

栓皮栎茎段离体培养及生化特性研究

邵妍丽, 张存旭

(西北农林科技大学 林学院, 陕西 杨凌 712100)

【摘要】 **【目的】**建立高效的栓皮栎器官再生植株体系。**【方法】**从陕西周至西楼关栓皮栎天然林中选择 4 株优良结实母株(30 年生以上)并采种,以沙培育苗 3~4 个月的实生苗茎段及 4 株母株幼龄及成龄茎段为外植体,比较离体条件下不同来源、不同基因型茎段增殖能力和生根能力的差异,并探讨抗氧化酶活性与增殖和生根能力的关系。**【结果】**相同来源的不同基因型茎段增殖培养后,其增殖茎芽数量、最长芽长及增殖叶数量无显著差异;母株幼龄茎段增殖培养后,其增殖茎芽数量、最长芽长及增殖叶数量均高于实生苗茎段和母株成龄茎段,差异达显著水平($P < 0.05$);相同来源的不同基因型茎段生根培养后,其生根率和平均每株根数量无显著差异;母株幼龄茎段生根率和平均每株根数量高于实生苗茎段和母株成龄茎段,差异达显著水平($P < 0.05$);相同来源的不同基因型茎段在各培养阶段,抗氧化酶活性无显著差异;3 个来源茎段抗氧化酶活性在第 2 次增殖培养后及生根培养后均高于增殖培养的其他阶段,差异达显著水平($P < 0.05$)。**【结论】**母株幼龄茎段是建立栓皮栎器官高效再生植株体系最佳的外植体来源;抗氧化酶活性与增殖能力和生根能力有一定的关系。

【关键词】 离体培养;茎段;栓皮栎;生化特性

【中图分类号】 S792.180.4;S723.1⁺32.6 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-9387(2011)06-0103-07

In vitro effects and biochemical characteristics from nodal segments in *Quercus variabilis*

SHAO Yan-li, ZHANG Cun-xu

(College of Forestry, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: **【Objective】**The study was to provide a basis to establish an efficient organ regeneration system for *Quercus variabilis*. **【Method】**Selecting 4 strong *Q. variabilis* (30 years old), seedlings of 3—4 months from sand cultured nodal segments of the 4 trees, juvenile and mature nodal segments from the 4 trees were used as sources of initial explants. *In vitro* effects from nodal segments of different orientation and clones on the ability of elongation and rooting were compared, also the relationship between antioxidant enzymes and the ability of elongation and rooting were discussed. **【Result】**No significant difference was found for the identical sources of nodal segments from different clones in axillary shoots number, length of tallest shoot and green leaves number were after the last elongation; The axillary shoots number, length of tallest shoot and green leaves number from juvenile nodal segment were more than those of seedlings and mature, which were significant ($P < 0.05$) after the last elongation; The identical sources of nodal segments from different clones in rooting rate and roots number per explant were not significantly different after rooting; Juvenile nodal segment in rooting rate and roots number per explant, which were significant ($P < 0.05$), were more than those of seedlings and mature rooting; The identical sources of nodal segments from different clones in antioxidant enzyme activities were not significantly different after the each stage; 3

* [收稿日期] 2010-11-04

[基金项目] 西北农林科技大学植物遗传育种专项(09YZ082); 陕西省科技攻关项目(2007K01-11-04)

[作者简介] 邵妍丽(1986—), 女, 河南清丰人, 在读硕士, 主要从事林业生物技术研究。E-mail: rabbit86345000@sina.com

[通信作者] 张存旭(1961—), 男, 陕西澄城人, 副教授, 主要从事森林遗传及生物技术研究。

sources of nodal segment in antioxidant enzyme activities were more than that of another elongation stages after the last elongation and rooting, which were all significant ($P < 0.05$). 【Conclusion】 These results indicated that juvenile from the mother trees is the best orientation of expansts for establishing an efficient organ regeneration system of cork oak (*Q. variabilis*); Certain relationship exists between antioxidant enzyme activity and the ability of proliferation and rooting.

Key words: *in vitro*; nodal segments; *Quercus variabilis*; biochemical characteristics

栓皮栎 (*Quercus variabilis*) 属壳斗科栎属植物, 是我国分布极为广泛的乔木树种之一, 树高可达 30 m, 胸径可达 1 m, 栓皮层极为发达。栓皮栎是我国暖温带海拔 1 600 m 以下地区地带性植被的主要组成树种, 也是生产木材、软木、栲胶、薪炭、食用菌等的主要原料, 在国际市场的地位仅次于栓皮櫟 (*Q. suber*), 其在发展地方经济、保护生态平衡等方面发挥着巨大作用^[1]。

以器官作为外植体进行离体培养, 是植物组织培养中最主要的一个方面, 涉及的植物种类最多, 应用范围也最广。器官培养不仅是研究器官生长、营养代谢、生理生化、组织分化和形态建成的最好方法, 而且在生产实践中具有重要的应用价值^[2]。栓皮栎通常采用种子繁殖, 但是这种方法获得的后代易出现遗传分化现象, 加之橡实象鼻虫的侵害使种子不能较长时间储藏, 以及扦插繁殖困难等, 因此进行栓皮栎器官的组织培养研究具有重要意义。目前国内外对栎属植物的器官组织培养研究已有大量报道, San-Jose 等^[3]研究发现, 欧洲栓皮栎的幼龄茎段与成龄茎段在增殖能力方面存在差异; McGowran 等^[4]对栎属植物的研究表明, 多酚含量的变化与茎段内部的生理活性存在一定的相关性; Vidal 等^[5]研究认为, 欧洲栓皮栎的茎段成熟程度对其生根能力有重要影响; 张存旭等^[6-7]研究表明, 以实生苗茎段为外植体, 培养基及激素对栓皮栎茎芽增殖及生长有重要影响; 杨锋利等^[8]研究表明, 培养基、IBA 及处理时间对栓皮栎成龄茎段的生根有重要影响。

但迄今为止, 对多个不同来源的栓皮栎茎段在离体培养过程中生长能力的差异, 以及抗氧化酶活性与其茎段生长能力关系的研究较少。为此, 本试验以栓皮栎实生苗茎段及成龄 (30 年以上) 栓皮栎的幼龄和成龄茎段为材料, 研究在离体培养过程中栓皮栎茎段增殖能力及生根能力的差异, 并探讨了抗氧化酶与茎段增殖和生根能力之间的关系, 以期建立高效的栓皮栎器官再生植株体系提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

2009-09 在陕西周至县西楼关栓皮栎天然林中, 选择 4 棵生长健壮、无病虫害的成龄优良结实单株 (30 年生), 采集其成熟种子, 于室内进行沙培育苗。待幼苗生长 3~4 个月后, 剪取 1.5~2.0 cm 带芽茎段, 作为起始外植体。

2010-04 在陕西周至县西楼关栓皮栎天然林中, 从之前采集成熟种子的 4 棵单株上分别选取冠部和基部刚萌发的幼嫩枝条, 作为成龄和幼龄材料, 剪取 1.5~2.0 cm 带芽茎段, 作为起始外植体。

1.2 方法

1.2.1 无菌材料的建立 接种前, 起始外植体先用流水冲洗 1 h, 然后用 NaOCl (有效氯含量为质量分数 10%) 消毒 10 min, 无菌水洗涤 3~4 次, 再用 1 g/L 升汞 (HgCl_2) 消毒 2 min, 无菌水洗涤 3~4 次, 无菌条件下, 将消毒好的外植体腋芽朝上接种于起始培养基 (WPM 基本培养基 + 0.2 mg/L 6-BA + 0.5 mg/L PVP) 上, 光照培养, 温度 22~24 °C, 30 d 后进行增殖培养。

1.2.2 增殖能力的检测 切取 0.5 cm 的新萌出腋芽转接到增殖培养基 (WPM 基本培养基 + 0.2 mg/L 6-BA + 0.5 mg/L PVP) 上, 培养 28 d 后, 随机选择 5 个无污染的外植体, 统计增殖茎芽数、增殖叶数、最长芽长, 并检测外植体超氧化物歧化酶 (SOD) 及过氧化氢酶 (CAT) 的活性; 以后每次增殖培养后均统计以上指标。

1.2.3 生根能力的检测 切取 2~3 cm 增殖培养后的无菌苗, 保留 2~3 片叶子, 接种到生根培养基 (1/2 大量元素 WPM 基本培养基 + 0.1 mg/L NAA + 0.25 mg/L IBA + 0.5 mg/L PVP) 上, 培养 30 d 后, 统计生根率, 并随机选择 5 个无污染的外植体统计其生根数。

1.2.4 SOD 活性的测定 称取外植体 0.1 g, 放入预冷的研钵中, 加入 1 mL 预冷的提取介质 (50 mmol/L 磷酸缓冲液, pH 7.8), 冰浴下研磨成匀

浆,再加入 0.5 mL 提取介质冲洗,合并洗液和提取液使终体积为 1.5 mL,于 4 ℃下 10 000 r/min 离心 20 min,取上清液(即 SOD 粗酶液)备用。用甲硫氨酸(Met)、氯化硝基四氮唑蓝(NBT)、核黄素等作为反应液,采用紫外吸光法^[9]测定 SOD 活性,以能抑制反应 50%的酶量为 1 个 SOD 酶活性单位(U),外植体 SOD 活性单位为“U/mg”。

1.2.5 CAT 活性的测定 称取 0.1 g 外植体,加入 0.4~0.6 mL 4 ℃下预冷的磷酸缓冲液(200 mmol/L,pH 7.8,含质量分数 1%PVP)作为提取介质,在研钵中与少量的石英砂研磨成匀浆后,转入 25 mL 容量瓶中,并用提取介质冲洗研钵,合并洗液和提取液,定容,4 ℃冰箱中静置 10 min,取提取液,4 000 r/min 离心 15 min,收集上清液即为 CAT 粗酶液,采用紫外吸光法^[9]测定 CAT 活性。以 1 min 内在 240 nm 处吸光度值减少 0.1 的酶量为 1 个酶活性单位(U),外植体 CAT 活性单位为“U/mg”。

1.3 数据统计分析

采用 SPSS 13.0 对试验数据进行分析处理,采

用 LSD 测验进行差异显著性比较。

2 结果与分析

2.1 3 种来源不同基因型栓皮栎茎段增殖能力的差异

在接种培养 10 d 后,栓皮栎茎段的腋芽开始萌动,呈嫩绿色,茎段基部膨大,逐渐形成愈伤组织;30 d 后,腋芽明显伸长,切取 0.5 cm 长腋芽进行增殖培养,结果见表 1。由表 1 可以看出,相同来源不同基因型的栓皮栎茎段增殖培养后,其增殖茎芽数量、最长芽长及增殖叶数量差异均不显著,这说明相同来源不同基因型的茎段增殖能力相似。

由表 1 还可以看出,经过 4 次增殖培养后,来源于母株成龄茎段的最长芽长小于实生苗茎段及母株幼龄茎段,差异达显著水平($P<0.05$),母株幼龄茎段的增殖茎芽数量、最长芽长及增殖叶数量均大于实生苗茎段和母株成龄茎段,并且差异均达显著水平($P<0.05$),以上结果表明,母株幼龄茎段的增殖能力较实生苗茎段和成龄茎段强。

表 1 3 种来源不同基因型栓皮栎茎段增殖能力的比较

Table 1 Comparison of the 3 explant sources of nodal segments from different clones on elongation

外植体来源 Explant orientation	基因型代码 Clone code	增殖茎芽/(个·株 ⁻¹) Axillary shoots number	最长芽长/mm Length of tallest shoot	增殖叶/(片·株 ⁻¹) Green leaves number
实生苗茎段 Seedling	1	2.50±1.08 a	13.58±1.49 a	3.20±1.14 a
	2	2.20±1.33 a	13.86±1.87 a	2.30±1.06 a
	3	2.40±1.03 a	13.10±2.18 a	2.70±1.34 a
	4	2.00±0.82 a	12.95±1.87 a	2.30±0.95 a
母株幼龄茎段 Juvenile	1	3.90±1.60 b	16.05±2.68 b	4.40±1.71 b
	2	4.10±1.52 b	15.83±2.00 b	4.30±1.89 b
	3	4.00±1.70 b	15.84±1.96 b	4.50±1.51 b
	4	3.90±1.45 b	15.98±1.98 b	4.30±1.89 b
母株成龄茎段 Mature	1	2.00±1.33 a	9.55±3.86 c	2.50±1.18 a
	2	1.70±1.00 a	9.46±3.06 c	2.60±1.65 a
	3	2.20±1.14 a	10.16±1.49 c	2.70±1.34 a
	4	2.10±1.20 a	10.45±2.03 c	2.70±1.77 a

注:同列数据后标不同小写字母者表示差异显著($P<0.05$)。下表同。

Notes:The same column marked with different letters after data are significantly differenct($P<0.05$). The same as bellow.

由图 1 可以看出,在增殖培养过程中,不同来源栓皮栎茎段的增殖芽数量、最长芽长及增殖叶数量的变化均呈先增加后减少的趋势,即在第 2 次增殖培养后,以上 3 个指标基本达到最大值,第 3、4 次增殖培养后,3 个指标逐渐下降。由此可见,栓皮栎茎段在增殖培养阶段增殖能力的变化是先升高后降低。

2.2 3 种来源不同基因型栓皮栎茎段生根能力的差异

增殖后的栓皮栎无菌苗在生根培养 14 d 后开

始萌发出根,其中来源于母株幼龄茎段的无菌苗根生长迅速且粗壮,有多个侧根;而实生苗茎段和母株成龄茎段的无菌苗根生长缓慢且侧根少,但根粗壮,茎段基部均形成较大的愈伤组织块。生根培养 30 d 后,比较不同来源不同基因型栓皮栎茎段的生根率及平均每株根数,结果见表 2。由表 2 可以看出,在生根培养后,相同来源的 4 个基因型栓皮栎茎段的生根率及平均每株根数差异不显著,表明相同来源不同基因型栓皮栎茎段的生根能力相似。

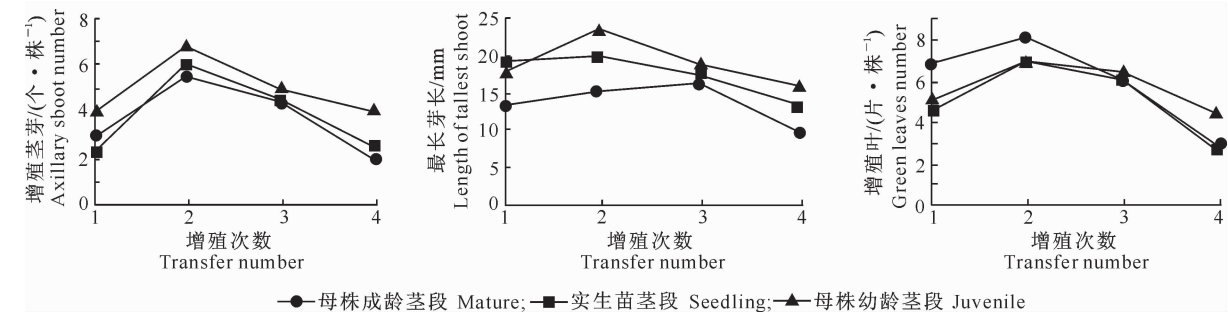


图 1 茎段来源对栓皮栎增殖能力的影响

Fig. 1 Effect of explant orientation of *Quercus variabilis* on the elongation

表 2 3 种来源不同基因型栓皮栎茎段生根能力的多重比较

Table 2 Comparison of the 3 explant sources of nodal segments from different clones on rooting

外植体来源 Explant orientation	基因型代码 Clone code	生根率/% Rooting	根数量/(条·株 ⁻¹) Number of roots per explant
实生苗茎段 Seedling	1	63±0.02 a	1.70±0.24 a
	2	54±0.03 a	1.90±0.18 a
	3	50±0.07 a	1.80±0.07 a
	4	47±0.05 a	1.70±0.15 a
母株幼龄茎段 Juvenile	1	83±0.01 b	2.40±0.07 b
	2	84±0.02 b	2.50±0.09 b
	3	86±0.01 b	2.30±0.25 b
	4	81±0.03 b	2.50±0.15 b
母株成龄茎段 Mature	1	25±0.05 c	1.70±0.03 a
	2	17±0.09 c	1.60±0.08 a
	3	23±0.03 c	1.70±0.14 a
	4	19±0.04 c	1.80±0.13 a

从表 2 还可以看出,母株幼龄茎段的生根率高于实生苗茎段及成龄茎段,且差异达显著水平($P<0.05$),实生苗茎段的生根率显著高于母株成龄茎段;母株幼龄茎段的根数量显著大于实生苗茎段和母株成龄茎段($P<0.05$)。上述结果表明,母株幼龄茎段的生根能力在 3 种来源茎段中是最强的。

2.3 3 种来源不同基因型栓皮栎茎段各抗氧化酶活性的差异

从表 3 可以看出,相同来源的 4 个基因型栓皮栎茎段在增殖培养各阶段及生根培养后,SOD 和 CAT 的活性差异均不显著;不同来源的栓皮栎茎段

在第 2 次增殖培养后,SOD 和 CAT 的活性均高于其他增殖培养阶段,且差异达显著水平($P<0.05$);在生根培养后,2 种抗氧化酶活性均显著高于增殖培养各阶段($P<0.05$)。以上结果表明,在第 2 次增殖培养阶段及生根培养阶段,活性氧自由基明显增高。

由表 3 还可以看出,3 个来源的栓皮栎茎段在整个培养阶段,其 SOD 和 CAT 活性变化趋势是一致的,这印证了 SOD 和 CAT 在消除氧胁迫作用时的协同关系。

表 3 3 种来源不同基因型栓皮栎茎段抗氧化酶活性的比较

Table 3 Multiple comparison of the 3 explant sources of nodal segments from different clones on SOD and CAT specific activities after the cultural stages

外植体来源 Explant orientation	基因型代码 Clone code	培养阶段 Culture stage	增殖次数 Transfer number	SOD	CAT
实生苗茎段 Seedling	1	增殖培养 Elongation	1	33.00±1.56 a	25.26±2.28 a
			2	44.24±2.34 b	34.91±3.13 b
			3	33.39±3.02 a	25.45±2.79 a
			4	34.05±2.25 a	24.80±2.45 a
	2	生根培养 Rooting		72.39±4.56 c	53.36±3.08 c

续表 3 Continued table 3					
外植体来源 Explant orientation	基因型代码 Clone code	培养阶段 Culture stage	增殖次数 Transfer number	SOD	CAT
实生苗茎段 Seedling	3	生根培养 Rooting	3	33.96±2.95 a	24.35±2.85 a
			4	34.09±2.19 a	25.09±1.92 a
				73.92±2.31 c	51.28±2.30 c
		增殖培养 Elongation	1	34.36±1.75 a	24.65±1.70 a
			2	45.12±1.63 b	34.80±1.90 b
			3	34.28±1.86 a	24.55±1.58 a
			4	33.96±2.34 a	24.00±1.88 a
	4	生根培养 Rooting		74.64±2.78 c	52.94±1.79 c
		增殖培养 Elongation	1	34.63±1.62 a	24.60±2.21 a
			2	44.86±1.66 b	35.33±2.09 b
			3	34.96±2.77 a	24.94±1.36 a
			4	35.01±2.08 a	24.89±1.47 a
母株幼龄茎段 Juvenile	1	生根培养 Rooting		73.59±2.68 c	53.18±2.55 c
		增殖培养 Elongation	1	34.55±2.02 a	24.84±1.71 a
			2	46.20±2.26 b	35.63±2.32 b
			3	34.63±2.57 a	24.62±1.84 a
			4	34.65±1.31 a	24.76±1.55 a
	2	生根培养 Rooting		74.31±2.34 c	52.29±2.20 c
		增殖培养 Elongation	1	35.14±1.74 a	24.93±1.67 a
			2	45.46±1.49 b	34.85±2.78 b
			3	33.90±2.15 a	24.76±1.73 a
			4	34.40±1.96 a	24.54±2.31 a
	3	生根培养 Rooting		73.65±2.40 c	53.26±2.64 c
		增殖培养 Elongation	1	34.36±1.65 a	29.92±2.47 a
			2	44.93±2.77 b	34.96±2.56 b
			3	34.37±2.85 a	25.18±2.85 a
			4	34.94±1.72 a	25.01±2.09 a
母株成龄茎段 Mature	1	生根培养 Rooting		73.82±2.93 c	53.38±3.03 c
		增殖培养 Elongation	1	35.18±2.07 a	24.76±1.99 a
			2	45.01±1.63 b	34.75±1.55 b
			3	35.05±2.66 a	25.11±2.06 a
			4	34.90±2.18 a	25.10±2.40 a
	2	生根培养 Rooting		74.79±3.02 c	53.38±1.80 c
		增殖培养 Elongation	1	34.46±2.05 a	24.42±1.71 a
			2	44.41±2.37 b	34.53±2.23 b
			3	34.66±1.33 a	24.59±1.28 a
			4	34.54±1.42 a	24.77±1.83 a
	3	生根培养 Rooting		74.58±1.90 c	52.34±2.63 c
		增殖培养 Elongation	1	34.51±1.73 a	24.89±1.72 a
			2	44.60±2.21 b	34.50±1.66 b
			3	34.72±1.58 a	24.74±1.49 a
			4	33.82±2.54 a	24.35±1.78 a
母株成龄茎段 Mature	3	生根培养 Rooting		74.19±1.26 c	53.31±2.32 c
		增殖培养 Elongation	1	33.60±1.99 a	25.09±2.81 a
			2	45.87±2.23 b	33.55±2.68 b
			3	35.05±2.68 a	24.94±1.85 a
			4	35.08±1.60 a	24.05±1.83 a
	4	生根培养 Rooting		74.90±2.24 c	53.89±1.84 c
		增殖培养 Elongation	1	34.77±1.90 a	25.05±2.71 a
			2	44.86±1.32 b	34.64±2.44 b
			3	34.58±1.74 a	25.07±1.85 a
			4	34.40±2.34 a	24.86±1.89 a
		生根培养 Rooting		74.35±2.14 c	52.97±2.40 c

3 讨 论

3.1 不同来源茎段的增殖能力及生根能力

组织培养中常用腋芽或不定芽增殖的方式来扩大繁殖,这有利于保持植物的遗传稳定性,而且在培养多代后仍然保持着旺盛的增殖能力^[10]。本试验通过对不同来源、不同基因型栓皮栎茎段增殖能力的比较发现,不同基因型之间增殖能力无显著差异,这说明茎段的采集恰好选择了具有相同遗传特性的成龄植株,同时由于仅是通过表型指标对不同基因型的增殖能力进行比较,因此以上结果还需要在分子水平上作进一步研究证明。在增殖培养阶段,栓皮栎茎段的生长有一个峰值,这是外植体在早期增殖阶段离体培养效果明显的标志,峰值过后茎段的增殖能力必然会下降,因此外植体要选择增殖能力进一步衰退前进行转接^[11],同时说明增殖能力的比较选择在增殖培养的末期,可避免外植体在早期增殖阶段较为明显的离体培养效果对最终结果的影响。栓皮栎母株幼龄茎段较强的增殖能力与其生长状况有很大关系,其原因一是母株幼龄茎段来源于 30 年生的成龄栓皮栎,成龄栓皮栎茎干经过多年的生长,物质能量积累丰富,能为枝条提供充足的营养,二是幼龄茎段采集于基部新萌出枝条,其生长能力处在最旺盛时期^[12]。

由于栓皮栎的生根十分困难,并且组织培养植株的成功生根对于离体培养有重要作用,因此选择生根能力强的组织培养植株很关键。本试验结果表明,母株幼龄茎段具有比实生苗茎段和母株成龄茎段更强的生根能力。Fernandez-Lorenzo 等^[13]在栎属植物(*Castanea sativa* Mill)的研究中也发现,幼龄茎段比成龄茎段有更强的生根能力。

综上所述,可以初步确定母株幼龄茎段是建立高效栓皮栎器官再生植株体系的一种较为理想的外植体材料。

3.2 不同来源茎段的抗氧化酶活性

SOD 和 CAT 是抗氧化酶系的重要酶类,其主要作用是清除植物体内过多的活性氧自由基,减少活性氧自由基对植物体的伤害;2 种酶活性的变化可以反映出活性氧自由基在植物体内积累的程度。在本试验中,SOD 和 CAT 的活性在第 2 次增殖培养后达到第 1 个峰值,这是由于在第 2 次增殖培养过程中,增殖能力达到最高水平,茎芽及茎叶大量生长,外植体内产生了大量活性氧自由基,致使 2 种抗氧化酶的活性迅速升高;而在其他增殖培养阶段,增

殖能力处于较低水平,产生的茎芽数及叶子数较第 2 次增殖培养阶段明显偏少,故抗氧化酶的活性水平也较低,这与前人的研究结果^[14]相同。在之后的增殖过程中,2 种抗氧化酶的活性没有随着增殖次数的增加表现出逐渐下降的趋势,这是由于增殖次数的增加和增殖周期的延长会导致活性氧自由基的产生,但同时也会引起抗氧化酶类的适应性增强^[15-17],抗氧化酶的活性基本会维持在一个稳定的水平,说明在第 1 个峰值水平后,抗氧化酶活性在特定期内的稳定并不能准确揭示出抗氧化酶活性与增殖能力的关系。在生根培养后,抗氧化酶活性达到第 2 个峰值水平,这主要是由于培养基中添加了 0.1 mg/L NAA 及 0.25 mg/L IBA,使外植体的生根能力增强^[6],因此抗氧化酶的活性显著提高。

从以上结果可以看出,3 个来源栓皮栎茎段在整个培养过程中其 SOD 和 CAT 的活性变化一致,说明单纯地将 SOD 和 CAT 的活性变化作为评定不同来源茎段增殖能力和生根能力的指标是不可取的,从而也就不能简单地从抗氧化酶活性方面来确定建立高效的栓皮栎器官再生植株体系的最佳外植体材料,因为抗氧化酶活性的变化主要是由逆境胁迫引起的,其次才是在适应逆境过程中内部不断进行代谢调整(如茎芽的增殖)引起的活性变化。前人的研究证明,茎段的组织培养相对于种子实生苗的自然生长来说就是一种“逆境”,不论是培养基、激素水平,还是特殊的实验室条件,都与自然生长条件明显不同^[13],因此要比较不同来源栓皮栎茎段增殖能力和生根能力的差异,还需结合抗氧化酶的同工酶谱分析来进行进一步的研究。

[参考文献]

- [1] 周建云,何景峰,张文辉. 栓皮栎研究进展及未来展望 [J]. 西北林学院学报,2010,25(3):43-49.
Zhou J Y, He J F, Zhang W H. Review and perspective on *Quercus variabilis* research [J]. Journal of Northwest Forestry University,2010,25(3):43-49. (in Chinese)
- [2] 张明丽,李 青. 木本观赏植物组织培养及植株再生的研究进展 [J]. 河北林业科技,2004,2(4):23-26.
Zhang M L, Li Q. Review on wood ornamental plant tissue culture and regeneration research [J]. Journal of Hebei Forestry Science and Technology,2004,2(4):23-26. (in Chinese)
- [3] San-Jose M C, Ballester A, Vieitez M. Factors affecting *in vitro* propagation of *Quercus robur* L. [J]. Tree Physiology,1988,4:281-291.
- [4] McGowan E, Douglas G C, Parkinson M. Morphological and physiological markers of juvenility and maturity in shoot cul-

- tures of oak (*Quercus robur* and *Q. petraea*) [J]. Tree Physiology, 1998, 18: 251-257.
- [5] Vidal N, Arellano G, San-Jose M C, et al. Developmental stages during the rooting of in-vitro-cultured *Quercus robur* shoots from material of juvenile and mature origin [J]. Tree Physiology, 2003, 23: 1274-1254.
- [6] 张存旭, 宋 敏, 赵 忠. 栓皮栎茎段离体培养研究 [J]. 西北植物学报, 2004, 24(7): 1260-1265.
- Zhang C X, Song M, Zhao Z. *In vitro* cultivation of nodal segments of the cork tree (*Quercus variabilis*) [J]. Acta Bot Boreal-Occident Sin, 2004, 24 (7): 1260-1265. (in Chinese)
- [7] 张存旭, 赵 忠, 贾晓明, 等. 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.
- Zhang C X, Zhao Z, Jia X M, et al. Plant growth regulators on shoot proliferation and growth of *Quercus variabilis* [J]. Journal of Northwest Forestry University, 2004, 19(2): 64-66. (in Chinese)
- [8] 杨锋利, 杜保国, 张存旭. 成龄栓皮栎组培苗生根影响因素研究 [J]. 绵阳师范学院学报, 2006, 25(5): 79-83.
- Yang F L, Du B G, Zhang C X. Factors affecting *in vitro* propagation of *Quercus variabilis* on rooting [J]. Journal of Mianyang Normal University, 2006, 25(5): 79-83. (in Chinese)
- [9] 郝再彬. 植物生理实验 [M]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学出版社, 2004: 110-115.
- Hao Z B. Experimental plant physiology [M]. Harbin: Harbin Institute of Technology Press, 2004: 110-115. (in Chinese)
- [10] 蒋向辉, 余朝文, 郝博飞. 杉木幼茎离体培养与快繁体系的建立 [J]. 浙江林业科技, 2008, 28(3): 52-55.
- Jiang X H, She C W, Hao B F. Culture *in vitro* and rapid propagation system with young stem of *Cunninghamia lanceolata* [J]. Journal of Zhejiang Forestry Science & Technology, 2008, 28(3): 52-55. (in Chinese)
- [11] Vieitez A M, Pintos F, San-Jose M C. *In vitro* shoot proliferation determined by explant orientation of juvenile and mature *Quercus robur* L. [J]. Tree Physiology, 1993, 12: 107-117.
- [12] 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.
- [13] Fernandez-Lorenzo J L, Rigueiro A, Ballester A. Polyphenols as potential markers to differentiate juvenile and mature chestnut shoot cultures [J]. Tree Physiology, 1999, 19: 461-466.
- [14] Rrcchi M L, Bagnoli F, Balla I. Differential activity of catalase and superoxide dismutase in seedlings and *in vitro* micropropagated oak [J]. Plant Cell Reports, 2001, 20: 169-174.
- [15] 于世河, 陆爱君, 王骞春, 等. 林木抗性育种中 SOD 的研究进展 [J]. 河北农业科学, 2009, 13(11): 17-18, 22.
- Yu S H, Lu A J, Wang Q C, et al. Research progress of SOD in forest tree resistance breeding [J]. Journal of Hebei Agricultural Sciences, 2009, 13(11): 17-18, 22. (in Chinese)
- [16] 陈 超, 侯喜林, 王桂兰. 红掌再生团块和不同愈伤组织衰老指标的比较研究 [J]. 西北植物学报, 2010, 30(8): 1639-1645.
- Chen C, Hou X L, Wang G L. Comparative studies on senescent index in different regeneration mass block and calli of *Anthurium andraeanum* [J]. Acta Bot Boreal Occident Sin, 2010, 30(8): 1639-1645. (in Chinese)
- [17] 郭维明, 赵云鹏, 文方德. 花烛愈伤组织不同继代培养的再分化差异 [J]. 园艺学报, 2004, 31(1): 69-72.
- Guo W M, Zhao Y P, Wen F D. Relative physiological and biochemical features of redifferentiation difference in three types of calli subculture in *Anthurium andraeanum* [J]. Acta Horticulturae Sinica, 2004, 31(1): 69-72. (in Chinese)