

新疆核桃品种试管苗不定根发生的影响因素研究

胡石开^{1,2}, 王晓军¹, 郝秀英³, 唐晓义^{1,2}, 李 静^{1,2}, 牛力涛^{1,2}

(1. 中国科学院新疆理化技术研究所, 新疆 乌鲁木齐 830011; 2. 中国科学院研究生院
北京 100039; 3. 新疆农业科学院微生物研究所, 新疆 乌鲁木齐 830091)

摘要:以新疆 2 个优良核桃品种新温 185 号、新温 2 号为试材, 对影响试管苗的不定根发生的影响因素进行了研究。结果表明: 基本培养基、外源 IBA 水平、光周期及黑暗条件对不定根发生具有一定的影响。选取生长旺盛的试管苗, 采用一步浸蘸诱导生根法, 即将试管苗放入经常规灭菌处理过的 80 mg/L 的 IBA 溶液中浸蘸处理 75 min, 然后转入不含任何激素的 1/4 DKW 中, 黑暗处理 12 d 后置于光照下生根。利用这一方法快速诱导了试管苗生根, 获得了高达 90.90% 的生根率, 生根指数达 254.44。

关键词: 核桃品种; 生根; 离体培养; 新疆

中图分类号: S 664.103.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2009)08-0107-03

核桃 (*Juglans regia* L.) 是不定根难发生的树种^[1], 长期以来核桃试管苗生根困难一直是困扰核桃工厂化育苗的最为突出的问题, 生根质量的高低是决定能否进行大量生产和应用的关键环节。近年来, 在生根研究方面虽然获得了一定的进展^[4,8], 但针对新疆核桃品种的试管苗生根研究甚少。在核桃生根培养试验中, 存在采用“间接法”诱导生根^[9]和第二步生根诱导法^[4], 2 种生根方法的优劣性说法也不一致, 这可能是由于使用的核桃材料和品种不一致所致。同时在使用基本培养基方面也存在差异, 有使用 1/2 DKW, 也有使用 1/4 DKW 诱导核桃生根。针对新疆核桃试管苗不定根发生究竟使用何种方法较好, 探索影响不定根发生的因素是必需解决的问题。因此, 该试验在比较试验基础上, 在“间接法”诱导生根略加改进基础上, 对新疆核桃 2 个优良品种试管苗的生根条件进行了初步研究, 获得了较为满意的生根效果。

1 材料与方法

1.1 材料

供试品种核桃 (*Juglans regia* L.) (品种) 为新温 185 号和新温 2 号核桃, 来源于阿克苏地区温宿木本粮油林

场嫁接苗, 引种至中国科学院新疆理化技术研究所实验园。

1.2 方法

1.2.1 基本培养基筛选及培养条件 诱导不定根发生的 DKW 培养基的大量元素稀释至 1/2、1/4、1/8 DKW, 不添加任何生长调节剂, 以上各种基本培养基附加 25 mg/L 葡萄糖和 5.5 g/L 琼脂, 培养温度为 (25±3) °C, 光照强度为 2 500~3 300 lx, 黑暗条件下小于 100 lx。

1.2.2 IBA 浓度和处理时间对不定根发生的影响 用 IBA 50、60、70、80、100 mg/L 和不同处理时间来研究外源 IBA 水平对生根的影响。

1.2.3 光照条件对不定根发生的影响 用经常规灭菌后的 80 mg/L 的 IBA 溶液处理核桃无菌苗, 再接入 1/4 DKW 培养基中并置于温度 (23±1) °C 光照或黑暗处理条件下诱导根原基生成, 探讨光周期和黑暗时间对生根的影响。

1.3 统计分析

生根 20 d 后统计生根率、平均主根数量、平均根长和生根指数, 其中生根指数 = 生根率 × 平均主根数量 × 平均根长。

2 结果与分析

2.1 基本培养基对不定根发生的影响

基本培养基对不定根发生的影响结果见表 1, DKW 培养基抑制了核桃试管苗不定根的形成, 外植体生根率只有 7.69%, 每个外植体的平均生根数为 0.3 条。当将 DKW 培养基的离子浓度降低至 1/2 DKW 时, 外植体生根率和每个外植体的平均生根数都大幅度提高。当将 DKW 培养基的离子浓度降低至 1/4 DKW 时, 外植体生根率和每个外植体的平均生根数又大幅度

第一作者简介: 胡石开(1982-), 男, 在读硕士, 现主要从事植物生理生化研究工作。E-mail: husky_love@163.com。

通讯作者: 王晓军(1962-), 男, 研究员, 现从事植物资源利用研究工作。E-mail: wangxj@ms.xjb.ac.cn。

基金项目: 中国科学院西部行动高新技术资助项目 (KGCX2-SW-506)。

收稿日期: 2009-02-20

提高, 外植体生根率达 90.90%, 每个外植体的平均生根数为 2.3 条, 但将 DKW 培养基的离子浓度降低至 1/8 DKW 时, 外植体生根率和每个外植体的平均生根数都会下降。因此, 基本培养基能对不定根的发生产生较大影响, 1/4 DKW 对核桃生根产生较大影响。

表 1 基本培养基对核桃不定根发生的影响

培养基	生根率/%	平均根数/条	平均根长/cm	生根指数
1/8 DKW	66.67	2.33	0.64	99.41
1/4 DKW	90.90	2.30	1.217	254.44
1/2 DKW	66.67	1.67	1.53	170.34
DKW	33.33	0.33	0.70	7.69

注: 生根指数=生根率×平均主根数量×平均根长

2.2 IBA 浓度和处理时间对不定根发生的影响

IBA 浓度和处理时间对不定根发生的影响结果见表 2, 用 50~100 mg/L IBA 浸蘸处理核桃试管苗一定时间都能在不同程度上使核桃生根, 其中用 IBA 80 mg/L 处理 75 min 能使核桃生根率达到 90.90%, 生根指数达 254.44(图 1)。同时试验发现一步浸蘸诱导生根法较二步生根诱导法^[6]不但能减少愈伤的产生, 而且根原基出现也要早 12 d 左右, 根的生长点发育较好。



图 1 生根的核桃试管苗

表 2 IBA 浓度和处理时间对核桃不定根发生的影响

IBA 浓度 /mg·L ⁻¹	处理时间 /min	生根率 /%	平均根数 /条	平均根长 /cm	生根 指数
50	70	50.00	1.25	0.68	110.25
60	65	50.00	1.25	0.50	72.50
70	80	66.67	1.67	0.38	96.67
80	75	90.9	2.30	1.217	254.44
100	65	66.67	1.33	0.33	86.67

2.3 光照条件对不定根发生的影响

2.3.1 光周期对不定根发生的影响 光周期对核桃不定根发生的影响结果见表 3。由表 3 可知, 在光照和黑暗条件下进行生根诱导中, 光诱导的生根率为 0 经过黑暗处理平均生根率达 61.54%, 生根指数达 135.88, 所以黑暗处理是诱导新疆核桃生根的必要条件。

2.3.2 黑暗处理时间对不定根发生的影响 黑暗处理时间对生根的影响见表 4。黑暗诱导处理时间的长短会

对核桃生根产生一定影响, 在黑暗处理 12 d 时, 核桃生根率、平均根数、平均根长和生根指数都达到最高, 与其他处理时间相比达到显著性差异。黑暗处理不足 6 d 不能使核桃生根; 黑暗时间超过 14 d 一方面会使试管苗基部产生愈伤组织, 影响生根率和生根质量, 另一方面会使试管苗茎尖变黑, 叶片黄化严重, 甚至脱落枯死。所以在核桃生根过程中黑暗诱导的最佳时间是 12 d。

表 3 光周期对核桃不定根发生的影响

光照状态	生根率/%	平均根数/条	平均根长/cm	生根指数
光照	0	0	0	0
黑暗	61.54	1.15	1.92	135.88

表 4 黑暗诱导时间对核桃不定根发生的影响

黑暗时间/d	生根率/%	平均根数/条	平均根长/cm	生根指数
0	0	0	0	0
6	0	0	0	0
8	33.33	0.33	0.93	93.33
10	66.67	0.67	0.77	76.67
12	90.9	2.30	1.217	254.44
14	66	0.67	1.00	100.00
> 14	试管苗黄化严重, 甚至脱落枯死			

3 结论

3.1 核桃试管苗不定根形成与培养基类型的关系

降低 MS 培养基离子浓度有利于不定根发生, 这在许多植物中已有报道^[9-10]。在几种木本植物组织培养研究中发现, 培养基中较高离子强度会对不定根形成和不定根生长表现出抑制作用^[1]。该研究中, DKW 培养基与 1/2 DKW 培养基和 1/4 DKW 培养基相比, 前者比后者的离子浓度高, 尤其是氮的水平。因此可以推断, 1/4 DKW 培养基有利于核桃试管苗不定根形成, 很大程度上是由于培养基中低水平的离子浓度, 尤其是培养基中低水平的氮离子浓度。但是 1/8 DKW 培养基又会导致离子浓度水平过低, 不能满足不定根发生的营养要求。

3.2 核桃试管苗不定根形成与外源激素的关系

核桃是不定根较难发生的树种, 虽然在最近 20 年来在其生根方面已开展了大量研究, 并对生根的机制进行了初步探索^[6], 但其生根效果仍不令人满意。一般认为, 植物不定根的形成过程可划分为 4 个阶段, 即诱导期、根原基发端期、根发育和伸长期, 而每个阶段又各有其生理生化特征及其相应的调控因子^[4,8]。在相应的调控因子中生长调节物质特别是生长素类物质起了重要作用。鉴于前人的研究结果表明, 核桃对外源生长素类物质反应较为敏感的特点, 采用了一步浸蘸诱导生根法, 类似休克疗法, 将试管苗放入经常规灭菌处理过的高浓度 IBA 溶液中浸蘸处理一定时间, 然后转入不含任何激素的 1/4 DKW 中, 黑暗处理 12 d 后置于光照下生根。这样处理一方面避免了二步诱导生根法中试管苗基部大量愈伤组织的产生, 进而提高生根质量, 另一方

面也避免了二步诱导生根法繁琐的二步操作, 进而节约成本。试验结果表明, 在 80 mg/L 的 IBA 溶液中浸蘸处理 75 min, 然后转入不含任何激素的 1/4 DKW 中, 黑暗处理 12 d 后置于光照下生根的一步浸蘸生根法, 不论是生根率、平均生根数和平均根长方面都能达到较好的生根效果。

3.3 核桃试管苗不定根形成与光周期的关系

光周期对植物离体器官形成的影响已有许多报道, 其中暗培养对许多木本植物诱导生根是必要条件, 可获得较高的生根率^[12-14]。试验表明, 在光照条件下试管苗几乎不能生根, 而在黑暗条件下生根率较高。这是一个复杂而又有趣的现象, 暗培养诱导生根率增加的机制可能是黑暗处理改变了在根原基诱导期和发端期内源激素水平及激素间平衡关系、提高了的过氧化物酶活性、降低了酚类化合物含量等, 这些生理生化代谢的变化有利于不定根发生机制的启动, 从而获得较好的生根效果^[8, 15-16]。

参考文献

- [1] 郝荣庭, 张毅萍. 中国果树志(核桃卷)[M]. 北京: 中国林业出版社, 1996: 20-27.
- [2] 陈正华. 木本植物组织培养及其应用[M]. 北京: 高等教育出版社, 1986: 456-465.
- [3] Jay-Allemand C, Capelli P, Comu D. Root development of in vitro hybrid walnut microcuttings in a vermiculite-containing gelrite medium[J]. Scientia Horticulturae, 1992, 51: 335-342.
- [4] 裴东, 袁丽钊, 奚声柯, 等. 核桃品种试管嫩茎生根的研究[J]. 林业科

学, 2002, 38(2): 32-37.

- [5] Driver J A, Kuniyukoi A H. In vitro propagation of Paradox walnut rootstock[J]. HortScience, 1984, 19(4): 507-509.
- [6] 王清民, 彭伟秀, 吕保聚, 等. 核桃试管不定根的组织学研究[J]. 西北植物学报, 2006, 26(4): 719-724.
- [7] 王清民, 彭伟秀, 张俊佩, 等. 核桃试管嫩茎生根的形态结构及激素调控研究[J]. 园艺学报, 2006, 33(2): 255-259.
- [8] 张建成, 张张伟. 核桃试管苗生根培养的研究[J]. 河北林果研究, 2005, 20(4): 361-365.
- [9] Manzanera J A, Pardos J A. Micropropagation of juvenile and adult Quercus suber L[J]. Plant Cell Tiss Org Cult, 1990, 21: 1-8.
- [10] Purohit S D, Kukda G, Shama P, et al. In vitro propagation of an adult tree Wightia tomentosa through enhanced axillary branching[J]. Plant Sci, 1994, 103: 67-72.
- [11] McCown B H, Sellmer J C. General media and vessels suitable for woody plant culture[M] // Bonga J M, Durzan D J eds. Cell and Tissue Culture in Forestry. The Netherlands: Martinus Nijhoff Publishers, 1987: 4-16.
- [12] Anuradha M, Rout G R. Study of embryo rescue in flobundata rose[J]. Plant Cell Tiss Organ Cult, 2005, (81): 113-117.
- [13] Barghchi Alderson. In vitro propagation of Pistacia vera L. species[J]. Acta Horti, 1985, 131: 49-60.
- [14] Zimmennan, Fordham. Simplified method for rooting apple cultivars in vitro[J]. Am Soc HortiSci, 1985, 110: 34-38.
- [15] Baralli R, Rossi F, Lercari B. In vitro shoot development of Prunus G F 6652: interaction between light and benzyladenine[J]. Plant Physiol, 74: 440-443.
- [16] Hutchinson, Zimmennan. Tissue culture of temperate fruit and nut trees[J]. Hort Rev, 1987(9): 273-349.

(本文作者还有努尔·波拉提, 单位同第一作者。)

Factors Affecting *in vitro* Rooting of Xinjiang Walnut Cultivars

HU Shi-kai^{1,2}, WANG Xiao-jun¹, HAO Xi-ying³, TANG Xiao-yi^{1,2}, Li Jing^{1,2}, NIU Li-tao^{1,2}, NUR·Bolat¹

(1. Xinjiang Technical Institute of Physics and Chemistry, Chinese Academy of Sciences, Urumqi, Xinjiang 830011, China; 2. Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China; 3. Institute of Microbiology, Xinjiang Academy of Agricultural Science, Urumqi, Xinjiang 830091, China)

Abstract: The factors affecting *in vitro* rooting of Xinjiang walnut cultivars-Xinwen 185 and Xinwen 2 were researched. The results showed that the rooting was related to the basic medium, the level of foreign IBA, light and dark conditions. The rooting rate of 90.90% and root index of 254.44 were achieved in two cultivars by using a step-induced root dip method that was firstly induced in 80 mg/L of IBA solution for 75 minutes, and then transferred to the 1/4DKW medium which did not contain any hormone, and then took to induce rooting under the light after in dark condition for 12 days.

Key words: *Juglans regia* L. cultivars; Rooting; *In vitro* culture; Xinjiang