

杨锋利^{1,2}, 杜保国¹, 张存旭^{2,*}

(1. 绵阳师范学院生命科学与工程系, 四川绵阳 621000; 2. 西北农林科技大学林学院, 陕西杨凌 712100)

摘要: 以成龄(30年以上)栓皮栎枝条的萌条在室内沙培催芽, 用萌芽作为外植体建立无菌苗体系, 研究了基本培养基、蔗糖浓度以及 IBA 浓度和处理时间对生根的影响。结果表明: 采用 1/4MS 培养基添加 30g/L 蔗糖为较适宜的培养基, 生根率达到了 66.4%, 平均生根数为 2.3 条, 平均根长为 4.82cm。采用两步生根法, 用添加 1.0mg/L 的 IBA 培养基处理 14 天, 然后转接到无激素的培养基上的生根率最高, 达到了 96.7%, 愈伤组织少。

关键词: 栓皮栎; 组培; 生根; 影响因素

中图分类号: Q943.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1672-612x(2006)05-0079-04

栓皮栎(*Quercus variabilis* Bl.) 属壳斗科栎属植物, 是我国特有的落叶阔叶树种, 分布于北纬 22°~42°, 东经 99°~122° 的广大地区。安徽的大别山、河南的伏牛山和桐柏山、陕西的秦岭、鄂西和川东一带为其中心分布区。栓皮栎是我国特有经济树种, 也是我国最重要的软木资源, 并能进行木材、薪材、食用菌、天麻、橡子、橡碗(栲胶)生产^[1]。

在过去几十年, 由于栓皮栎的重要应用价值, 栓皮栎林遭到过度的开发利用, 现有资源濒临枯竭^[2-3]。常规有性繁殖困难, 国外对于栎属树种组织培养方面已经做了不少研究工作^[5-8], 近几年我国学者也对栓皮栎进行了组织培养研究, 并取得了一定的成果^[9-10], 但在生产实际中, 栓皮栎无论是在常规繁殖还是组培快繁, 生根困难是普遍存在的问题, 已成为制约栓皮栎人工繁殖的瓶颈。栓皮栎组培苗生根率低、质量差、根数少, 且前人所作研究的材料大都是实生苗, 母株的优良性状很难保证。本试验选用成龄栓皮栎枝条萌发的嫩芽作为材料建

立无菌苗体系, 初步研究了几种影响因素对生根的影响, 以期能够探索成龄栓皮栎组培苗生根的最佳培养方法, 为科研和生产提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料选取

2003 年 3~8 月, 在陕西周至西楼观选取茎芽饱满、生长健壮无病虫害的成龄(30 年以上)优良结实单株, 取直径为 5~10cm 的木质化枝条。将枝条截成 40cm 左右的茎段, 去除叶片和细弱的侧枝, 用保鲜膜将茎段的截面(除基部截面)封住防止水分散失, 在 5℃ 条件下冷藏 20 天, 再置于组培室中, 喷以 100ppmBA, 室温条件下沙培催芽(见图 1)。待萌发枝长到 10cm 左右时, 取其萌发枝的顶芽和茎段为材料进行组培。

当组培苗生长到 30cm 以上时, 选取生长健壮, 具有 4~5 片叶的无菌苗进行生根培养。



图 1 成龄树的组培室培养和诱导萌发枝

收稿日期: 2006-04-23

基金项目: 绵阳师范学院青年教师科研基金项目(MA2005021)

作者简介: 杨锋利(1978-), 女, 助教, 硕士, 主要从事植物组织培养和园林教学。

* 通讯作者

1.2 方法

1.2.1 基本培养基对生根的影响

以 WPM 和 1/4MS 为基本培养基,各培养基添加 0.5mg/LIBA。每种培养基的蔗糖浓度分别 20g/L 和 30g/L,待 30d 后观察并统计生根率、根长、根数等数据;

1.2.2 蔗糖浓度对生根的影响

以 WPM 和 1/4MS 为基本培养基,蔗糖浓度设 20g/L 和 30g/L 两个水平,添加相同的激素,培养 30d 后观察并统计生根率、根长、根数等数据;

1.2.3 IBA 浓度对生根的影响

采用两步生根法。以 1/4MS 为基本培养基,分别添加 0,0.1,1.0,3.0mg/L IBA,分别培养 1,7,14 天后,转入不添加任何激素的培养基中。30 天后观察并统计结果。

培养间温度 $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$,光照时间 14h/d,光照强度 2000lx。

每项实验均设 3 个重复,每重复 10 个外植体,数据均为平均值。试验数据采用 SAS8.1 进行处理和分析。

2 结果与分析

2.1 基本培养基对生根的影响

经继代培养后的芽苗长到 3cm 以上时,从芽苗基部切割为单个芽苗,转入四种不同的生根培养基中,在第 30d 时统计观察,实验结果见表 1。

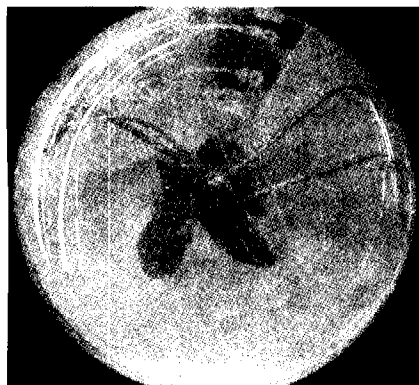


图2 生根培养(1/4MS)

2.2 蔗糖浓度对生根的影响

培养基的类型对生根率的影响很大,而蔗糖浓

表1 培养基类型和蔗糖浓度对生根诱导的影响及多重比较

Table1 Effect of medium and sucrose on root inducing and multiple comparison

培养基号	生根率 (%)	平均根数 (个)	平均根长 (cm)
1(1/4MS, 20g/L 蔗糖)	43.6b	2.0b	3.22b
2(1/4MS, 30g/L 蔗糖)	66.4a	2.3b	4.82a
3(WPM, 20g/L 蔗糖)	23.5d	2.5b	3.36b
4(WPM, 30g/L 蔗糖)	33.75c	3.5a	4.88a

注:相同的字母表示无显著差异

The same letter means no significant difference

从表1中可以看出,无论是添加 20g/L 或 30g/L 的蔗糖时,在 1/4MS 培养基上组培苗的生根率明显地优于 WPM 培养基,并且生根率几乎是 WPM 培养基的 2 倍,根数为 1-3 条,WPM 培养基上的根数为 1-5 条。通过多重比较可见,不同处理之间生根率的差异达到极显著水平,但平均根数和根长并不是最大,在 WPM 添加 30g/L 蔗糖时为最高。在相同的蔗糖含量下,平均根长无明显差异,并且在 1/4MS 培养基上的试管苗生根较早,愈伤组织较少,在所有植株中仅有 18% 的个体有愈伤组织的产生,愈伤组织面积仅为茎段截面的 1-2 倍,生根的质量较好。WPM 培养基生根诱导率较低,生根时间较长,多由愈伤组织分化而来,产生愈伤组织的植株占有所有植株的 46.7% - 64.3%,愈伤组织体积较大,面积约为植株截面的 2-4 倍。这种根一般缺乏与维管束的联系,成活较难(见图 2,3),但 WPM 上平均根数较多。由此可见低盐浓度的 1/4MS 培养基对于提高栓皮栎的生根率有明显的作用,这一结果和其他学者^[11-13]关于降低培养基盐浓度能显著提高生根率的报道一致。



图3 生根培养(WPM)

度则主要影响根的粗度、长度和平均根数(见表1)。在同一种培养基上,随着蔗糖浓度的增加,生根率、平均根数、根长及根的粗度等方面均有明显提高。

由此可见,适当的提高蔗糖的用量可以促进栓皮栎

组培苗的生根(图4)。

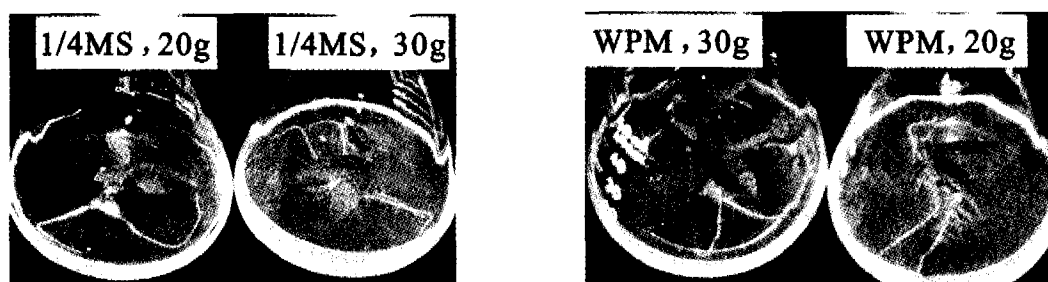


图4 培养基类型和蔗糖浓度对生根的影响

综合上述因素,以 1/4MS 为基本培养基,添加 30g/L 蔗糖生根效果较好,生根率达到 66.4%。但总体来看,诱导出的根数较少,茎杆部分无明显生长。

2.3 IBA 对生根诱导的影响

大量资料表明:栎属植物的生根培养中,IBA 单独作用效果显著^[4]。试验选取 IBA 四种浓度:0, 0.1, 1.0, 3.0mg/L,采用两步生根法,即在以上四种培养基中分别培养 1,7,14 天后,转入不添加任何激素的培养基中。30 天后观察并统计结果(图 5、6)。

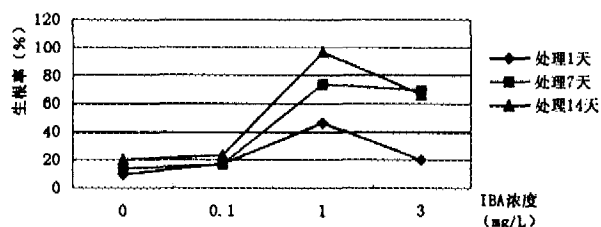


图5 IBA 浓度对生根率的影响

Fig.5 Effect of IBA concentration on rooting ratio

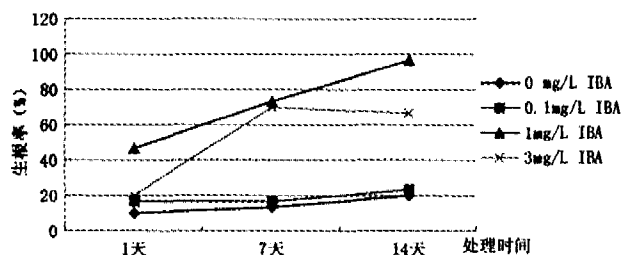


图6 处理时间对生根率的影响

Fig.6 Effect of processing on rooting ratio

从图 5 可以看出,IBA 浓度对生根率具有显著的影响。在 0~1.0 mg/L 范围内,随着 IBA 浓度的增加,各处理的生根率均为上升趋势。组培苗接到不含激素的培养基上后,20 天后苗的基部形成白色的短根,40 天左右形成良好的根系,但生根率较低。

在 IBA 处理 14 天的相同情况下,当 IBA 浓度为 0.0mg/L 时的生根率仅为 20%,而当 IBA 为 1.0mg/L 时的生根率为 96.7%。从实验结果(图 5)中还可以看出,当 IBA 的浓度大于 1.0mg/L 时,生根率开始降低。当 IBA 浓度升高到 3.0 mg/L 时,组培苗基部呈现黑褐色,地上部分生长缓慢。因此可见,以 1.0mg/L 左右的 IBA 的生根效果较好,其生根率和生根条数明显多于 0,0.1,3.0mg/L 时的水平。

2.4 在含有不同浓度的 IBA 培养基中处理时间对生根率的影响

将组培苗分别在不同浓度 IBA 的培养基中培养 1,7,14 天,然后转移到无激素的培养基中,其生根率如图 6 所示。从图中可见,在 IBA 的各个浓度下,随着处理时间的延长,生根率大体上呈上升趋势。在 IBA 为 1.0mg/L 时,处理时间为一天的生根率仅为 46.7%,而处理 14 天后的生根率达到了 96.7%。当 IBA 的浓度较高为 3.0mg/L 时,以处理时间为 7 天的生根率为最高,而处理 14 天时的生根率有所下降,可能是因为植株体内的 IBA 浓度过高,在体内积累,不利于生根。

3 讨论

3.1 培养基的类型对生根的影响

组织培养的植株能否生根和生根的质量和数量直接影响到组培的成功与否,栓皮栎是难生根的一个树种,较低的盐浓度有利于组培苗的生根,而栓皮栎在以前较多地采用 WPM 培养基。宋敏等在种子实生苗的研究中,认为以 WPM 为基本培养基,同时附加 NAA0.1mg/L 和 IBA0.25mg/L 时生根效果较好^[4]。本试验认为以 1/4MS 为基本培养基,添加 IBA0.5mg/L 生根效果较好。

3.2 蔗糖的浓度对生根的影响

蔗糖作为培养基中的碳源,植物组培必不可少

的成分,但不同的种类适宜的浓度不同。贾建国^[14]在对青苹果的组培苗生根研究,汤浩茹^[15]等对豌豆插条生根的实验以及刘庆忠^[16]对山楂的组织培养研究中,也得到了相同的结论,即随着蔗糖浓度的增加,生根率增加,但不同的物种有不同的适合值。根据刘庆忠^[16]的研究,组培苗对糖的这种反应与糖代谢和物理渗透都有关。在本试验中,蔗糖从 20g/L 到 30g/L,随着蔗糖浓度的升高,能够明显地提高成龄栓皮栎组培苗的生根率、平均根数以及平均根长。但能否通过进一步加大蔗糖含量的方法来促进成龄栓皮栎组培苗的生根有待进一步的研究。

3.3 生根方法和激素对生根的影响

本实验中,采用两步生根法,先将无菌苗在含有 0, 0.1, 1.0, 3.0mg/L IBA 的四种培养基中分别培养 1, 7, 14 天后,转入不添加任何激素的培养基中,其

中以在 IBA 为 0.1 mg/L 的培养基中处理 7 天的生根效果最好,这和人^[17]的研究成果较为一致。其原因可能是根原基的形成需要生长素的刺激,而根原基形成后的高浓度的生长素会起到抑制根的生长作用。国外在栎类离体培养时多采用转移生根的方法,或者经 IBA 浸泡后,进行瓶外生根^[18]。宋敏在研究中指出 IBA 和 NAA 联合要比单独使用 NAA 或 IBA 的效果佳,生根率最高达到了 80%。单独使用 NAA 时生根率低,茎段基部的愈伤组织大,且多为愈伤根,这种从愈伤组织处产生的根系不与分化芽的输导系统相通,吸收功能比皮层生根弱,不利于芽苗的生长,移栽时容易损伤,不利于移栽。本实验中,离体成龄栓皮栎根获得了较好的生长,但茎段部分生长缓慢或没有生长,原因仍需进行进一步的深入研究。

参考文献:

- [1] 郑万均. 中国树木志(第二卷)[M]. 北京:中国林业出版社,1985:2330.
- [2] 张文辉,卢志军,李景侠. 陕西不同林区栓皮栎种群空间分布格局及动态的比较研究[J]. 西北植物学报,2002,22(3): 476-483.
- [3] 张文辉,卢志军. 栓皮栎种群的生物生态学特性和地理分布研究[J]. 西北植物学报,2002,22(5):976-983.
- [4] 张存旭,宋敏,赵忠. 植物生长调节物质对栓皮栎茎芽增殖和生长的影响[J]. 西北林学院学报,2004,19(2):64-66.
- [5] Chalupa V. In vitro propagation of oak (*Quercus robur* L.) and linden (*Tilia cordata* Mill) [J]. *Biologia plantarum*, 1984, 26(5):374-377.
- [6] Favre J M, Juncker B. In vitro growth of buds taken from seedlings and adult plan material in *Quercus robur* L. [J]. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 1987, 8:46-60.
- [7] Lisa K, Bennett, Fred T, et al. In vitro propagation of *Quercus shumardii* seedlings [J]. *Hortscience*, 1986, 21(4):1045-1047.
- [8] Manzanera J A, Pardos J A. Micropropagation of juvenile and adult *Quercus suber* L. [J]. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 1990, 21:1-8.
- [9] 张焕玲,张存旭,贾小明. 栓皮栎胚性愈伤组织诱导及增殖体系的建立[J]. 西北林学院学报,2005,20(1):74-77.
- [10] 张存旭,姚增玉,赵忠. 栓皮栎体胚诱导关键影响因素研究[J]. 林业科学, Vol 141, No. 2, Mar., 2005:174-178.
- [11] Chalupa V. In vitro propagation of oak (*Quercus robur* L.) and linden (*Tilia cordata* Mill.) [J]. *Biol Plant*. 1984(26):374-377.
- [12] Lane WD. Regeneration of apple plants from shoot meristem - tips [J]. *Plant Sci Lett* 1978(13):281-285.
- [13] Skirvin R M, Chu MC, Rukan H. Rooting studies with *Prunus* sp. in vitro [J]. *HortScience* 1980(15):83-415.
- [14] 贾建国. 无机盐、蔗糖、活性炭对阴生观叶花木试管苗生根的影响[J]. 山西林业科技, 2000, 6(2):41-43.
- [15] 汤浩茹,王乔春,周光蓉. 子叶与外施蔗糖对豌豆幼苗生长及插条生根的影响[J]. 四川农业大学学报, 1994, 12(4):458-463.
- [16] 刘庆忠. 糖和氮对山楂组织培养新梢生根的影响[J]. 果树学报, 9(3):150-155.
- [17] YU YJ(于亚军), DAI HP(代汉萍), LI BJ(李宝江). Application of hormone and growth regulators on tissue culture for fruit-trees [J]. *Northern Horticulture*(北方园艺), 2002, 6:68-70.
- [18] SANCHEMC, SANJOSEZM, BALLESTERA. Requirement for invitro rooting of *Quercus robur* and *Quercus rubra* shoots derived from mature trees [J]. *Tree Physiology*, 1996, 16:673-680.

(下转第 95 页)

- [23] 许春晓. 旅游资源非优区“依附式开发”论[J]. 旅游学刊 2005, 20(01): 76-79.
 [24] 冯新灵. 绵阳旅游资源的区位特点及旅游区划[J]. 绵阳师专学报, 2001, 20(2): 60-63.
 [25] 冯新灵, 罗隆诚. 绵阳大一统旅游的设计规划和实施[J]. 绵阳师范学院学报, 2005, 24(2): 70-72.
 [26] 冯新灵. 四川新开发旅游资源吸引功能的研究[J]. 经济地理, 2003, 23(增): 243-246.

How to Develop Tourism in Areas of West China with Weak Tourism Resources ——A Case Study of Mianyang, Sichuan

FENG Xin-ling, LUO Long-cheng, LI Na

(Department of Resources and Environment Science, Mianyang Normal University; Mianyang, Sichuan, 621000)

Abstract: Based on the study of Mianyang's tourism with the theory of dissipative structure, the international convention and the methods adopted by World Tourism Organization, the case of Mianyang's Grand Unified Tourism and its interaction on the development of Mianyang's regional tourism has been studied. The result shows that to develop Mianyang's grand unified tourism plays an active role in promoting Mianyang's status and strengthening the competitive ability of Mianyang's tourism. It provides the weak west part of China with a new mode to develop their tourism.

Key words: West China; areas with weak tourism resources; development of tourism; grand unification

(上接第 82 页)

A Study of the Factors Influencing the Rooting of the Tissue Cultural Seedlings of Mature Quercus Variabilis

YANG Feng-li^{1,2}, DU Bao-guo¹, ZHANG Cun-xu²

(1 College of Life Science and Engineering, Mianyang Normal University, Mianyang, Sichuan, 621000)

(2 College of Forestry, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100)

Abstract: Accelerating the germination of branches obtained from over 30 years old quercus variabilis trees by indoor sand culture, then using coppice sprouts from the branches as explants to build tissue cultural system, this experiment studies the effect of the cultural media kinds, the sucrose concentration, the IBA concentration and the processing time on the ratio of rooting. The result shows that 1/4MS with 30g/L sucrose is the best medium, the rooting ratio is up to 66.4%, the average number of the rooting is 2.3, and the average length of the roots is 4.82cm; following the two-step rooting method, the shoots have been cultured by adding 1.0mg/L IBA for 14 days, then transferred to the medium without hormone. In this way, a high rooting ratio is up to 96.7%, and there is no callus in the base.

Key words: quercus variabilis; tissue culture; rooting; influencing factors