

银柳胡颓子茎尖组织培养的研究

王 蕾¹, 李东升², 顾德峰¹

(1. 吉林农业大学 园艺学院, 吉林 长春 130118; 2. 德惠市农业开发总公司, 吉林 德惠 130300)

摘 要:以银柳胡颓子(*Elaeagnus angustifolia* L.)茎尖为外植体, MS 为基本培养基, 添加不同比例的植物生长调节剂, 进行了离体培养。结果表明, 茎尖初代培养基最佳组合为: 1/2 MS+BA 3.0 mg/L+IAA 0.01 mg/L+蔗糖 20 g/L+琼脂 10 g/L; 芽继代增殖的最适培养基为: MS+KT 1.0 mg/L+蔗糖 20 g/L+琼脂 7.5 g/L; 无根苗转移到 1/2 MS+NAA 0.1 mg/L+蔗糖 20 g/L+琼脂 7.5 g/L 的培养基上, 生根率达 100%。

关键词:银柳胡颓子; 茎尖; 组织培养; 离体快繁

中图分类号:S 793.904 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2008)03-0199-03

银柳胡颓子(*Elaeagnus angustifolia* L.)属胡颓子科胡颓子属落叶灌木或小乔木, 宜作盐碱和沙荒地区的绿化用^[1]。但易受季节、气候、地点等因素的限制, 繁殖效率低, 难以满足生产和市场的需求。关于银柳胡颓子的茎尖组织快繁工作尚未见详细的报道。据资料记载, 以茎尖作为外植体更有利于离体扩繁^[2], 因此, 通过组织培养进行无性繁殖, 可为银柳胡颓子的繁殖方法开辟一种新的途径。

1 材料与方法

1.1 试验材料

夏季, 采自吉林农业大学校园内多年生银柳胡颓子树, 取当年抽出的嫩枝为试验材料。

1.2 方法

1.2.1 初代培养 将材料冲洗干净后浸入 70% 的酒精 30 s, 无菌水冲洗 3 次, 再用 1:1 稀释好的“84”消毒液灭菌, 其中加入少量吐温 80, 灭菌时间见表 2。最后用无菌水中冲洗 5~6 次, 浸泡 30 min^[3]。剪切成 0.5~1.0 cm 的小块, 接入初代培养基中培养(见表 1)。培养温度(27±1)℃, 光照 16 h/d, 光强 1 000~3 000 lx^[4]。20 d 后观察记录愈伤组织的诱导情况。

1.2.2 继代培养 初代培养 30~40 d 后, 愈伤组织上的丛生芽长至 0.5~1.0 cm 时, 可将其切成 0.5 cm×0.5 cm 的小块, 转入继代培养基 WL₁、WL₂、WL₃、WL₄ 和 WL₅ 中(见表 1), 培养 30 d 后, 芽体长高变成单株, 然后转入 WL₆、WL₇ 和 WL₈ 中进行二次继代培养, 再经 20 d 培养后, 观察植株的生长状况。

第一作者简介: 王蕾(1984), 女, 硕士, 主要从事园林植物组织培养研究。

通讯作者: 顾德峰。E-mail: g.u.df@163.com.

收稿日期: 2008-01-22

1.2.3 移栽 当试管苗高达 5 cm 以上, 生长健壮, 便可移栽。移栽前, 在温室内去掉培养瓶上的塑料套练苗 3~7 d(见图 1, 图 2)。

表 1 培养基的种类及成分

培养基编号	初代培养		继代培养	
	成分		培养基编号	成分
X ₁	1/2 MS+BA 3.0+ NAA 0.01		WL ₁	1/2 MS+BA 0.5
X ₂	1/3 MS+BA 1.0+IBA 0.2		WL ₂	1/2 MS+BA 1.0
A ₁₁	MS+BA 2.0+NAA 0.02+ZT 0.1		WL ₃	1/2 MS+BA 3.0
Z ₁	MS+BA 5.0+IBA 0.01+GA 0.5		WL ₄	MS+KT 1.0
ZB ₁	MS+BA 5.0+NAA 0.01		WL ₅	MS+KT 2.0
ZB ₂	MS+BA 8.0+NAA 0.01		WL ₆	MS+NAA 0.1
			WL ₇	1/2 MS+IAA 0.01
			WL ₈	MS+6-BA 2.0+NAA 0.1+ZT 0.1+GA 0.2

2 结果与分析

2.1 灭菌时间的长短对外植体成活率的影响

银柳胡颓子的茎尖非常幼嫩, 对灭菌剂的反映十分敏感。能否进行有效的灭菌处理, 是其组织培养迈向成功的关键一步。为了提高其成活率, 分别进行了 5 种时间的灭菌试验(见表 2)。从表 2 中可以看出灭菌时间越长, 成活率越低。当灭菌 3.5 min 时, 外植体的成活率最高, 达 90.9%。而其它处理成活率较低, 可见灭菌时间不宜过长。

表 2 灭菌时间对银柳胡颓子茎尖成活率的影响

灭菌时间 min	外植体数/个	变褐数/个	成活率/%
20	8	6	25.0
10	18	4	78.0
5	27	7	74.0
4	23	18	65.0
3.5	11	1	90.9

2.2 培养基对愈伤组织及不定芽诱导的影响

初代培养约 15 d, 外植体开始萌动; 20 d 后茎尖颜色变绿, 基部逐渐膨大, 茎尖开始肿胀, 有愈伤组织形成; 40 d 后形成丛芽。试验观察表明, 银柳胡颓子茎尖初代培养 20 d 后, 在不同的培养基上愈伤组织及不定芽的诱导状况不同 (见表 3, 表 4)。从表 3 中可以看出 X₁ 培养基中愈伤组织诱导率最高 (100%), 长势也最旺盛, 并最先萌发出幼芽。而其它几种培养基内, 愈伤组织的生长状况均不如 X₁。

表 3 银柳胡颓子培养 20 d 后愈伤组织诱导情况

培养基	接种数量/瓶	愈伤组织诱导情况	愈伤组织诱导率/%
X ₁	33	愈伤组织已显现, 长势茂盛, 外植体生长良好, 为绿色, 基部膨大。	100
X ₂	24	愈伤组织较少, 泛黄, 植株顶端变黄, 有萎蔫的现象, 基部膨大。	75
A ₁₁	27	和 X ₂ 相似, 长出的愈伤组织泛黄, 面积较小。	80
Z ₁	26	愈伤组织显现, 面积小, 植株基部开始膨大, 并且有裂缝的迹象。	42

表 4 茎尖培养 40 d 和 60 d 后不定芽诱导情况

培养基	培养 40 d 后芽的诱导情况			培养 60 d 后芽的诱导情况		
	外植体数/个	发芽数/个	诱芽率/%	外植体数/个	发芽数/个	诱芽率/%
X ₁	33	30	91	32	30	93
X ₂	10	6	60	10	6	60
A ₁₁	14	6	40	14	6	40
Z ₁	26	20	77	25	20	80
ZB ₁	7	5	57	5	2	40
ZB ₂	7	3	43	7	3	43

由表 4 可知, 培养 40 d 和 60 d 后, X₁ 培养基中诱芽率均超过 90%, 远远高于其它处理, 并且幼芽的生长状况正常。而其它几种培养基的幼芽诱导率较低, 幼芽的状态也不及 X₁, 出现畸形苗, 苗丛密集, 过度微型化。由此认定, X₁ 培养基最适宜于银柳胡颓子的茎尖初代培养。

继代培养中植株生长状况见表 5, 可以看出, WL₄ 和 WL₆ 培养基中植物生长正常, 成苗率高, 生根率为 100% (见图 3、图 4)。这 2 种培养基较适宜于幼芽的增殖和生根培养。而在其它几种培养基中, 幼苗均有不同程度的畸形现象。

2.3 继代培养中植株生长状况

表 5 银柳胡颓子在继代培养基上的生长状况

培养基编号	生长状况
WL ₁	苗高 5~7 cm, 但茎较细, 有的叶片泛白
WL ₂	苗高 5 cm 左右, 茎尖有萎蔫现象
WL ₃	植株低矮, 只有 2~3 cm, 基部膨大, 成苗率低
WL ₄	苗高 6 cm 左右, 生长直立, 茎叶保持绿色, 成苗率达 80%
WL ₅	苗高 6~8 cm, 生长情况和 WL ₄ 相似, 但茎较细, 移栽成活率会低
WL ₆	形成完整植株, 苗在 6 cm 左右, 较粗壮直立, 基部长有小叶, 愈伤组织变黑, 根系生长旺盛, 每根苗均长有 8~12 条粗壮根
WL ₇	形成完整植株, 苗高在 10 cm 左右, 有的较细弯曲, 部分片显白色, 但植株保持绿色, 个别苗长有 2~3 条细细的白根
WL ₈	不形成完整植株, 愈伤组织大面积繁殖, 先长出的已变黄, 不长根长苗

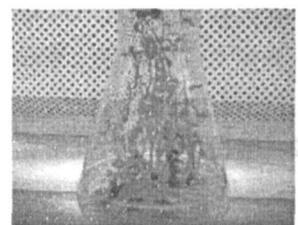
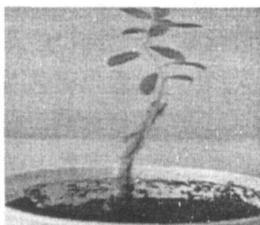


图 1 银柳胡颓子的移栽苗

图 2 银柳胡颓子组培苗的练苗

图 3 培养基 WL₆ 中根的生长情况

图 4 培养基 WL₄ 中生长的组培苗

参考文献

[1] 陈有民. 园林树木学[M]. 北京: 中国林业出版社, 1988: 593-594.
 [2] Sanatombi K, Sharma G J. In vitro regeneration and mass multiplication of *Capsicum annuum* L. [J]. Journal of Food Agriculture & Environ-

ment 2006, 4 (1): 205-208.
 [3] 陈芳, 陈子牛, 陆斌, 等. 印楝茎尖组织培养的研究[J]. 云南林业科技, 2003(1): 8.
 [4] 刘文萍, 孙英兰. 沙棘的组织培养[J]. 北方园艺, 1999, 126(3): 69.

黄瓜霜霉病抗性与生理生化性状相关关系的遗传研究

刘玉石, 仇敏

(连云港职业技术学院, 江苏 连云港 222006)

摘要: 通过对抗病性及生理生化性状的遗传分析表明: 抗性及生理生化性状的一般配合力和特殊配合力均重要, 但是一般配合力数值远大于特殊配合力数值。例如病情指数的一般配合力与特殊配合力的比值为 99, 说明一般配合力比特殊配合力更重要。抗性及其相关性状的狭义遗传力和广义遗传力均较高, 这与配合力的遗传分析结果具有一致的趋势。除此之外, 在抗病性杂种优势的分析中, 不同抗性亲本配制的 F_1 代, 杂种优势均不强。

关键词: 黄瓜; 霜霉病; 抗性; 叶绿素; 可溶性糖; 遗传特性

中图分类号: S 436.421.1⁺1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2008)03-0201-03

1 材料

抗病亲本: M_3 、 M_6 是经过多代选择抗性稳定的自交系。感病亲本: M_9 、 M_{10} 是遗传性稳定的感病自交系。以上所有试材均由沈阳农业大学园艺学院遗传育种教研组提供。试验采用 Griffing 半轮配的杂交试验设计, 以人工授粉的方法进行杂交获得 F_1 代。

2001 年 5 月将亲本试材播于直径 3~5 cm 的穴盘中, 每份试材播 60 株, 子叶平展时分苗于直径 20 cm 的营养钵内, 采用常规的栽培管理措施, 于三叶一心期进行喷雾接种, 以喷清水者为对照, 随机同时抽取同一部位的功能叶片, 进行生理生化指标的测定。

2001 年 9 月将亲本及 F_1 同时播于同等大小的穴盘

中, 每份试材播 60 株, 子叶平展时分苗于直径 20 cm 营养钵内, 采用常规的栽培管理措施, 于三叶一心期进行喷雾接种, 以喷清水者为对照, 采用同样的取样方法进行生理生化指标的测定。

2 方法

供接种用的病菌, 来自沈阳农业大学蔬菜基地及苏家屯大棚内种植的黄瓜植株的病叶, 经保湿后重新长出新鲜孢子囊, 加灭菌水配制成孢子囊悬浮液。接种量按低倍镜(120倍)下每个视野平均 15~20 个孢子囊计算。接种前用载玻片萌芽法测定孢子囊的活力, 孢子囊萌芽率达到 70% 以上者方可接种。在黄瓜幼苗三叶期傍晚 7 时左右进行喷雾接种, 接种瓜苗在 100% RH、约 20℃ 下保湿 16 h 左右, 然后放在白天 22~25℃、夜间 18~20℃ 环境下生长, 以喷清水为对照, 发病后逐株进行调查, 记录病情指数。将病情指数分级如下: 0 级: 叶片无病斑; 1 级: 叶片有轻微病斑, 病斑面积不超过叶面积的 1/10;

第一作者简介: 刘玉石(1973-), 女, 辽宁铁岭人, 本科, 讲师, 从事园艺专业教学工作。

收稿日期: 2007-09-13

Study on *Elaeagnus angustifolia* Shoot-tip Tissue Culture

WANG Lei¹, LI Dong-sheng², GU De-feng¹

(1. College of Horticulture, Jilin Agricultural University, Changchun, Jilin 130118, China; 2. Dehui Agricultural Development of a Corporation, Dehui, Jilin 130300, China)

Abstract: The experiment took *Elaeagnus angustifolia*'s shoot-tip as explants, which was based on the MS nutrient media, added different concentration plant growth regulator, took carried on the rapid reproduction in vitro. The experimental results indicated that the best nutrient media in the first generation culture was 1/2 MS+BA 3.0 mg/L+IAA 0.01 mg/L+sucrose 20 g/L+agar 10 g/L. The bud subculture of multiplication the most suitable nutrient medium was: MS+KT 1.0 mg/L+sucrose 20 g/L+agar-agar 7.5 g/L. When rate of take root was 100%, the nutrient medium was: 1/2 MS+NAA 0.1 mg/L+sucrose 20 g/L+agar 7.5 g/L.

Key words: *Elaeagnus angustifolia*; Shoot-tip; Tissue culture; Rapid reproduction in vitro