

DOI:10.11937/bfyy.201612023

濒危植物羽叶丁香组织培养

程 明¹, 李厚华², 和子森¹, 姜在民³, 蔡 靖¹

(1. 西北农林科技大学 林学院, 陕西 杨凌 712100; 2. 西北农林科技大学 风景园林艺术学院, 陕西 杨凌 712100;
3. 西北农林科技大学 生命科学学院, 陕西 杨凌 712100)

摘要:以濒危植物羽叶丁香的芽和种子为外植体,采用植物组织培养法,研究了不同消毒方法对无菌体系建立、不同浓度的蔗糖和激素组合对种子初代培养、不同基本培养基和激素组合对增殖和生根的影响,以期为羽叶丁香的组培快繁、种质资源保护和开发利用提供依据。结果表明:新枝为较适宜的外植体,适宜的消毒方式为75%酒精消毒30 s,0.1%升汞消毒7 min,最适增殖培养基为MS+5.0 mg·L⁻¹ 6-BA+0.01 mg·L⁻¹ IBA;最适种子初代培养基为MS+20 g·L⁻¹ 蔗糖汁+3.0 mg·L⁻¹ 6-BA+0.10 mg·L⁻¹ IBA,最适增殖培养基为MS+7.0 mg·L⁻¹ 6-BA+0.05 mg·L⁻¹ IBA;最适生根培养基为WPM+2.0 mg·L⁻¹ IBA。

关键词:羽叶丁香;组织培养;芽;种子

中图分类号:S 685.26 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)12-0092-05

羽叶丁香(*Syringa pinnatifolia* Hemsl.)属木犀科丁香属直立灌木,羽状复叶;花为圆锥花序,花冠多淡红色,略带淡紫色;蒴果长圆形,花期5—6月,果期8—9月;产于内蒙古和宁夏交界的贺兰山地区以及陕西南部、甘肃、青海东部和四川西部;生山坡灌丛,海拔2 000~3 100 m;根或枝干入药,具降气、温中、暖胃等功效^[1]。羽叶丁香是中医、蒙医的名贵药材,同时又可作为优良的观赏花灌木。在丁香属中,已经有人对欧丁香^[2]、紫丁香^[3]、裂叶朝鲜丁香^[4]等多种丁香的组织培养方法进行了研究。目前有关羽叶丁香的组织培养方法研究在国内外尚鲜见相关报道。羽叶丁香作为我国特有物种,属国家三级保护植物,野生种群数量和栖息地的范围在不断减小。现以羽叶丁香的芽和种子为外植体,对其组织培养体系进行研究,以期为羽叶丁香的种质资源保护和人工快繁提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验所用羽叶丁香种子和芽采自于内蒙古阿拉善盟左旗8年生植株。

第一作者简介:程明(1989-),男,湖北黄梅人,硕士,研究方向为园林植物遗传多样性和繁育。E-mail:962073977@qq.com

责任作者:蔡靖(1968-),女,陕西子州人,博士,教授,现主要从事森林植物及观赏植物和植物生理生态与森林生态等研究工作。E-mail:cjcaijing@163.com。

基金项目:林业公益性行业科研专项资助项目(201204308)。

收稿日期:2016—02—14

1.2 试验方法

1.2.1 外植体消毒 将采集的芽分为2个部分:一部分芽在未萌发时先用流水冲洗1 h,再用75%酒精消毒30 s,无菌水冲洗1次,最后用0.1%升汞消毒3、5、7、9 min,无菌水冲洗3次以上;另一部分芽放入温室内水培,待其萌发后取其新枝先用流水冲洗1 h,再用酒精消毒30 s,最后用0.1%升汞消毒3、5、7、9 min,无菌水冲洗3次以上。种子先用流水冲洗1 h,再用75%的酒精消毒30 s,无菌水冲洗1次,最后用0.1%升汞消毒5、10、15、20 min,无菌水冲洗3次以上。

1.2.2 外植体接种与无菌体系建立 消毒后,将长1 cm带芽的茎段和新枝接种于培养基MS+1.0 mg·L⁻¹ 6-BA+0.1 mg·L⁻¹ IBA+30 g·L⁻¹ 蔗糖+7 g·L⁻¹ 琼脂上,接种至少60个外植体。将消毒后的种子一部分切除子叶端1 mm露出白色的胚,一部分保持完整,分别接种于培养基MS+20 g·L⁻¹ 蔗糖+7 g·L⁻¹ 琼脂上。14 d后统计污染率、萌发率。

1.2.3 种子初代培养 以MS培养基为基本培养基,选取蔗糖、6-BA、IBA 3个因素,蔗糖设20、30、40 g·L⁻¹ 3个水平,6-BA设1.0、3.0、6.0 mg·L⁻¹ 3个水平,IBA设0.01、0.10、0.20 mg·L⁻¹ 3个水平,试验选用L₉(3⁴)表进行正交设计,共9个组合,以种子的萌发率为指标,分析3种生长物质对切开种子培养的影响。

1.2.4 增殖培养 待芽和种子上胚轴长至2~3 cm时,转至增殖培养基中,以MS为基本培养基,6-BA设3.0、5.0、7.0、9.0 mg·L⁻¹ 4个水平,IBA设0.01、0.05、0.10 mg·L⁻¹ 3个水平,试验采用完全随机设计,每个组

合 15 瓶,每瓶 3 个无菌苗,45 d 后统计增殖结果。

1.2.5 生根培养 以生长健壮的 2 cm 增殖苗为材料,试验采用 2 因素 3 水平完全随机设计,基本培养基选取 1/2MS、MS、WPM 3 种培养基,IBA 设 0.5、1.0、2.0 mg · L⁻¹ 3 个水平,研究基本培养基与激素水平对生根的影响,30 d 后统计生根结果,每个组合至少 15 瓶,每瓶 3 个增殖苗。

1.2.6 培养条件 培养温度(25±2)℃,光照强度 2 000 lx,光照时间 12 h · d⁻¹,培养基均附加琼脂 7 g · L⁻¹,pH 5.8。

2 结果与分析

2.1 不同消毒方法对无菌体系建立的影响

未切开的种子全部未萌发,由表 1、2、3 可知,高污染率和高褐化率是羽叶丁香无菌体系建立的重要限制因子,随着消毒的时间加长,污染率随之降低,但褐化死亡率随之升高。芽污染率都在 95% 以上,新枝和切开的种子污染率都较低(28.13% 以下),存活率和萌发率都较高(71.87% 以上)。综合考虑,适合建立无菌体系的外植体为芽萌发后抽出的新枝,消毒方式为 75% 酒精消毒 30 s,0.1% 升汞消毒 7 min(图 1A-D)。

表 1 不同消毒方法对芽无菌体系建立的影响

Table 1 Effect of different disinfection methods on the establishment of system of bud

| 试验号 Number | 升汞消毒时间 Disinfection time/min | 接种数 Inoculation number/个 | 污染率 Contamination rate/% | 褐化死亡率 Browning mortality rate/% | 萌发率 Germination rate/% |
|---------------|---------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------------------|---------------------------|
| 1 | 3 | 60 | 100 | 0 | 0 |
| 2 | 5 | 60 | 100 | 0 | 0 |
| 3 | 7 | 60 | 95 | 0 | 5 |
| 4 | 9 | 60 | 95 | 5 | 0 |

表 2 不同消毒方法对新枝无菌体系建立的影响

Table 2 Effect of different disinfection methods on the establishment of system of shoot

| 试验号 Number | 升汞消毒时间 Disinfection time/min | 接种数 Inoculation number/个 | 污染率 Contamination rate/% | 褐化死亡率 Browning mortality rate/% | 存活率 Germination rate/% |
|---------------|---------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------------------|---------------------------|
| 1 | 3 | 66 | 15.64 | 1.03 | 83.33 |
| 2 | 5 | 63 | 8.94 | 2.17 | 88.89 |
| 3 | 7 | 66 | 2.03 | 2.52 | 95.45 |
| 4 | 9 | 60 | 0.00 | 6.67 | 93.33 |

表 3 不同消毒方法对种子无菌体系建立的影响

Table 3 Effect of different disinfection methods on the establishment of system of seed

| 试验号 Number | 升汞消毒时间 Disinfection time/min | 接种数 Inoculation number/个 | 污染率 Contamination rate/% | 褐化死亡率 Browning mortality rate/% | 萌发率 Germination rate/% |
|---------------|---------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------------------|---------------------------|
| 1 | 5 | 64 | 28.13 | 0 | 71.87 |
| 2 | 10 | 64 | 15.00 | 1.67 | 83.33 |
| 3 | 15 | 64 | 8.33 | 11.67 | 80.00 |
| 4 | 20 | 64 | 6.67 | 16.67 | 76.66 |

2.2 蔗糖和激素对种子初代培养的影响

种子培养 14 d 内开始萌发,子叶变绿,胚轴伸长。由表

4、5 可以看出,影响切开种子萌发的因素依次为 6-BA>蔗糖>IBA,因此种子初代培养最优组合为 20 g · L⁻¹ 蔗糖 + 3.0 mg · L⁻¹ 6-BA + 0.10 mg · L⁻¹ IBA。方差分析结果显示 IBA 对切开种子初代培养影响最小,蔗糖、6-BA、IBA 3 个因素对种子萌发率均不存在显著性差异(图 1E、F)。

表 4 种子初代培养萌发率极差分析

Table 4 Range analysis on germination rate of primary culture of seed

| 试验号 Number | A 蔗糖 Suger concentration /(g · L ⁻¹) | B 6-BA /(mg · L ⁻¹) | C IBA /(mg · L ⁻¹) | 空列 Germination rate/% | |
|---------------|--|------------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------|--------|
| 1 | 1(20) | 1(1.0) | 1(0.01) | 1 | 68.89 |
| 2 | 1(20) | 2(3.0) | 2(0.1) | 2 | 86.67 |
| 3 | 1(20) | 3(6.0) | 3(0.2) | 3 | 77.78 |
| 4 | 2(30) | 1(1.0) | 2(0.1) | 3 | 64.71 |
| 5 | 2(30) | 2(3.0) | 3(0.2) | 1 | 64.58 |
| 6 | 2(30) | 3(6.0) | 1(0.01) | 2 | 75.56 |
| 7 | 3(40) | 1(1.0) | 3(0.2) | 2 | 64.58 |
| 8 | 3(40) | 2(3.0) | 1(0.01) | 3 | 83.33 |
| 9 | 3(40) | 3(6.0) | 2(0.1) | 1 | 79.17 |
| k1 | 77.78 | 66.06 | 75.93 | | B>A>C |
| k2 | 68.28 | 78.19 | 76.85 | | |
| k3 | 75.69 | 77.50 | 68.98 | | |
| r | 9.50 | 12.13 | 7.87 | | |
| 主次顺序 | | | | | |
| 最优水平 | A1 | B2 | C2 | | |
| 最优组合 | | | | | A1B2C2 |

表 5 种子初代培养萌发率方差分析

Table 5 Variance analysis on germination rate of primary culture of seed

| 源 Source | III 型平方和 III style of square sum | df | 均方 Mean square | F | Sig. |
|-------------|-------------------------------------|----|-------------------|-------|-------|
| 蔗糖 | 149.449 | 2 | 74.724 | 3.582 | 0.218 |
| 6-BA | 278.644 | 2 | 139.322 | 6.679 | 0.130 |
| IBA | 111.046 | 2 | 55.523 | 2.662 | 0.273 |
| 误差 | 41.720 | 2 | 20.860 | | |

2.3 不同激素组合对组培苗增殖的影响

由萌发的芽长成的无菌苗和种子的上胚轴及以上部分(去除子叶和下胚轴部位)接入增殖培养基中 20 d 后,腋芽开始萌发,培养 45 d 后统计增殖和生长情况,期间产生大量愈伤组织但不分化不定芽。种子在培养基 7.0 mg · L⁻¹ 6-BA+0.05 mg · L⁻¹ IBA 中增殖系数最高,为 3.33;新枝在培养基 5.0 mg · L⁻¹ 6-BA+0.01 mg · L⁻¹ IBA 中增殖系数最高,为 1.83。进一步的方差分析结果显示 6-BA 和 IBA 对增殖系数没有显著性影响(表 6~9、图 1G~J)。

2.4 不同激素组合对组培苗生根的影响

将增殖的组培苗接入生根培养基中,通过种子萌发获得的组培苗生根培养 15 d 左右,在切口处开始生根,萌发的芽获得的增殖组培苗完全不生根,切口处全部长出愈伤组织但不分化。由表 10 可知,30 d 后统计发现在培养基 WPM+IBA 2.0 mg · L⁻¹ 中生根率最高为 60.00%,生根最多,达到 4.00 条,根长最长,为 3.17 cm(图 1K,L)。

表 6 不同激素组合对种子增殖的影响

Table 6 Effect of concentration combinations on seed multiplication

| 试验号 Number | 6-BA /(mg·L ⁻¹) | IBA /(mg·L ⁻¹) | 增殖系数 Multiplication coefficient |
|---------------|--------------------------------|-------------------------------|------------------------------------|
| 1 | 3.0 | 0.01 | 1.89 |
| 2 | 3.0 | 0.05 | 1.22 |
| 3 | 3.0 | 0.10 | 1.63 |
| 4 | 5.0 | 0.01 | 1.38 |
| 5 | 5.0 | 0.05 | 2.29 |
| 6 | 5.0 | 0.10 | 3.11 |
| 7 | 7.0 | 0.01 | 2.62 |
| 8 | 7.0 | 0.05 | 3.33 |
| 9 | 7.0 | 0.10 | 2.30 |
| 10 | 9.0 | 0.01 | 1.48 |
| 11 | 9.0 | 0.05 | 1.22 |
| 12 | 9.0 | 0.10 | 1.19 |

表 7 不同激素组合对种子增殖的方差分析

Table 7 Results of variance analysis on concentration combinations of seed multiplication

| 源 Source | III型平方和 III style of square sum | df | 均方 Mean square | F | Sig. |
|-------------|------------------------------------|----|-------------------|-------|-------|
| 6-BA | 3.894 | 3 | 1.298 | 3.494 | 0.090 |
| IBA | 0.104 | 2 | 0.052 | 0.140 | 0.872 |
| 误差 | 2.229 | 6 | 0.371 | | |
| 总计 | 52.876 | 12 | | | |

表 8 不同激素组合对新枝增殖的影响

Table 8 Effect of concentration combinations on shoots multiplication

| 试验号 Number | 6-BA /(mg·L ⁻¹) | IBA /(mg·L ⁻¹) | 增殖系数 Multiplication coefficient |
|---------------|--------------------------------|-------------------------------|------------------------------------|
| 1 | 3.0 | 0.01 | 1.03 |
| 2 | 3.0 | 0.05 | 1.23 |
| 3 | 3.0 | 0.10 | 1.54 |
| 4 | 5.0 | 0.01 | 1.83 |
| 5 | 5.0 | 0.05 | 1.77 |
| 6 | 5.0 | 0.10 | 1.52 |
| 7 | 7.0 | 0.01 | 1.50 |
| 8 | 7.0 | 0.05 | 1.49 |
| 9 | 7.0 | 0.10 | 1.75 |
| 10 | 9.0 | 0.01 | 1.65 |
| 11 | 9.0 | 0.05 | 1.61 |
| 12 | 9.0 | 0.10 | 1.57 |

表 9 不同激素组合对种子萌发的芽增殖的方差分析

Table 9 Results of variance analysis of concentration combinations on germinated bud multiplication

| 源 Source | III型平方和 III style of square sum | df | 均方 Mean square | F | Sig. |
|-------------|------------------------------------|----|-------------------|-------|-------|
| 6-BA | 0.327 | 3 | 0.109 | 3.054 | 0.114 |
| IBA | 0.019 | 2 | 0.009 | 0.261 | 0.779 |
| 误差 | 0.214 | 6 | 0.036 | | |
| 总计 | 29.050 | 12 | | | |

3 结论与讨论

不同外植体和不同消毒方法对无菌体系的建立均有较大的影响。萌发的芽为较适宜的外植体,其适宜的

表 10 不同激素组合对生根的影响

Table 10 Effects of concentration combinations on rooting

| 试验号 Number | 基本培养基 Basal media | IBA /(mg·L ⁻¹) | 生根率 Rooting rate/% | 生根数 Rooting number /条 | 根长 Root length /cm |
|---------------|----------------------|-------------------------------|-----------------------|--------------------------|-----------------------|
| 1 | 1/2MS | 0.5 | 33.33 | 2.67 | 1.73 |
| 2 | MS | 0.5 | 12.00 | 3.33 | 1.80 |
| 3 | WPM | 0.5 | 10.34 | 1.92 | 0.95 |
| 4 | 1/2MS | 1.0 | 11.54 | 1.14 | 1.03 |
| 5 | MS | 1.0 | 0 | 0 | — |
| 6 | WPM | 1.0 | 30.00 | 1.33 | 3.03 |
| 7 | 1/2MS | 2.0 | 11.11 | 1.02 | 1.33 |
| 8 | MS | 2.0 | 8.97 | 0.53 | 2.49 |
| 9 | WPM | 2.0 | 60.00 | 4.00 | 3.17 |

消毒方式为 75% 酒精 30 s, 0.1% 升汞消毒 7 min; 萌发芽最适增殖培养基为 MS + 5.0 mg · L⁻¹ 6-BA + 0.01 mg · L⁻¹ IBA; 最适种子初代培养基为 MS + 20 g · L⁻¹ 蔗糖 + 3.0 mg · L⁻¹ 6-BA + 0.10 mg · L⁻¹ IBA, 最适增殖培养基为 MS + 7.0 mg · L⁻¹ 6-BA + 0.05 mg · L⁻¹ IBA; 最适生根培养基为 WPM + 2.0 mg · L⁻¹ IBA。

试验结果显示,未萌发的芽很难消毒导致污染率很高,而种子和萌发的芽则污染率较低,可能是未萌发的芽鳞片层层包裹导致消毒效果不理想。外植体表面和内部常携带一些微生物,是组织培养过程中的主要污染源^[5]。试验中完整的种子全部未萌发,可能是因为羽叶丁香种皮较硬阻碍了胚的萌发^[6],切开后能明显的提高种子发芽率,这与刘华英等^[7]的研究结果一致。

周莉等^[8]在丁香种间杂交幼胚离体培养研究中发现,低浓度的 6-BA 能促进胚的萌发,而高浓度有抑制作用,IBA 则抑制胚的萌发; 孟昕等^[9-10]在白丁香胚和佛手丁香胚离体培养的研究中发现低浓度的 6-BA 和 IBA 能促进胚的萌发。在种子初代培养中,不同浓度的 6-BA 和 IBA 对种子萌发率没有明显的促进作用。段乃彬等^[11]和韩丽媛等^[12]在枣胚离体培养中的研究中发现,外源激素对胚的萌芽率无明显的促进作用。产生这种差异的原因可能是不同物种间,适宜的外源激素种类和浓度不同,试验中的激素浓度或种类未达到最适条件。增殖培养中愈伤组织不能分化出不定芽,这与丁香属中紫丁香^[3,13]、朝鲜裂叶丁香^[4]、小叶丁香^[14-15]、欧丁香^[2]的研究结果较为相似。在丁香属植物中,由愈伤组织分化出不定芽这一途径还需要进行深入研究。

在组织培养过程中,降低无机盐的浓度有利于组培苗的生根,组培苗的生根培养基多数情况只选择用生长素 NAA 或 IBA^[16]。生根培养中最有利于生根的基本培养基为 WPM, 这与 CORINA 等^[17]的研究结果一致,说明对大多数木本植物生根比较有利的 WPM 培养基同样有利于羽叶丁香生根。羽叶丁香由芽获得的组培苗不能生根,而由种子萌发后的组培苗去除子叶及下胚轴部位能生根,可能是因为试验中的植物生长调节剂种类



注:A.芽;B.新枝;C.新枝长成的无菌苗;D.切开的种子;E.切开的种子开始萌发;F.萌发后的种子胚轴伸长;G~H.芽和种子接入增殖培养基中;I~J.芽和种子的增殖;K~L.由种子获得的组培苗生根。

Note: A. Bud; B. Shoots; C. Sterile seeding of shoots; D. Cut seeds; E. Germinating of cut seeds; F. Hypocotyl elongation of germinated seeds; G and H. Buds and seeds inserted in multiplication medium; I and J. Proliferated of seeds and buds; K and L. Rooted of tissue culture seeding obtained from seeds.

图1 羽叶丁香组织培养

Fig. 1 Tissue culture of *Syringa pinnatifolia*

及浓度不适用于由芽获得的组培苗的生根。植物组织培养生根受到植物生长调节剂、内源激素、植物生长势、金属元素、基因转化等多种因素的影响^[18]。

参考文献

- [1] 中国科学院《中国植物志》编辑委员会. 中国植物志第 61 卷 2 分册 [M]. 北京:科学出版社,1992:79.
- [2] REFOUVELET E, LE N S, TALLON C, et al. A new method for in vitro propagation of lilac (*Syringa vulgaris* L.); regrowth and storage conditions for axillary buds encapsulated in alginate beads, development of a pre-acclimatisation stage[J]. *Scientia Horticulturae*, 1998, 74:233-241.
- [3] 杨晓红, 遂文亭, 冷平生, 等. 不同种源华北紫丁香组培研究[J]. 北京农学院学报, 2015, 30(3):67-72.
- [4] 温瑀. 裂叶朝鲜丁香组织培养体系的建立[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2006.
- [5] 胡凯, 张立军, 白雪梅, 等. 植物组织培养污染原因分析及外植体的消毒[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(3):680-681.
- [6] 姜在民, 蔡靖, 崔宏安. 华榛、羽叶丁香种子形态构造特点的研究[J]. 陕西林业科技, 1999(3):14-16.
- [7] 刘华英, 沈海龙, 黄剑. 离体条件下暴马丁香切开种子的萌发[J]. 植物研究, 2004, 24(2):245-247.
- [8] 周莉, 罗凤霞, 代力民. 丁香种间杂交幼胚离体培养研究[J]. 应用生态学报, 2003, 14(3):382-386.
- [9] 孟昕, 陈春玲, 代兴华. 白丁香胚离体培养及快繁的研究[J]. 北京园林, 2013, 17(4):25-28.
- [10] 孟昕, 陈进勇, 赵世伟. 佛手丁香胚培养的研究[C]. 中国植物园(第 14 期), 2011.
- [11] 段乃彬, 王永清. 枣树胚离体培养的研究[J]. 四川林业科技, 2002, 23(2):42-45.
- [12] 韩丽媛, 管少花, 张娅君, 等. 酸枣成熟胚离体培养研究[J]. 河南农业科学, 2013, 42(10):118-121.
- [13] 刘建斌, 赵祥云, 王俊娟, 等. 紫丁香的组织培养[J]. 北京农学院学报, 2001, 16(4):42-45.
- [14] 武术杰. 小叶丁香的再生体系建立[J]. 东北林业大学学报, 2009, 37(8):17-18.
- [15] 冷强, 张竹. 小叶丁香的组织培养[J]. 中国林副特产, 2012(1):32-34.
- [16] 刘忠荣, 陈屏昭. 植物组织培养技术在观赏植物中的应用[J]. 昭通师范高等专科学校学报, 2003, 25(2):41-43, 46.
- [17] CORINA C, ADRIANA F, CORINA S, et al. *In vitro* propagation in *Syringa josikaea* Jacq. [J]. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 1998, 1(28):71-77.
- [18] 谌金芳, 何晓冰, 张利, 等. 观赏树木组培愈伤组织分化研究进展[J]. 福建林业科技, 2014, 41(4):241-246.

DOI:10.11937/bfyy.201612024

新疆野扁桃自交不亲和相关基因 *PetSSK1* 转“梦幻”矮牵牛的研究

夏江宏¹, 曾斌¹, 王建友², 李伟阳¹, 田嘉¹, 李疆¹(1. 新疆农业大学 林学与园艺学院,新疆农业大学果树学新疆特色果树研究中心,新疆 乌鲁木齐 830052;
2. 新疆林业科学院推广站,新疆 乌鲁木齐 830063)

摘要:以新疆野扁桃(*Prunus tenella*)花粉为试材,构建其自交不亲和性相关基因*PetSSK1*的植物表达载体 pCAMBIA1303-*PetSSK1*,采用根瘤农杆菌介导法,将该基因导入矮牵牛,并研究了不同种类及浓度抗生素对矮牵牛再生的影响。结果表明:该试验成功获得了转化新疆野扁桃自交不亲和相关基因*PetSSK1*的矮牵牛植株,并筛选出矮牵牛的卡那霉素(Kan)和头孢霉素(Cef)的敏感浓度分别为 25、300 mg·L⁻¹,并进一步通过 PCR 分子检测确认其为转基因阳性植株。

关键词:野扁桃; *PetSSK1*; 植物表达载体; 根瘤农杆菌介导; 矮牵牛**中图分类号:**S 681.603.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)11-0096-05野扁桃(*Prunus tenella*)属蔷薇科李亚科桃属扁桃**第一作者简介:**夏江宏(1990-),男,重庆垫江人,硕士研究生,研究方向为果树学。E-mail:939414098@qq.com**责任作者:**曾斌(1970-),男,湖北松滋人,博士,副教授,硕士生导师,现主要从事果树种质资源及生物技术的教学与科研等工作。E-mail:zbxd@163.com**基金项目:**国家自然科学基金资助项目(31260465);国家林业公益性行业科研专项资助项目(201304701-1);新疆维吾尔自治区科技计划资助项目(201130102-1-5);新疆维吾尔自治区果树学重点学科资助项目(201007)。**收稿日期:**2015-12-16

亚属植物,也称野巴旦杏,属新生代第3纪遗留物种,是世界上古老的野生果树之一,现今只有哈萨克斯坦和中国新疆塔城和阿勒泰地区有少量分布^[1]。而随着过度放牧,自然环境的恶化等因素对野扁桃的生存造成了很大威胁^[2]。通过对张一婧等^[3]发现的一种新基因 *SKP1-like* 进行同源克隆,获得一个新的基因 *PetSSK1*,该试验拟验证野扁桃 *PetSSK1* 基因是否与野扁桃的自交不亲和相关。

矮牵牛(*Petunia hybrida* Vilm)属配子体自交不亲和多年生草本植物,又名碧冬茄,常作一二年生栽培。株高 20~45 cm,茎匍匐生长,被有粘质柔毛,叶质柔软,

Tissue Culture of Endangered Plant *Syringa pinnatifolia*

CHENG Ming¹, LI Houhua², HE Zisen¹, JIANG Zaimin³, CAI Jing¹

(1. College of Forestry, Northwest Agriculture and Forestry University, Yangling, Shaanxi 712100; 2. College of Landscape Architecture and Arts, Northwest Agriculture and Forestry University, Yangling, Shaanxi 712100; 3. College of Life Science, Northwest Agriculture and Forestry University, Yangling, Shaanxi 712100)

Abstract: The buds and seeds of endangered plant *Syringa pinnatifolia* were used as the test materials, the influence of different disinfection methods, concentration combinations of sucrose and hormone on primary culture of seeds, combinations of basal media and hormones on shoots proliferation and rooting by plant tissue culture method were studied, in order to provide basis for tissue culture propagation, germplasm resources protection and exploitation of *Syringa pinnatifolia*. The results showed that the suitable explants were shoots. The appropriate disinfection methods were 75% ethanol for 30 seconds, 0.1% mercuric chloride for 7 minutes, the best proliferation medium was MS+5.0 mg·L⁻¹ 6-BA+0.01 mg·L⁻¹ IBA; the optimal initial, proliferation and rooting medium for seed was MS+20 g·L⁻¹ sucrose+3.0 mg·L⁻¹ 6-BA+0.10 mg·L⁻¹ IBA, MS+7.0 mg·L⁻¹ 6-BA+0.05 mg·L⁻¹ IBA and WPM+2.0 mg·L⁻¹ IBA respectively according to this study.

Keywords: *Syringa pinnatifolia*; tissue culture; bud; seed