

李晓盈,孙毅高,梁宪如,等. 利用水培体系研究团花快速生长[J]. 江苏农业科学,2020,48(12):128-133.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2020.12.027

利用水培体系研究团花快速生长

李晓盈,孙毅高,梁宪如,吴蔼民

(华南农业大学林学与风景园林学院,广东广州 510642)

摘要:团花[*Neolamarckia cadamba* (Roxb.) Bosser]是热带速生、多用途乡土阔叶树种,其生长快、材质好,具有良好的开发利用前景,而关于团花快速生长的方法和机制的报道不多。利用水培体系可以定向分析影响植物生长的关键因子,通过筛选营养液的浓度,建立适合研究团花快速生长的水培体系。使用 1/5 Hoagland 营养液进行水培,其畸形叶数和死亡数明显低于 1/2、1/3 Hoagland 营养液,并且株高和侧根数明显高于后 2 个浓度。进一步利用该水培体系分析在缺素条件下团花的速生情况,在缺硼胁迫下,团花顶芽坏死,叶片膨大,光合速率明显下降;在缺钙胁迫下,团花叶片发黄,根部褐化,光合作用速率下降;在缺磷胁迫下,团花叶脉由近端到远端逐渐变紫红,根冠比变小,根的向重力性明显增强。水培体系的建立和缺素的初步研究为进一步分析团花速生的分子机制打下了基础。

关键词:团花;水培;营养液;元素胁迫

中图分类号: S721;S723.1+32.6

文献标志码: A

文章编号: 1002-1302(2020)12-0128-06

团花[*Neolamarckia cadamba* (Roxb.) Bosser]别称黄梁木,为茜草科团花属植物,是一种乡土阔叶树种,喜光,喜高温、高湿,根为深根性,枝疏叶大,侧根发达,生态适应性极强,生长速度快,病害相对较少,是中国热区优质速生造林树种^[1]。8年生团花树高即可达到 18.6 m,胸径可达 20.1 cm,被誉为“奇迹树”^[2],其材质良好,木材颜色为淡黄色,纹理

通直,顺纹剖面光滑,容易刨削,不易变形或开裂,可作为家具用材、人造纤维材料等。不仅如此,团花的花可作为蜜源,果实可食用,其他部位可作饲料、药材等,是一种多用途树种^[3]。团花的繁殖通常主要采用种子苗,但种子苗遗传背景差异大,容易出现性状分离^[4]。

水培是指将植物根系浸润在营养液中生长的栽培方法^[5],是无土栽培技术的一种,用营养液能替代土壤,向植物提供水分、养分等生长因子,在通气、光照等设备下能够使植物正常生长,成活率高达 95%。综合目前国内外关于植物水培系统的研究^[6-7],一套完整的植物水培技术包括以下几个方面:(1)水培外植体的选择及处理方法;(2)营养液的种类和浓度配比筛选;(3)水培系统设备仪器的

收稿日期:2019-05-22

基金项目:大学生创新创业项目(编号:201710564039)。

作者简介:李晓盈(1998—),女,广东佛山人,主要从事植物生长生理机制研究。E-mail:1016406082@qq.com。

通信作者:吴蔼民,博士,教授,主要从事植物半纤维素木聚糖合成及调控的分子机理及生物质利用研究。E-mail:wuaimin@scau.edu.cn。

活性物质^[7]。朱根发等研究发现,香蕉对酸碱有很强的缓冲能力,对植物的生长和增殖具有促进作用^[8]。本试验表明,不同外源添加物对白芨种苗生长的影响不一致,综合表现较好的为番茄汁 30 g/L、马铃薯汁 30 g/L,而其中的影响机制还须要进一步研究。

参考文献:

- [1]国家药典委员会. 中华人民共和国药典:一部[M]. 北京:中国医药科技出版社,2015:103.
- [2]王跃华,陈燕,刘曼,等. 培育优质白芨苗条件筛选研究[J]. 江苏农业科学,2018,46(20):165-167.

- [3]郭顺星,徐锦堂. 白芨种子染菌萌发过程中细胞超微结构变化的研究[J]. 植物学报,1990,32(8):594-598.
- [4]都兴范,王关林. 芦荟汁对植物生长调控作用的研究[J]. 生物技术,2004,14(4):62-63.
- [5]陈兆贵,谭俊. 不同激素配比对铁皮石斛组织培养的影响研究[J]. 惠州学院学报(自然科学版),2006,26(3):11-14.
- [6]殷丽青,王广东,张建军,等. 大花蕙兰(*Cymbidium hybridum*)离体快速繁殖技术[J]. 上海交通大学学报(农业科学版),2006,24(4):365-369.
- [7]游树鹏,郑乃汉. 马铃薯提取液中生理活性物质的研究[J]. 杭州大学学报,1979(1):180-186.
- [8]朱根发,蒋明殿. 大花蕙兰的组织培养和快速繁殖技术[J]. 广东农业科学,2004(4):36-38.

选择;(4)观察植物生长发育和统计分析数据。水培系统可以避免离子富集效应,避免土壤中未知元素的干扰,在胁迫试验中可更好地定向调控培养环境的元素含量,分析单一因素对早期生长发育的影响,提高试验的精准性和可重复性。

在速生树种的研究中,硼、钙是影响其顶芽生长的重要元素,同时,硼、钙还与植物细胞壁中的果胶结合在一起对植物的生长发育有着极其重要的作用^[8]。当植物缺硼时,生长点近乎停滞,严重影响花粉的活力,对植物生殖器官造成不可逆的损伤^[9]。钙也是植物体中重要的微量元素^[10],不仅参与构建植物的形态结构,也对内部的物质转运起到作用^[11-12]。磷元素是植物需要的大量元素,我国有2/3的耕地缺磷^[13],磷元素对植物光合作用起着直接或间接作用^[14-15],同时对植物根系的形态生长有重要影响^[16],若植物体对磷胁迫的耐受性低下,则不适宜大面积推广种植。张亚楠等研究发现,无论是低磷还是高磷胁迫,都会使植物叶片中叶绿素的总含量降低^[17-18]。

虽然团花速生优质,但是对其速生的机制研究不多。本试验旨在建立团花的水培体系,分析不同元素对团花生长的影响,观察团花缺素的形态变化、生理表达变化,以期为综合分析团花速生机制打下基础。

1 材料与方法

1.1 试验环境及仪器

试验在华南农业大学林学与风景园林学院恒温培养室完成。培养条件:光—暗周期为

14 h—10 h,昼夜温度均为 25 ℃。光合仪型号为 GFS-3000,光合参数设置为 Flow(气体流量)=750 μmol/s、Imp(参数系数)=5、Light(光照度)=1 000 lx。

1.2 外植体水培方法

早期的研究发现,在盘穴苗、组培苗、一年生大苗及茎段插条等外植体的选择中,盘穴苗与组培苗表现出极强的适应性,而其他外植体在水培过程中均有不同程度的死亡现象^[6]。为了保证所有处理苗的遗传背景一致性,采用团花组培苗作为水培培养的外植体,待苗长出约 5 条根、高约 5 cm 时从组培室移到温室环境中进行炼苗,时间为 5~6 d,把长出 4~5 张真叶、长势相同的植株移到清水中缓苗,时间为 1~2 d。

1.3 营养液浓度的筛选

霍格兰德(Hoagland)营养液在植物水培中被广泛应用,营养液中的各种元素用量对于不同植物、不同栽培目的略有差异^[19-20],试验需要选用适合团花水培的 Hoagland 营养液配方(表 1)。本试验采取经典 Hoagland 水培营养液配方,分别使用 1/5、1/3、1/2 Hoagland 培养液进行团花最适营养液浓度的筛选^[6]。水培外植体选用缓苗后株高、叶面积、顶芽大小相近,生长发育情况均良好的植株。每种浓度处理取 90 株苗,分 3 次重复,3 种浓度处理共取 270 株苗。采用自来水和去离子水处理作为对照组,每种处理取 90 株苗,分 3 个重复,2 种处理共取 180 株苗。每天记录每株苗的茎长、侧根数、畸形叶数和死亡数,共统计 14 d,畸形叶数=烂叶数+黄叶数。

表 1 Hoagland 培养液配方

浓度	配方名称	药品名称	工作液浓度 (mmol/L)	母液质量浓度 (g/L)
100 倍液	A 液	Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O	4	94.50
		KNO ₃	6	60.66
	B 液	MgSO ₄ ·7H ₂ O	2	49.29
		NH ₄ H ₂ PO ₄	1	11.50
1 000 倍液	C 液	NaFe-EDTA	8.0×10 ⁻²	29.364 0
		H ₃ BO ₃	4.6×10 ⁻²	2.862 0
		MnSO ₄ ·4H ₂ O	9.5×10 ⁻²	2.119 0
		ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0.8×10 ⁻³	0.230 0
		CuSO ₄ ·5H ₂ O	3.0×10 ⁻⁴	0.075 0
		(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ ·4H ₂ O	2.0×10 ⁻⁵	0.024 7

1.4 团花缺素试验

1.4.1 缺硼处理 对培养 2 周的团花幼苗进行缺硼处理,具体方法为减少营养液配方中的硼酸(A、B 液不变,C 液配方见表 2),而对照为正常含硼培养液,2 倍硼浓度指培养液中硼酸浓度为正常的 2 倍。在以上 3 种培养液中分别放置相同数量和大小的幼苗进行处理,每 3 d 换 1 次营养液,观察 8 周,记录团花苗生长形态指标及表型变化。在表型变化最明显时期的前 1 周(第 3 周)、当周(第 4 周)、后 1 周(第 5 周)测其光合指标。

表 2 缺硼处理培养液(C 液) 配方

药品名称	工作液浓度 (μmol/L)	母液质量浓度 (g/L)
NaFe-EDTA	80.00	29.364 0
MnSO ₄ ·4H ₂ O	95.00	2.119 0
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	0.80	0.230 0
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.30	0.075 0
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ ·4H ₂ O	0.02	0.024 7

1.4.2 缺钙处理 对培养 2 周的团花幼苗进行缺钙处理,具体方法为减少营养液配方中的硝酸钙并补回等量氮元素的硝酸铵(B、C 液不变,A 液配方见表 3),同时在正常培养液中培养相同数量和大小的幼苗作为对照。每 3 d 换 1 次营养液,观察 5 周,记录其形态指标及表型变化。在团花表型变化最明显时期的前 1 周(第 1 周)、当周(第 2 周)、后 1 周(第 3 周)测定光合指标。

表 3 缺钙处理培养液(A 液) 配方

药品名称	工作液浓度 (mmol/L)	母液质量浓度 (g/L)
NH ₄ NO ₃	4	32.00
KNO ₃	6	60.66

1.4.3 缺磷处理 对培养 2 周的团花幼苗进行缺磷处理,具体方法为减少营养液配方中的磷酸二氢铵并补回等量氮元素的硝酸铵(A、C 液不变,B 液配方见表 4),同时在正常培养液中培养相同数量和大小

的幼苗作为对照。每 3 d 换 1 次营养液,观察 5 周,记录其形态指标及表型变化。在预试验观察的表型变化最明显的时期拍照记录。

表 4 缺磷处理培养液(B 液) 配方

药品名称	工作液浓度 (mmol/L)	母液质量浓度 (g/L)
MgSO ₄ ·7H ₂ O	2.0	49.29
NH ₄ NO ₃	0.5	4.00

2 结果与分析

2.1 不同浓度水培营养液对团花生长发育的影响

2.1.1 不同浓度水培营养液对团花株高的影响

由图 1-a 可知,前 7 d 自来水处理的幼苗生长较快,其次是 1/5 霍格兰德营养液处理。由于在 7~14 d 之间,1/5 霍格兰德营养液处理生长加快,而去离子水培养处理的植株生长极为缓慢,几乎停滞生长。其他浓度处理的植株在前期生长较缓慢,而后期生长速率提高。

2.1.2 不同浓度水培营养液下团花侧根数的变化

由图 1-b 可知,自来水培养的植株在前 8 d 内的生长速率最快,而 8 d 后,1/2 霍格兰德营养液处理的植株生长速率最快,但其在前期的侧根数曾一度减少,可能因为过高的浓度损伤了幼根,导致侧根部分褐化而凋亡。1/5 霍格兰德营养液处理一直保持良好的生长趋势,无明显波动。去离子水培养的植株侧根生长缓慢。

2.1.3 不同浓度水培营养液下团花畸形叶数的变化

由图 1-c 可知,1/2、1/3 霍格兰德营养液处理对幼叶生长伤害较大,畸形叶数大于其他浓度的培养液处理,主要表现在叶片发生可逆转的黄化。前 4~6 d 幼苗在转入高浓度营养液培养时畸形叶数迅速增加,而在 4~6 d 后由于对营养液浓度的适应,畸形叶逐渐适应与恢复。

2.1.4 不同浓度水培营养液下的死亡植株数

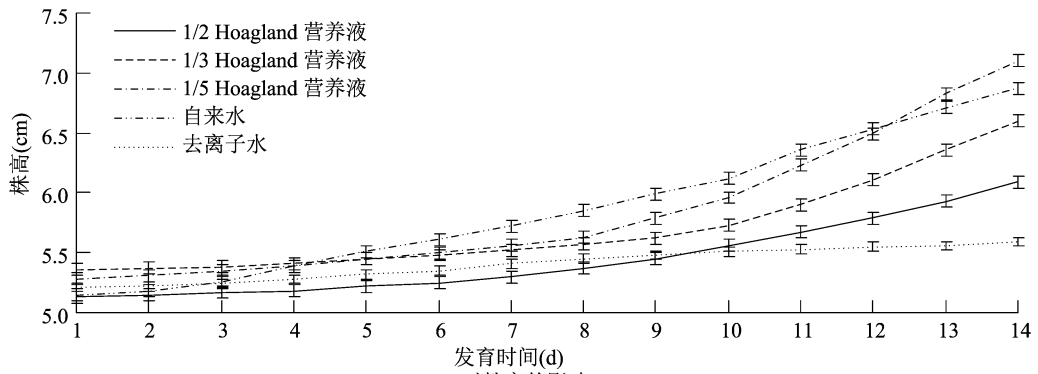
由图 1-d 的 3 组重复试验结果得出,1/2 霍格兰德营养液处理的平均死亡数高于其他 4 组,达到了 36.7% 的死亡率,1/3 霍格兰德营养液处理的平均死亡率则有 16.7%,而 1/5 霍格兰德营养液处理的平均死亡率则为 6.6%,其他处理平均死亡数都在 1 株以下,小于总数的 5%。

2.2 团花缺素试验

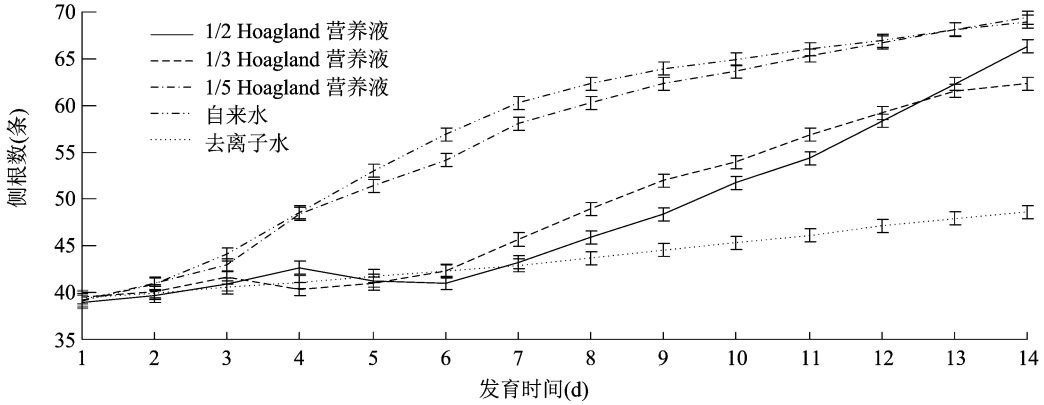
在已建立的团花组培苗水培方法的基础上,将营养液培养 2 周后团花苗移至不同营养液中对其进行培养,定期观察其形态差异并进行分析。

2.2.1 缺硼处理

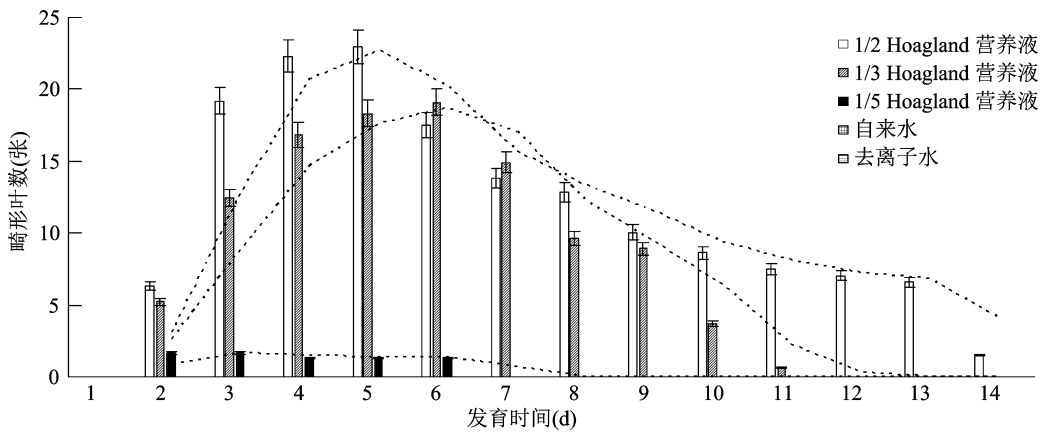
2.2.1.1 表型变化 培养至第 3~5 周时,植物体对硼的响应到达最明显的时期,缺硼培养的团花顶芽已经出现坏死,但对叶影响较小,对根系无明显影响,对茎秆高度以及地径宽度影响较大,明显较正常对照更矮更细(图 2)。而 2 倍硼元素浓度培养的团花新叶出现明显的膨大,叶长宽比变小,宽度



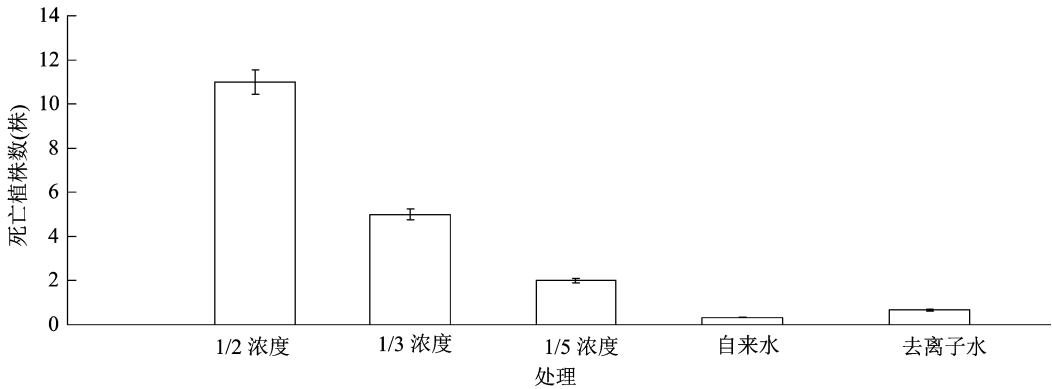
a. 对株高的影响



b. 对侧根数的影响

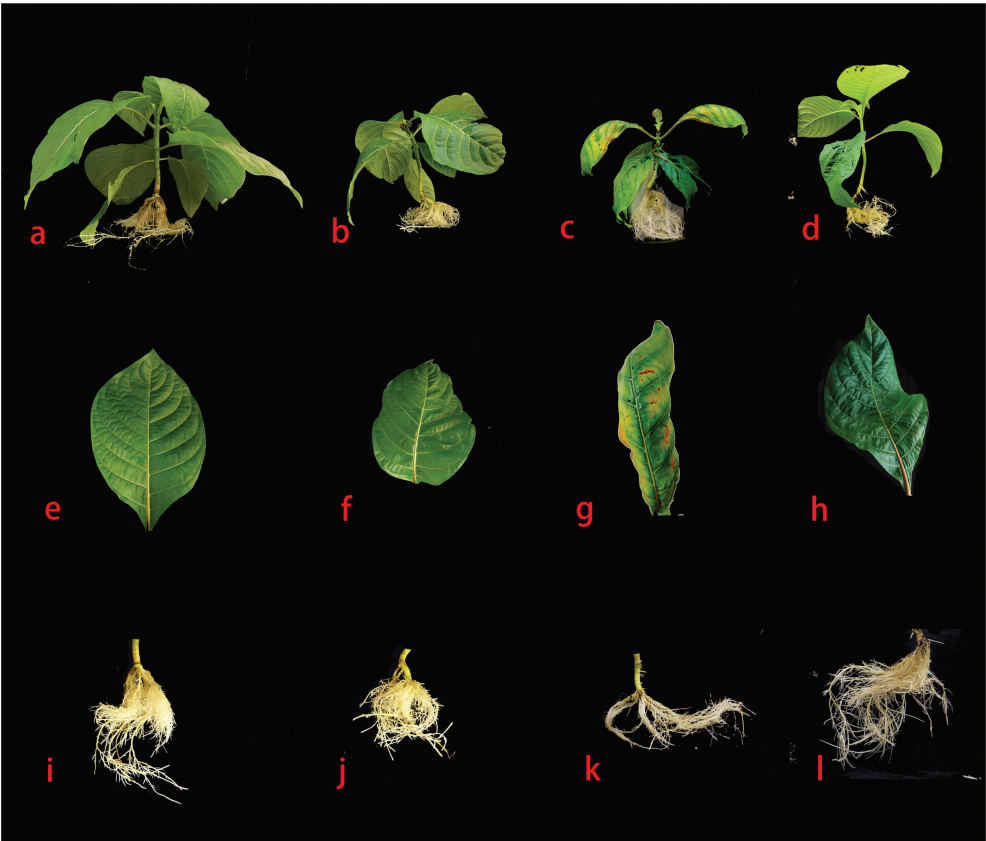


c. 对畸形叶数的影响



d. 不同浓度营养液处理的死亡植株数

图1 不同浓度水培营养液随时间变化对黄梁木苗生长的影响



a、e、i—正常植株；b、f、j—缺硼植株；c、g、k—缺钙植株；d、h、l—缺磷植株
图2 黄梁木缺素生长各部位的形态

明显增加,对根系无明显影响,茎秆高度无明显变化,茎秆略微增粗。

2.2.1.2 光合作用效率的变化 第3周时,缺硼植株单位面积的瞬时光合速率(A ,下同)已经明显低于同期正常和2倍硼浓度培养的植株(表5),湿度(E ,下同)的变化不明显。随着时间的变化,缺硼植株 A 值明显下降,2倍硼浓度组植株在第3周时 A 值与正常组相差不大,而第5周2倍硼浓度组的 A 显著提高,说明硼元素在0~2倍区间内对植物单位面积的瞬时光合作用效率有明显提升作用,但其内在机制还须要进一步研究。

表5 缺硼处理下光合作用效率的变化

试验处理	E 值 (%)	A 值 [$\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$]
缺硼(第3周)	1.40 ± 0.06	4.94 ± 0.40
缺硼(第5周)	0.41 ± 0.04	2.24 ± 0.26
正常(第3周)	1.69 ± 0.18	7.26 ± 0.59
正常(第5周)	0.74 ± 0.13	7.22 ± 0.76
2倍硼浓度(第3周)	1.80 ± 0.14	7.62 ± 0.13
2倍硼浓度(第5周)	0.87 ± 0.07	9.01 ± 0.21

2.2.2 缺钙处理

2.2.2.1 表型变化 在培养至第2~4周时,植物体对钙的响应表型到达最明显的时期,顶芽、叶片、根部都有明显变化。首先顶芽坏死,由叶尖开始向下坏死,直至全部枯萎。叶片从叶基部两侧开始发黄,黄化至区域叶片坏死,坏死部位向内卷曲,叶脉突出至隆起。缺钙培养的根部逐渐硬化与褐化,部分节点褐化严重至坏死。缺钙的茎秆与对照相比较弱(图2)。

2.2.2.2 光合作用效率的变化 对比正常与缺钙植株的新叶、次叶、老叶可以发现 A 值差异较大而 E 值差异较小(表6)。从数值上可以看出缺钙对其老叶 A 值影响较小,而新叶与次叶的 A 值普遍较正常植株偏小,与表型变化一致,是由于其叶片细胞坏死导致光合作用效率下降。

2.2.3 缺磷处理 在培养至第3周时,植物体对磷的响应已经十分明显,缺磷培养的植株叶片明显发生皱叠,叶色加深变成深紫色,叶面积却无明显大小差异。缺磷处理对植物株高、地径宽度无明显影响。培养至第5周时,植物体顶芽出现休眠,生长缓

表 6 缺钙处理下光合作用效率的变化

叶类型	E 值 (%)	A 值 [$\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$]
缺钙新叶	0.30 ± 0.01	0.57 ± 0.04
正常新叶	0.20 ± 0.03	1.47 ± 0.10
缺钙次叶	0.17 ± 0.01	-0.10 ± 0.25
正常次叶	0.51 ± 0.01	6.70 ± 0.17
缺钙老叶	0.50 ± 0.02	5.81 ± 0.03
正常老叶	0.58 ± 0.03	6.12 ± 0.06

慢甚至停止生长,形态表现为向内皱缩卷曲,但并无坏死组织出现。

3 讨论与结论

成功建立团花水培体系和研究缺素胁迫下团花生长变化的原因如下:合理地采用组培苗作为外植体;以标准 Hoagland 营养液作为营养液的配方;有水生根产生;研究筛选出适合浓度的营养液。

选用组培苗作为外植体的原因是,通过组织培养可获得纯合体基因型的组培苗,其遗传背景一致,但种子苗不是纯合体,遗传背景不一致,用组培苗作为外植体可以排除遗传差异对试验结果的影响。不仅如此,组培苗繁殖速度快,育苗期较短,可在组培室里进行统一管理,容易控制其生长环境的一致性,成本较低;而种子苗的生长速度较慢,育苗期较长,难以管理,成本较高。

研究发现,过高的营养液浓度会在培养初期伤害幼苗,导致叶畸形甚至死亡,当幼苗逐渐接受水培体系的环境时,耐受性增强,畸形叶则会恢复,但死亡是不可逆转的,故不可在培养初期使用高浓度的霍格兰德营养液。而且幼苗在 1 倍浓度 Hoagland 营养液的培养环境中需要适应较长的时间才能正常生长,所以采用自来水培养 1 周后改用 1/5 霍格兰德营养液培养的方法,这样既保证了初期幼苗的顺利过渡又保证了后期幼苗的正常生长。

为了探究硼、钙和磷元素是否会影响团花的速生性,笔者对团花进行硼、钙和磷元素缺素试验并观察其生长情况。在适合浓度缺少硼、钙和磷元素的 Hoagland 营养液处理下,团花在 2 周内发生不可逆转的生理变化,笔者发现当植物缺硼时其形态表现为生长点生长缓慢、叶面畸形、皱缩加厚、叶和茎变脆;缺钙时植物叶片迅速褐化并脱落,根系萎缩,侧根不发育,根尖大面积坏死;缺磷时植物表现为植物顶芽休眠,茎叶均出现紫红色。

在本试验研究团花早期生长的过程中,钙与硼对表型的影响大于磷的影响,说明在团花的快速生长发育中初生细胞壁相关的微量元素可能起到了更加关键的作用,其内在机制须要进一步的研究。

参考文献:

- [1] 苏光荣,易国南,杨清. 团花生长特性研究[J]. 西北林学院学报,2007,22(5):49-52.
- [2] 朱桂兰. 速生树种——团花[J]. 云南林业调查规划,1994(4):58-59.
- [3] 邓小梅,欧阳昆啼,张倩,等. 团花研究现状及发展思考[J]. 中南林业科技大学学报,2011,31(11):90-95.
- [4] 邓小梅,詹艳玲,张倩,等. 黄梁木组培快繁技术研究[J]. 华南农业大学学报,2012,33(2):216-219,224.
- [5] 郭世荣. 无土栽培学[M]. 北京:中国农业出版社,2003.
- [6] 牛雅静,黄河,杨可,等. 甘菊水培体系的建立[J]. 中国园艺文摘,2011,27(11):1-3,26.
- [7] 章玉平,陈丽云. 七彩千年木水培技术研究[J]. 广东农业科学,2009(10):72-74.
- [8] 汪鑫,徐建明. 硼的植物生理功能研究综述[J]. 安徽农业科学,2007,35(30):9611-9613,9693.
- [9] 牛义,张盛林. 植物硼素营养研究的现状及展望[J]. 中国农学通报,2003,19(2):101-104.
- [10] 牟咏花. 钙的生理功能及在果蔬生理中的重要性(综述)[J]. 浙江农业学报,1995,7(6):76-78.
- [11] 李晓彤,杨婉莹,孙莎莎,等. 外源褪黑素对番茄缺钙胁迫的缓解效应[J]. 植物生理学报,2019,55(2):169-176.
- [12] Yang H Q, Jie Y L. Uptake and transport of calcium in plants[J]. Journal of Plant Physiology and Molecular Biology,2005,31(3):227-234.
- [13] 苏苑君,胡笑涛,王文娥,等. 磷对水培生菜生长及矿质元素动态吸收的影响[J]. 中国生态农业学报,2015,23(10):1244-1252.
- [14] 江华,师生波,许大全. 冬季小麦叶片光合作用对温度响应方式的变化[J]. 植物生理学报,2000,26(1):69-74.
- [15] 王可盼,许春辉,赵福洪,等. 水分胁迫对小麦旗叶某些体内叶绿素 a 荧光参数的影响[J]. 生物物理学报,1997,13(2):123-128.
- [16] 林郑和,陈荣冰,郭少平. 植物对缺磷的生理适应机制研究进展[J]. 作物杂志,2010(5):5-9.
- [17] 张亚楠,宋立立,郭琳琳,等. 番茄低磷胁迫研究现状[J]. 科技视界,2016(25):172-172.
- [18] 李荣坦,姚华开,刘岳飞,等. 低磷胁迫对番茄根系生长及根际土壤细菌多样性的影响[J]. 园艺学报,2016,43(3):473-484.
- [19] 黎勇,张轩波,蔡晓丽,等. 不同营养液对 3 种观叶植物的水培效应[J]. 安徽农业科学,2007,35(23):7065-7067.
- [20] 赵兰枝,毛达,林紫玉,等. 不同营养液对彩叶草色素含量及光合作用的影响[J]. 广东农业科学,2007(6):30-32.