

植物生长调节物质对栓皮栎茎芽增殖和生长的影响

张存旭¹, 宋敏², 赵忠¹, 贾小明¹

(1. 西北农林科技大学 林学院, 陕西 杨陵 712100; 2. 曲阜师范大学 生命科学学院, 山东 曲阜 273165)

摘要:研究了植物生长调节物质 6-BA、NAA、GA₃ 在离体培养条件下,对栓皮栎茎芽增殖和生长的影响。结果表明,低浓度的 6-BA(0.2~0.6 mg·L⁻¹)能促进栓皮栎茎芽增殖,6-BA 浓度为 1.0 mg·L⁻¹时,茎段基部形成大的愈伤组织块,对芽增殖有所抑制。单独使用不同浓度的 6-BA 对茎芽伸长无显著影响。适当浓度的 NAA(0.01 mg·L⁻¹, 0.1 mg·L⁻¹)与 6-BA 配合使用,能明显促进茎芽的伸长生长。当 NAA 浓度为 0.5 mg·L⁻¹时,抑制茎芽增殖和生长。在培养基中添加 2.0~5.0 mg·L⁻¹的 GA₃,对茎芽的伸长有明显的促进作用,但连续使用时,植株生长细弱,不利于进一步继代培养和生根培养。

关键词:生长调节物质;茎芽增殖;茎芽伸长;离体培养;栓皮栎

中图分类号:S792.189.05

文献标识码:A

文章编号:1001-7461(2004)02-0064-03

Influence of Growth Regulators on Shoot Proliferation and Growth in *Quercus variabilis*

ZHANG Cun-xu¹, SONG Min², ZHAO Zhong¹, JIA Xiao-ming¹

万方数据

(1. College of Forestry, NW Sci-Tech Univ. of Agr. and For., Yangling, Shaanxi 712100, China;

2. College of Life Sciences, Qufu Normal University, Qufu, Shandong 273165, China)

Abstract: The effect of 6-BA, NAA, GA₃ on shoot growth and proliferation of *Quercus variabilis* in vitro was investigated. The results showed that low concentration 6-BA(0.2~0.6 mg·L⁻¹) accelerated shoot proliferation. The stem base produced large callus piece and prevented shoot proliferation in medium with 1.0 mg·L⁻¹ 6-BA. Shoot elongation was strongly improved by the combination NAA(0.01 mg·L⁻¹, 0.1 mg·L⁻¹) and 6-BA. But shoot proliferation and growth were inhibited in medium supplementing 0.5 mg·L⁻¹ NAA in the presence of different concentration 6-BA. Shoot elongation was also obviously stimulated by supplementing 2.0~5.0 mg·L⁻¹ GA₃ in medium with 0.5 mg·L⁻¹ 6-BA. If appending continuously GA₃ in subculture, shoots development will become very poor, and could not be used to rooting further.

Key words: growth regulator; shoot proliferation; elongation; in vitro; *Quercus variabilis*

栓皮栎(*Quercus variabilis*)是我国传统的特有经济树种^[1],过去几十年栓皮栎林遭到过度的开发利用,现有资源濒于枯竭^[2,3]。栓皮栎通常采用种子繁殖,后代常发生严重的遗传分化。由于常规无性繁殖困难,组织培养技术是优良基因型快速繁殖的一个具有潜在价值的方法。鉴于栓皮栎的重要价值,建立优良基因型组培快繁体系具有重要意义。国外

在栎属树种组织培养方面已经做了不少研究工作^[5~8],我国尚未见报导。植物组织培养受许多因素的影响,如基本培养基、激素、培养环境条件等,其中植物生长调节物质起着非常重要的作用。本文研究在离体培养条件下,植物生长调节物质对栓皮栎茎芽增殖及生长的影响,旨在为快繁体系的建立奠定基础。

收稿日期:2003-07-11

基金项目:陕西省自然科学研究项目(2002 C103);西北农林科技大学科研专项基金(2001)

作者简介:张存旭(1961-),男,陕西澄城人,在职博士,副教授,主要从事林木遗传及生物技术方面的研究。

1 材料与方法

切取 1.0~1.5 cm 4~6 个月栓皮栎实生苗带芽茎段,流水冲洗 1 h,75%酒精表面消毒 30 s,再用 0.1% HgCl_2 浸泡消毒 8 min,无菌水冲洗 5 次,接种于添加 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA 的 BTM(broad-leaved trees medium)培养基上^[5]。初代培养 4 周后,茎段腋芽萌发、展叶,切取 0.5 cm 带芽小段,在相同基本培养基添加不同激素进行增殖培养。①添加 0、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 6-BA;②添加 0.1、0.5、1.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 6-BA 和 0.01、0.1、0.5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 NAA;③添加 0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、5.0、6.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 GA_3 和 0.5 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA。

培养基中,琼脂 $6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,蔗糖 $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,pH5.6。培养室温度 $25 \sim 28^\circ\text{C}$ 。光照时间 14 h/d,光照强度 $2\,000 \sim 3\,000 \text{ lx}$ 。每处理 10 个培养物,重复 3 次。28 d 后统计结果,采用 SAS 软件对数据进行统计处理^[4]。

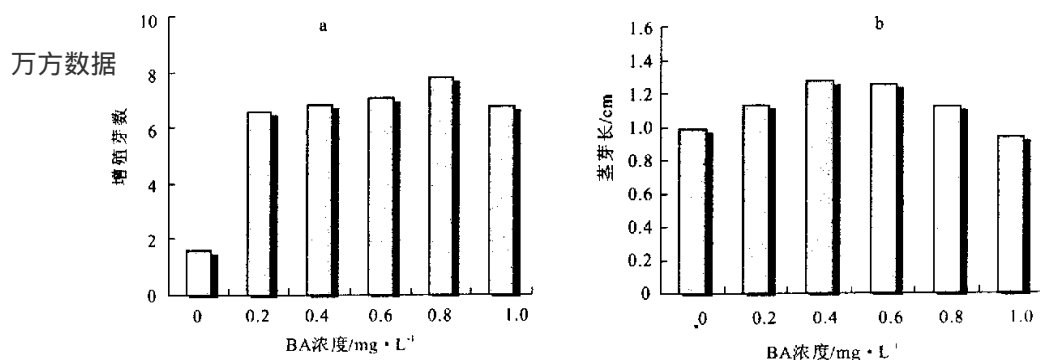


图1 不同浓度 6-BA 对芽增殖及生长的影响

Fig. 1 Effect of 6-BA concentration on number of shoots and shoots elongation

2.2 6-BA 与 NAA 配合对茎芽增殖的影响

在增殖培养中,如果茎芽不够长,就不能进行诱导生根培养。因此,有必要在茎芽增殖系数和有效伸长方面取得平衡。由表 1 可以看出,当 NAA 浓度为 $0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,6-BA 浓度增加,茎芽数显著增加;当 NAA 浓度为 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,表现出相同的变化趋势,但增长速度较 $0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时缓慢;当 NAA 浓度为 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,茎芽的增殖明显减少。在 6-BA 浓度分别为 $0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,不同 NAA 之间茎芽增殖相差不大。方差分析表明(表 2),不同浓度的 6-BA、NAA 及其配合之间,茎芽增殖均有极显著差异。

在茎芽伸长方面,6-BA 与 NAA 配合使用对茎

2 结果与分析

2.1 6-BA 对茎芽增殖的影响

栓皮栎茎芽增殖受细胞分裂素 6-BA 的显著影响(图 1-a)。在不含 6-BA 的培养基中,平均茎芽数仅有 1.6 个,当 6-BA 浓度为 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,可达 6.5 个,最高达到 7.8 个(6-BA $0.8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)。6-BA 浓度在 $0.2 \sim 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 范围内,茎芽数无显著差异。6-BA 浓度达 $1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,茎段基部形成的愈伤组织块大,直径 1 cm 左右,对芽增殖有所抑制。不同浓度的 6-BA 对茎芽伸长无显著影响(图 1-b)。当 6-BA 浓度较低时($0.2 \sim 0.6 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$),叶面积大,节间相对较长;当 6-BA 浓度为 $0.6 \sim 1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,丛芽多成簇状,芽间距短,叶浓密面积小,难于分切进行继代培养,个别苗出现玻璃化特征。在欧洲栓皮栎的研究中也发现,较高浓度的 6-BA 增加培养体的玻璃化程度,减少有效茎芽的数目^[9]。

芽伸长有明显的影。当 6-BA 浓度一定时,NAA 浓度增加,茎芽伸长减少;NAA 浓度一定时,6-BA 浓度增加,茎芽伸长也相应减少。方差分析表明:不同浓度的 6-BA 和 NAA 之间,茎芽伸长均有极显著差异,而两者的配合间无显著差异。

研究表明,高浓度的 NAA($0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)与 6-BA 配合使用时,茎段基部形成大的愈伤块,对芽增殖和伸长作用不显著;低浓度的 NAA 与 6-BA 配合较 6-BA 对芽的伸长有明显的促进作用,但茎芽增殖数有所减少。因此, $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA 与 $0.01 \sim 0.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA 组合对芽增殖和伸长有显著的促进作用。 $1.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 6-BA + $0.01 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ NAA 虽然在芽增殖和茎芽伸长方面表现良好,但

基部愈伤块大,丛芽一般靠近基部,在继代培养中易被新形成的愈伤吞没,影响营养的吸收。

表 1 6-BA 与 NAA 组合对芽增殖及生长的影响

Table 1 Effect of different 6-BA and NAA levels on shoot proliferation and shoot elongation

| 6-BA/mg · L ⁻¹ | NAA/mg · L ⁻¹ | 增殖芽数 | 茎芽长/cm |
|---------------------------|--------------------------|------------|-------------|
| 0.1 | 0.01 | 1.3±0.27 a | 1.98±1.10 d |
| 0.1 | 0.1 | 2.4±0.45 a | 1.79±1.00 c |
| 0.1 | 0.5 | 1.6±0.32 a | 1.61±1.01 b |
| 0.5 | 0.01 | 4.6±0.44 c | 1.90±1.12 d |
| 0.5 | 0.1 | 3.2±0.37 b | 2.17±1.81 d |
| 0.5 | 0.5 | 3.3±0.28 b | 1.48±0.63 b |
| 1.0 | 0.01 | 6.9±0.78 d | 1.85±1.34 c |
| 1.0 | 0.1 | 5.4±0.51 c | 1.40±1.12 b |
| 1.0 | 0.5 | 1.9±0.23 a | 1.25±0.63 a |

表 2 6-BA 与 NAA 组合对芽增殖及生长影响方差分析

Table 2 The variance analysis of shoot proliferation and shoot elongation with different 6-BA and NAA levels

| 变异来源 | 自由度 | 增殖芽数 | | 茎芽长 | |
|----------|-----|---------|----------|---------|----------|
| | | 均方 | F | 茎芽长均方 | F |
| 6-BA | 2 | 210.479 | 33.000** | 362.783 | 7.657** |
| NAA | 2 | 97.566 | 15.297** | 549.840 | 11.605** |
| 6-BA×NAA | 4 | 70.503 | 11.054** | 137.093 | 2.893 |
| 误差 | 287 | 6.378 | | 47.382 | |

2.3 GA₃ 对茎芽伸长的影响

据图 2-a 看出,GA₃ 浓度较低时(2 mg · L⁻¹),对茎芽的伸长效果不明显,随着浓度的增加,逐渐表现出良好的伸长效果。对茎芽伸长效果最好的是0.5 mg · L⁻¹6-BA₃+5.0 mg · L⁻¹GA₃ 组合,有效增殖芽数(>0.5 cm)最多,平均 4.1 个;茎芽长度最大,平均 3.5 cm。GA₃ 为 6.0 mg · L⁻¹时,虽然伸长效

果很好(图 2-b),但幼苗玻璃化比例加大,继代培养时生长趋于停止,不利于生根培养。对第 2 次继代和第 5 次继代均加 5.0 mg · L⁻¹ GA₃,结果表明,前者植株生长健壮,平均茎长 5 cm,叶片宽大舒展、绿色,腋芽伸长;后者植株细弱,茎高 3~4 cm,叶片很小,长约 2~3 mm 或停止发育,且易形成玻璃化,不适于进一步继代培养和生根培养。

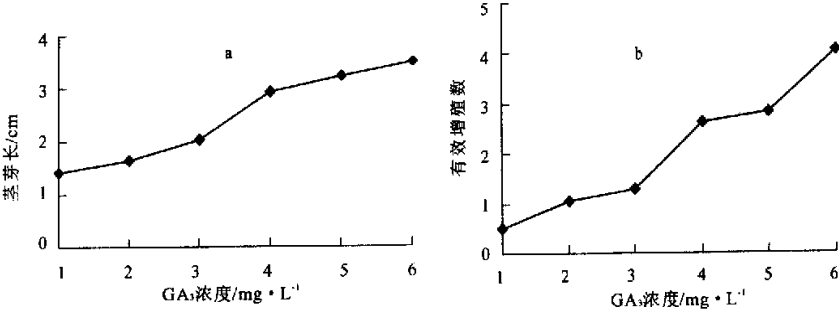


图 2 GA₃ 对茎芽增殖及伸长的影响

Fig. 2 Effect of GA₃ on shoot proliferation and shoot elongation

3 结论与讨论

低浓度的 6-BA 能促进栓皮栎芽的分化,提高浓度则产生丛状芽,并抑制节间伸长;浓度超过 1.0 mg/L 时,诱导生成大量的愈伤组织,反而抑制了芽的分化。栓皮栎增殖培养中添加适当浓度的 NAA 与 6-BA 配合使用,明显促进茎芽的伸长生长,但

NAA 浓度不能太高,否则将抑制茎芽增殖和生长。

GA₃ 属于赤霉素类,既能刺激茎顶端的细胞分裂又能刺激茎的伸长^[10]。王光萍等^[11]在福建山樱花的组培研究中发现适宜的 GA₃ 浓度不仅有利于丛生芽的增殖,且对芽的生长具有明显的促进作用,同时基部又可萌发新的丛生芽。作者也发现 GA₃ 对茎

(下转 115 页)

密度影响极显著,对方竹材体积干缩系数影响显著,对方竹材弦向干缩系数、径向干缩系数、高向干缩系数影响不显著;年龄影响的重要程度大于胸径和竹竿部位;方竹材基本密度和干缩性表现为:上部>中部>下部,随胸径增大而减小,基本密度随年龄增大而增大,4 a 生达到最大,5 a 生开始呈下降趋势,而干缩性均随着年龄的增大而减小,而且下、中、上各部位基本密度和干缩性稳定期均在 3~4 a;方竹作为用材的适宜采伐龄为 3 a,在利用时,同时要考虑年龄、胸径和竹竿部位对方竹材基本密度和体积稳定性的影响。

参考文献:

- [1] 林金国,林思祖,林庆富,等.人工杉木林木材力学性质变异规

律的研究[J].福建林学院学报,1997,17(2):176-179.

- [2] 林金国,董建文,涂育合,等.湿地松人工林木材物理力学性质变异的研究[J].福建林学院学报,1997,17(4):360-362.
[3] 马灵飞.毛竹材性变异的研究[J].林业科学,1997(4):356-363.
[4] 林金国,何水东,林顺德.麻竹材基本密度与力学性质变异规律的研究[J].竹子研究汇刊,1999(1):58-61.
[5] 刘盛全,江泽慧.人工林的发展和人工林材性与培育及利用关系学[J].世界林业研究,1998(4):42-46.
[6] 国家标准 GB/T 15780-1995.竹材物理力学性质试验方法[M].北京:中国标准出版社,1996.
[7] 陈华豪,丁愿统,洪伟,等.林业应用数理统计[M].大连:大连海运学院出版社,1998.154-159.

(上接第 66 页)

的伸长有显著的促进作用,但不能在继代培养中一直使用。试验中发现,第 2 次继代和第 5 次继代加 GA_3 都可促进茎的伸长,但茎生长细长,叶片发育不全,不适合生根培养,继代后的芽分化能力减弱。

参考文献:

- [1] 郑万均.中国树木志(第 2 卷)[M].北京:中国林业出版社,1985.2,330.
[2] 张文辉,卢志军,李景侠,等.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.栓皮栎种群的生物学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] 黄少伟,谢维辉.实用 SAS 编程与林业试验数据分析[M].广州:华南理工大学出版社,2001.
[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 plant 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] Romano A, Noronha C, Martins-loucao M A. Influence of growth regulators on shoot proliferation in *Quercus suber* L. [J]. Annals of Botany, 1992, 70: 531-536.
[10] Bonge J M, Durzan D J. Tissue culture in forestry[M]. Netherland: Martinus Nijhoff publisher, 1982. 244-245.
[11] 王光祥,黄敏仁.福建山樱花的组织培养及植株再生[J].南京林业大学学,2002,26(2):73-75.