

杉木离体培养中的钙、镁盐效应*

诸葛强 阙国宁

(中国林业科学研究院亚热带林业研究所)

摘要 本文设计了有不同浓度氯化钙($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)、硫酸镁($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)处理的培养基,对杉木离体培养体的嫩梢增殖及其对钙、镁吸收量的影响,以及培养基中钙、镁残留量状况的试验,从中筛选出适合于杉木大批量组培繁殖的钙、镁盐浓度水平。建议采用的浓度为:氯化钙 400 mg/L,硫酸镁 400 mg/L。此外,试验结果还显示:对杉木离体培养来说,钙盐的效应高于镁盐的效应,高浓度钙盐对形成愈伤组织有利,对芽的分化不利。

关键词 杉木;氯化钙;硫酸镁;组培繁殖

近年来,随着林木无性繁殖技术的改进,特别是组织培养和工厂化育苗技术的应用,无性系林业将不断发展^[1-3]。杉木作为南方重要的用材树种之一,多数采用传统的实生苗造林,由于种子变异性与产量不足,迫切需要选择那些具有特高增益的优良单株进行无性繁殖,以满足日益增长的要求^[4]。

进行大规模的杉木组织培养繁殖,基本培养基的选择是关系到组培苗数量、质量以及成本的关键环节。为此,我们已对基本培养基中大量元素氮、磷、钾相应的三种盐类浓度水平进行了比较筛选试验^[5],得到了较为理想的浓度选择。本试验从不同浓度钙、镁盐($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)处理的培养基,对杉木离体培养的影响,以及培养体对钙、镁吸收和培养基中钙、镁残留状况试验中,确定较适合于杉木组培繁殖的钙、镁盐浓度范围,为进一步完善杉木组培工厂化繁殖体系提供理论与实验依据。

1 材料和方法

1.1 试验材料

试验材料取自杉木(*Cunninghamia lanceolata* (Lamb.) Hook)的多次继代培养物。剪取约4 cm长、不带愈伤组织块的无菌嫩梢,接种于设计有不同浓度氯化钙、硫酸镁处理的培养基上。每种培养基重复6次。培养物置于 25 ± 3 °C,光、暗周期为16h/8 h(1 500 lx)条件下,培养2个月后,分别测定供试材料的培养物总重、嫩梢增殖总数、有效嫩梢数、平均有效嫩梢长度、嫩梢品质以及培养体与培养基中的钙、镁含量。钙、镁含量采用原子吸收光谱法测定。嫩梢品质分级标准如下:

I级:增殖的嫩梢数量多,多数在1.5 cm以上,梢条粗壮,叶色深绿。

II级:增殖的嫩梢数量多,多数在1.5 cm以上,但梢条较细,叶色略淡。

III级:增殖的嫩梢数较少,多数在1.5 cm以下,梢条较细,叶色淡。

本文于1991年元月23日收到。

* 本项目为中国林业科学研究院基金资助课题的研究内容之一。钙、镁含量由浙江省农科院中心化验室测定,谨致谢忱。

Ⅳ级: 增殖的嫩梢数极少, 几乎无 1.5 cm 以上的可用嫩梢, 多数培养体 2 个月以后渐趋死亡。

Ⅴ级: 无嫩芽及嫩梢增殖, 2 个月以后培养体几乎全部死亡。

1.2 培养基设计

培养基中大量元素氮、磷、钾相应盐类浓度为: 硝酸铵 (NH_4NO_3) 850mg/L, 硝酸钾 (KNO_3) 2000 mg/L, 磷酸二氢钾 (KH_2PO_4) 100 mg/L。微量元素及维生素类均采用 Murashige 和 Skoog (MS) 基本培养基, 附加低浓度的 BA (6-苄基腺嘌呤) 和 IBA (吲哚丁酸), 蔗糖浓度为 3%, 琼脂为 7.5 g/L。每号培养基总用量为 200 ml。pH 值调至 5.8, 培养基均于 121 °C 灭菌 20 min。氯化钙、硫酸镁处理浓度见表 1。

表 1 氯化钙与硫酸镁对杉木离体培养的影响

组号	培养基号	氯化钙浓度 $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (mg/l)	硫酸镁浓度 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (mg/l)	总嫩梢数 (条)	有效嫩梢数 (条)	培养物总重 (g)	平均有效嫩梢长度 (cm)	嫩梢品质 (级)
I	1	0	400	13	7	2.5	1.9	Ⅳ
	2	200	400	15	8	3.8	2.3	Ⅲ
	3	400	400	16	14	5.2	3.4	I
	4	800	400	12	10	4.4	2.6	Ⅱ
	5	1600	400	8	4	3.4	2.1	Ⅲ
	6	400	0	11	8	5.1	2.6	Ⅱ
	7	400	200	16	14	5.3	3.2	I
II	8	400	400	18	15	5.9	3.4	I
	9	400	800	14	11	4.5	2.8	Ⅲ
	10	400	1600	10	6	3.6	2.6	Ⅲ

2 结果和讨论

2.1 杉木离体培养中的钙盐效应

不带愈伤组织块的杉木无菌嫩梢被接种于不同浓度氯化钙处理的培养基上, 3 个星期后, 3 号培养基中的杉木外植体基部开始萌发小芽, 其它培养基中的培养体也紧接着出现小芽, 其中 1、5 号培养基中的萌发最迟。芽的生长以 3 号培养基中的最快, 所萌发的嫩梢平均长度也最长, 达 3.4 cm。

对照试验 ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 为 0) 和氯化钙浓度较低 (200 mg/L) 的培养基中的培养体, 虽也能萌芽, 但后期生长均较差, 其嫩梢细而短, 增殖的有效嫩梢数也较少, 其中 1 号培养基中的嫩梢最终叶色变淡黄, 生长停止。这表明培养基中如缺钙盐或钙盐浓度较低, 对杉木离体培养的嫩梢生长有抑制作用。

高浓度氯化钙 (800 mg/L 以上) 处理的培养基上接种的嫩梢基部萌发的芽较少, 并且嫩梢切口处形成许多结实的愈伤组织。这可能是当培养基中氯化钙浓度较高时, 培养物易形成愈伤组织。但此种愈伤组织不易进一步分化形成芽。还有一个引人注意的现象, 在高浓度氯化钙 (800 mg/L 以上) 处理下, 虽然接种体基部萌发的嫩梢数较少, 但原先接种的嫩梢却伸长了许多。

在本试验第 I 组培养基中, 从不同浓度氯化钙处理对杉木离体培养嫩梢增殖的影响 (见

表1)可得出,当培养基中硫酸镁浓度为400 mg/L时,在氯化钙浓度为0~400 mg/L的范围内,三种培养基中的培养体的总重量、萌发总芽数、有效嫩梢数、平均有效嫩梢长度均随着氯化钙浓度的提高而增加,并在氯化钙浓度为400 mg/L时出现最高值,以后则随着氯化钙浓度的升高而下降,其变化趋势类似于一抛物线。

2.2 杉木离体培养中的镁盐效应

硫酸镁处理对杉木离体培养的影响不同于氯化钙处理,在所设计的各培养基中,培养体萌芽时间变化不大,并且6、7、8号培养基中的培养体的各项测定值变化不很明显。在对照($MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 浓度为0)、低浓度($MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 为200 mg/L)和中等浓度($MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 为400 mg/L)处理试验中,虽浓度为400 mg/L时出现了最高值,但与其余两者的结果相近,而高浓度(800 mg/L以上)硫酸镁处理对杉木离体培养的影响却相对好于高浓度氯化钙处理。这说明,对杉木离体培养来说,镁盐的影响要弱于钙盐的影响。

试验结果(表1)也表明,在本试验第Ⅱ组培养基中,不同浓度硫酸镁处理对杉木离体培养影响的变化趋势也类似于一抛物线,在氯化钙浓度固定为400 mg/L的条件下,当培养基中硫酸镁浓度为400 mg/L时,各项测定值均出现最高值,这与氯化钙处理试验中出现最高值的浓度区域是相吻合的。另外,在高浓度(800 mg/L以上)硫酸镁处理下,同样,是原先接种的嫩梢伸长了很多,其相对萌发的芽数不多。

2.3 钙、镁的吸收与残留状况

从图1、图2可看出,由于杉木培养体在其生长和增殖过程中,从培养基中吸收Ca、Mg,使培养基中的Ca、Mg含量在培养前后发生了明显变化(图1)。在培养基中硫酸镁的含量一定而氯化钙的含量变化的条件下(表1中Ⅰ组),杉木培养体所吸收的钙量是与培养基中氯化钙的含量成正比的,而培养体对镁的吸收量也随着培养基中氯化钙浓度的提高而稍有增加,当氯化钙浓度为800 mg/L时达到最大值,但是,当氯化钙浓度达到最大浓度处理(1600 mg/L)时,培养体所吸收的镁量反而下降(图2-A)。这可能是当培养基中氯化钙的浓度较高时,杉木培养体的生长受到抑制,使其对镁的吸收量也相应地减少了。

在培养基中氯化钙的含量一定而硫酸镁的浓度变化的条件下(表1中Ⅱ组),杉木培养体吸收镁的量也是随着培养基中硫酸镁浓度的提高而增加(图2-B),这与在硫酸镁的含量一定而氯化钙的含量变化的条件下培养体对钙的吸收状况相类似。而杉木培养体对钙的吸收状况却出现了与Ⅰ组试验不同的结果(图2-B),即当硫酸镁处理浓度为200 mg/L(7号培养基)时,培养体对钙的吸收出现最大值,而当硫酸镁浓度为400 mg/L(8号培养基)时为最小值,其原因有待进一步探讨。

碱土金属中的钙、镁是植物生长必需的矿质元素,对植物一系列的生理活动起着重要的作用。从本试验可初步得出以下几点。

(1) 当培养基中氯化钙浓度为400 mg/L、硫酸镁浓度为400 mg/L时,杉木离体培养嫩梢增殖多且生长健壮,适合于进行大批量组培繁殖。

(2) 在培养基中硫酸镁浓度为400 mg/L的条件下,如氯化钙浓度为0或较低(200 mg/L)时,杉木培养体嫩梢增殖效果差,并且后期嫩梢生长受抑制;如氯化钙浓度过高(800 mg/L以上)时,对形成愈伤组织有利,对芽的分化无促进作用。

(3) 在培养基中氯化钙浓度为400 mg/L的条件下,当硫酸镁浓度为0或较低(200 mg/L)

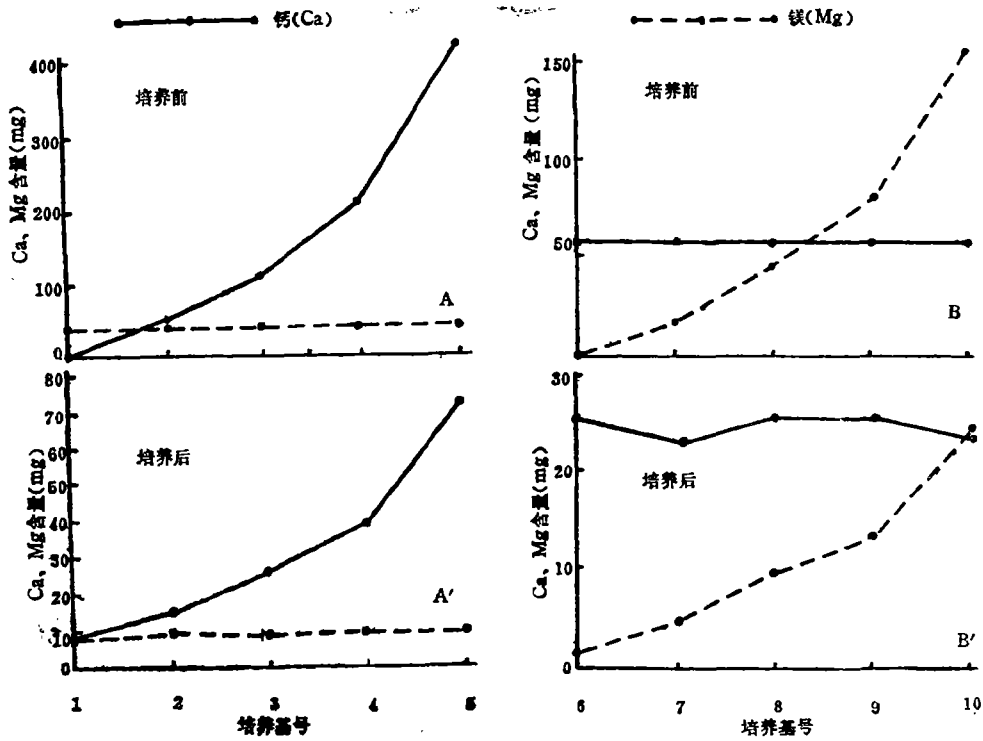


图 1 培养前后各培养基中的钙、镁含量变化

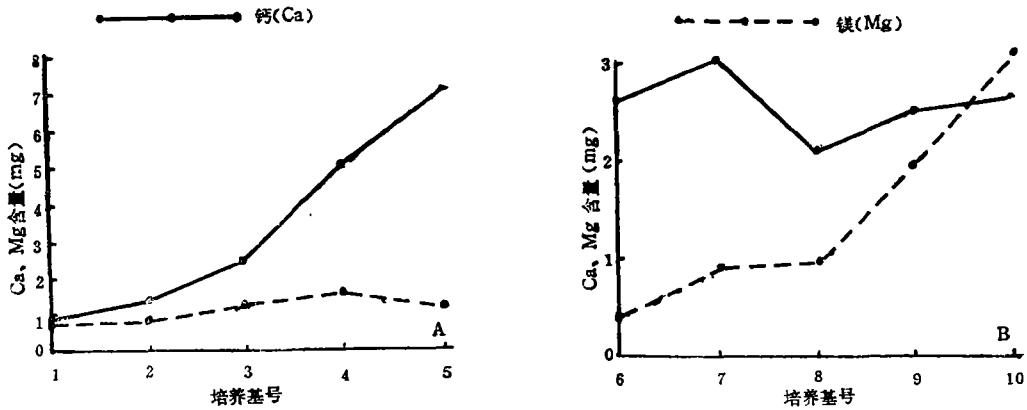


图 2 各培养基中杉木培养体吸收的钙、镁含量差异

时, 杉木离体培养繁殖仍取得了较好的结果, 当硫酸镁浓度较高 (800 mg/L 以上), 其培养结果也稍好于相应高浓度的氯化钙处理。看来在杉木离体培养中钙盐效应高于镁盐效应。

(4) 高浓度的氯化钙(800 mg/L 以上)和高浓度的硫酸镁(800 mg/L 以上)处理, 虽然对杉木嫩梢增殖产生了抑制作用, 但却使原先接种的嫩梢外植体本身伸长了很多。

参 考 文 献

- [1] 马常耕, 1989, 无性系林业: 工业人工林世界潮流新营林体系, 世界林业研究, (1):10~19。
- [2] Franclet, A., 1983, Rejuvenation, Theory and Practical Experiences in Clonal Silviculture, Proceedings of the 19th Meeting of the Canadian Tree Improvement Association, Toronto, Ontario, 96~134.
- [3] Libby, M. J. et al., 1984, Advantages of clonal forestry, *The Forestry Chronicle*, (3):145~149.
- [4] 洪菊生等, 1990, 营造速生丰产林的关键技术, 世界林业研究, (4):27~40。
- [5] 诸葛强等, 1990, 氮、磷、钾对若干种木本植物离体培养繁殖的影响, 林业科学研究, 3(1):41~46。

*Effects of Calcium Chloride and Magnesium Sulphate
on the Propagation in Vitro of Chinese Fir*

Zhuge Qiang Que Guoning

(The Research Institute of Subtropical Forestry CAF)

Abstract The effects of calcium chloride ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) and magnesium sulphate ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) on shoot multiplication in vitro of *Cunninghamia lanceolata* (Lamb.) Hook, the absorption of calcium and magnesium by the shoots in the cultures, and the amount of remains of calcium and magnesium in the media were studied to choose the concentration level of calcium chloride and magnesium sulphate suitable for mass-propagation in vitro of Chinese Fir. 400 mg/L calcium chloride ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) and 400 mg/L magnesium sulphate ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) were recommended. It appears that for the tissue culture of Chinese Fir, the effect of calcium chloride is higher than that of magnesium sulphate. In addition, the results show that the high concentration of calcium chloride is favourable to the callus formation, but it is adverse to the differentiation.

Key words Chinese Fir; calcium chloride; magnesium sulphate; propagation in vitro