要组成部分。在植物组织培养过程中,向培养基内添加磷,不仅能增加盐分、提供能量,而且也能促进对 N 的吸收,增加蛋白质在植物体中的积累。磷能促进植物各种代谢正常进行,植株生长良好,同时可提高植物的抗寒性和抗旱性。缺磷时,蛋白质合成受阻,新的细胞质和细胞核形成较少,影响细胞分裂,生长缓慢,叶小,分枝或者分蘖少,植株矮小。叶色暗绿,叶绿素含量相对升高。花楸缺 P 处理表现症状比缺 N 出现的较晚,症状相对较轻,叶色无光泽暗绿,其原因可能是影响了花青素的形成,除了对植株干重较其它处理影响较大外,相对于缺氮和缺钾试验表现的较好。

K 对碳水化合物的合成、转移,以及氮素代谢等有密切关系。K 增加使蛋白质合成增加,维管束,纤维组织发达,对胚有分化促进作用。缺钾时,植株柔弱易倒伏,叶色变黄,逐渐坏死。从老叶开始缺绿,后来发展到植株基部,叶缘枯焦,叶子弯卷。花楸缺钾试验早期表现的症状不太明显,后期出现缺素症状后生长明显减慢,叶缘干枯,叶色变黄,最后死亡。

该试验研究了组织培养中花楸缺素时的生理指标和症状的表现,进一步探讨了 3 种元素缺素症状的营养诊断指标,为科学改进培养基的配方提供了理论依据。

### 参考文献

- [1] 沈海龙. 植物组织培养[M]. 北京: 中国林业出版社, 2005.
- [2] 郭衍银, 徐坤, 王秀峰, 等. 生姜对氮磷钾缺乏的反应[J]. 土壤肥料, 2004(1): 7-9.
- [3] 刘丽娟, 冯玉才, 赵兰坡, 等. 穿龙薯蓣氮磷钾缺素症状研究[J]. 吉林农业大学学报, 2006, 28(4): 426-429.
- [4] 张立今, 林茂森, 刘云强, 等. 切花玫瑰缺素症状研究[J]. 辽宁农业职业技术学院学报, 2006, 8(3): 4-6.
- [5] 黄鑫, 王磊, 李成, 等. 玉米幼苗缺素症状研究[J]. 东北农业大学学报, 2004, 35(3): 272-275.
- [6] 隆学武, 杨希, 黄勇, 等. 金山葵缺素症研究[J]. 福建林业科技, 2002, 29(2): 54-64.

## Study on Nutrient Deficiency Symptoms in Tissue Culture of *Sorbus pohuashanensis*

SHU Yu<sup>1</sup>, ZHOU Ye<sup>2</sup>, WANG Dan<sup>1</sup>, LI Jing<sup>1</sup>

(1. Forestry Research Institute of Heilongjiang Province, Harbin, Heilongjiang 150081; 2. Food Processing Research Institute, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin, Heilongjiang 150069)

# 白玉兰花药愈伤组织以及胚状体诱导的研究

李桂荣, 刘玉博, 刘婉君

(河南科技学院 园艺园林学院, 河南 新乡 453003)

**摘 要:**以白玉兰花药为试材,研究了不同培养基以及不同浓度的 6-BA 和 NAA 生长调节剂组合对白玉兰花药愈伤组织和胚状体诱导及生长状况的影响。结果表明:诱导白玉兰花药生成愈伤组织和胚状体的最佳培养基组合均为 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 3.0 mg/L。

**关键词:**白玉兰;花药;组织培养

**中图分类号:**S 685.15 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2013)03-0099-03

白玉兰(*Magnolia denudata*)属木兰科木兰属落叶乔木,又称玉兰。原产于中国中南部山区,主要分布在中国的中部及川滇,现在世界各地均已引种栽培。一般树高 2~5 m 以上,最高可达 15~25 m,是北方早春的重要观花乔木,适于庭院、工厂、公园中孤植、列植、散植,或以松柏等常绿树做背景丛植于草坪,纯朴清雅。花可插瓶观赏,树皮、花蕾可以入药,还可提炼香精,花瓣可裹面油煎或糖渍食用,材质细致适做精美木制品。其对二氧化硫、氯气和氟化氢等有毒气体有一定的吸附能力,故可做工矿区的绿化树种,起到环保作用,具有很高的观赏和经济价值。白玉兰有诸多优点,深受人们喜爱,一直以来,白玉兰的繁殖以嫁接为主,亦可用播种、扦插、压条进行繁殖,但是成活率都很低,另外,白玉兰的种子不宜贮藏,需随采随播,播种苗 5 a 以后才能开花,花形也小于母本,花的品质明显下降,尤其在北部,白玉兰开花而不实,即不能获得种子。白玉兰若嫁接繁殖,需以紫玉兰做砧木,不仅其成活率极低,且远远满足不了市场的需求<sup>[1-2]</sup>。

组织培养作为一门新兴的繁殖技术,不但繁殖系数大,而且能保持品种的优良性状,也是高等植物细胞工

程、基因工程和品种进一步改良的重要基础之一。但木本植物由于其生长发育条件、器官、部位、遗传背景等与草本植物相比存在较大差异,同时在离体培养过程中容易产生较多的多酚类物质,抑制细胞分裂,引起外植体褐化,再加上其外植体暴露时间较长,感染各种杂菌机率也就较多,还有内生菌的存在,因此,其离体培养难度较大<sup>[3-4]</sup>。白玉兰在这方面的表现尤为突出,另外其外植体切面褐化速度极快,影响试验的正常进行。利用花药组织培养可以从根本上解除常规繁殖的缺点以及用茎尖、芽、叶等外植体进行组织培养快速繁殖中易褐变的难点。国内外对白玉兰的研究报道很少<sup>[4-5]</sup>。仅有二乔玉兰<sup>[6]</sup>以及有关同科的荷花玉兰<sup>[7]</sup>和紫玉兰组织培养快繁技术的研究<sup>[8]</sup>,而白玉兰组织培养方面的研究报道仅局限于其组织快繁技术的研究,且研究得不够深入<sup>[9-10]</sup>,对于白玉兰花药组织培养方面的研究尚鲜见报道<sup>[2,4]</sup>。

该试验以白玉兰花药为试材,通过不同的培养基配方及不同浓度不同生长调节剂组合,研究最适合白玉兰花药愈伤组织诱导的培养基组合和最适合胚状体诱导的培养基组合,从而为用白玉兰花药组织培养获得单倍体和再生体系的建立提供参考,同时也为用生物技术提高白玉兰花的品质、培育新品种提供参考依据。

**第一作者简介:**李桂荣(1974-),女,回族,河南淮阳人,硕士,副教授,现主要从事园艺植物育种与生物技术的教学与科研工作。

**收稿日期:**2012-10-18

**Abstract:** Taking *Sorbus pohuashanensis* (Hance) Hed. l lateral stem segments with bud as test materials, the symptoms of N, P, K elements deficiency in the culture medium formulations were studied, in order to provide a theoretical basis for choose media formulations suitable for plant growth. The results showed that the earliest symptoms of nutrient deficiency was the lack of the N training, followed by the lack of K training and lack of P training; the root activity, photosynthetic rate, chlorophyll content and dry weight of lacking N training of *Sorbus pohuashanensis* were the lowest, followed by lack of K, lack the P performance was relatively high, but significantly lower than the control.

**Key words:** tissue culture; nutrient deficiency test; *Sorbus pohuashanensis*; the lack of N culture; the lack of P culture; the lack of K culture