

多年生黑麦草品种夜影再生体系的建立

黄 锐

(甘肃省农业科学院产业开发管理处, 甘肃 兰州 730070)

摘要: 分别以多年生黑麦草品种夜影的成熟胚和生长点为外植体, 在6种培养基上进行愈伤组织诱导, 比较接种60 d时的诱导率及愈伤组织形态, 并将继代培养后的胚性愈伤组织转接到4种不同的分化培养基上进行再生苗分化。结果表明, 生长点愈伤组织诱导率和分化率明显高于成熟胚, 5.0 mg/L的2, 4-D是诱导黑麦草品种夜影愈伤组织的最佳浓度, 胚性愈伤组织在添加1.0 mg/L 6-BA的培养基上分化率最高。

关键词: 黑麦草; 品种; 夜影; 愈伤组织; 再生体系

中图分类号: S543; Q813.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-1463(2016)06-0028-04

doi: 10.3969/j.issn.1001-1463.2016.06.011

黑麦草是具有世界栽培意义的牧草和草坪草^[1-2]。在草坪产业中, 品种的改良一直是一个重要的问题。传统的草坪草品种改良一直依靠常规育种方法, 由于草坪草种类繁多, 多为多倍体、多年生以及异交等原因, 传统育种方法受到一定的限制。近年来随着植物基因工程技术的迅速发展, 转基因技术在草坪草的品种改良中受到越来越广泛的重视, 而植物组织培养是进行遗传转化的基础, 黑麦草组织培养体系的建立对草坪业的

发展有重要意义。笔者以常用多年生黑麦草品种夜影为供试材料, 用不同外植体在含不同浓度植物激素的培养基上进行培养, 旨在筛选出培养多年生黑麦草品种夜影的最佳培养基, 并建立其高效再生体系。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试材料为多年生黑麦草品种夜影, 购于兰州种子供销公司。

收稿日期: 2016-03-18

作者简介: 黄 锐(1982—), 男, 甘肃兰州人, 研究实习员, 主要从事园艺及产业开发管理工作。联系电话:(0931)7616898。

甜003差异极显著, 二者与其余品种(系)差异均达极显著水平; 先农甜珍、京科甜126、酒甜002间差异不显著, 与酒甜001、超甜603差异也不显著, 但均与甜单21(CK)、酒甜004差异极显著; 酒甜001、超甜603间差异不显著, 均与甜单21(CK)差异显著, 与酒甜004差异极显著。

3 小结

在酒泉市农业科学研究院原种场对8个参试甜玉米品种(系)进行的品比试验结果表明, 在半膜平作栽培条件下, 通过对各参试甜玉米品种(系)的鲜穗产量、生育期、蒸煮品质、农艺性状、经济性状表现的分析, 先农甜珍、京科甜126、超甜603鲜穗产量较高, 均较对照品种甜单21增产, 增幅分别为13.1%、12.1%和6.1%, 且这3个品种综合性状优良, 表现生育期适中、商品性好、蒸煮品质佳, 可以在酒泉市推广种植; 酒甜002、酒甜001鲜穗产量分别比对照品种甜单21增产10.1%、7.1%, 综合性状优良, 但鲜穗秃尖略长,

可作为搭配品种种植; 绿色超人鲜穗产量最高, 但蒸煮品质表现欠佳, 且生育期偏晚, 不适宜在酒泉市种植; 酒甜003鲜穗产量比对照品种甜单21增产22.2%, 但鲜籽果皮偏厚, 建议改良此性状; 酒甜004比对照品种甜单21减产9.1%, 建议淘汰。

参考文献:

- [1] 陈 苍, 杨国华, 汪来田, 等. 河西走廊甜玉米品比试验初报[J]. 甘肃农业科技, 2013(6): 7-9.
- [2] 李云亚, 陈永治, 蒲秀珍, 等. 永靖县鲜食甜玉米栽培技术[J]. 甘肃农业科技, 2013(11): 64-65.
- [3] 李 玲, 许立红, 高丽萍, 等. 兰州市鲜食玉米栽培技术[J]. 甘肃农业科技, 2014(1): 59-60.
- [4] 黄有成, 郝 凯, 张立荣, 等. 超甜玉米新品种甘甜3号选育报告[J]. 甘肃农业科技, 2014(8): 3-4.
- [5] 刘耀义, 王占江. 甜(糯)玉米优质高产标准化栽培技术[J]. 甘肃农业科技, 2015(8): 85-87.
- [6] 中华人民共和国农业部. NY/T523-2002 农业行业标准(甜玉米)[S]. 北京: 中国标准出版社, 2002.

(本文责编: 郑立龙)

1.2 方法

1.2.1 愈伤组织的诱导 采用2种不同外植体进行愈伤组织诱导。①用解剖刀将黑麦草成熟种子消毒后沿延长轴线一分为二切开,接种于添加不同浓度外源激素的愈伤组织诱导培养基(表1)上,25℃暗培养。②将黑麦草成熟种子消毒后种于MS培养基上,待发芽7d后剪下幼苗,于解剖镜下取生长点位置上下约0.5cm的小段,用解剖刀纵切生长点后接于不同外源激素浓度的愈伤组织诱导培养基(表1)上,25℃暗培养。

表1 愈伤组织诱导培养基成分^①

序号	基础培养基	2,4-D (mg/L)	蔗糖 (g/L)	琼脂 (g/L)
1	MS	1.0	30.0	4.5
2	MS	2.5	30.0	4.5
3	MS	3.0	30.0	4.5
4	MS	4.0	30.0	4.5
5	MS	5.0	30.0	4.5
6	MS	6.0	30.0	4.5

①所有培养基pH均为5.8,下表同。

1.2.2 愈伤组织的再分化 选取颗粒状、淡黄色、结构致密、生长迅速的高质量胚性愈伤组织进行继代培养,每15d继代1次,继代2次后转入添加不同浓度外源激素的分化培养基(表2),在25℃下光照(16h光照/8h黑暗,2000Lx)培养,诱导愈伤组织再分化。

表2 再生苗分化培养基成分

序号	基础培养基	6-BA (mg/L)	蔗糖 (g/L)	琼脂 (g/L)
1	MS	0.5	30.0	4.5
2	MS	1.0	30.0	4.5
3	MS	2.0	30.0	4.5
4	MS	3.0	30.0	4.5

1.3 观测指标

接种60d时观察记载愈伤组织诱导情况,即成熟胚、生长点的愈伤组织平均诱导率和胚性愈伤组织平均诱导率。

愈伤组织平均诱导率(%)=(形成愈伤组织数/接种总数)×100%

胚性愈伤组织平均诱导率(%)=(形成胚性愈伤组织数/接种总数)×100%

2 结果与分析

2.1 不同外植体类型对愈伤组织诱导率的影响

不同外植体类型对愈伤组织诱导率具有明显的影响,以生长点为外植体进行愈伤组织诱导的诱导率明显高于成熟胚的诱导率。成熟胚接种后

第13天种子边缘开始产生水渍状愈伤组织,待50d时形成淡黄色致密且坚硬的愈伤组织,但这种愈伤组织在约80d后生长越来越缓慢且容易褐化,有些愈伤组织甚至停止生长。生长点接种后第10天即可观察到愈伤组织的产生,诱导40d左右时能够形成黄白色较松软的愈伤组织,随后这部分愈伤组织生长迅速,质地也越加致密,颜色逐渐现淡黄色。接种60d时,成熟胚的愈伤组织平均诱导率和胚性愈伤组织平均诱导率分别为24.00%和12.00%,生长点的愈伤组织平均诱导率和胚性愈伤组织平均诱导率为45.33%和34.33%(表3)。

2.2 不同浓度2,4-D对愈伤组织类型的影响

从图1可以看出,在添加不同浓度2,4-D的培养基中形成的愈伤组织形态不同。接种60d时,在1、2、3号愈伤组织诱导培养基上形成的愈伤组织较小,颜色呈黄色和褐色,结构比较致密(I型);在4、5号愈伤组织诱导培养基上形成的愈伤组织颜色为淡黄色或白色,结构较疏松,生长较快,部分呈水渍状(II型);在6号愈伤组织诱导培养基上形成的愈伤组织表现出无结构,呈水渍状,颜色发暗(III型)。

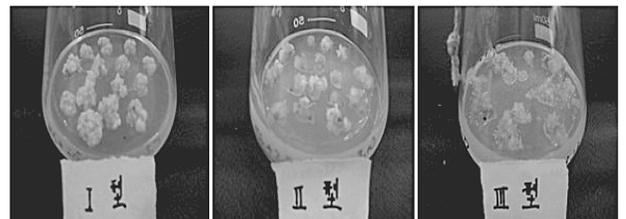


图1 添加不同浓度2,4-D培养基上愈伤组织的类型

2.3 不同浓度2,4-D对愈伤组织诱导率的影响

不同浓度2,4-D能够影响愈伤组织的诱导率。由表3可以看出,不同浓度2,4-D对成熟胚和生长点愈伤组织诱导均有显著影响,随着2,4-D浓度的增加,两类外植体愈伤组织和胚性愈伤组织诱导率都明显增加,且都在2,4-D浓度为5.0mg/L时达到最大,成熟胚的愈伤组织和胚性愈伤组织诱导率分别为38.00%和30.00%。生长点愈伤组织和胚性愈伤组织诱导率分别为66.00%和56.00%;但当2,4-D浓度达到6.0mg/L时,诱导率又开始下降,成熟胚的愈伤组织和胚性愈伤组织诱导率分别为30.00%、18.00%。生长点愈伤组织和胚性愈伤组织诱导率分别为54.00%、38.00%。

表3 2, 4-D浓度对夜影品种黑麦草愈伤组织诱导率的影响

外植体	2,4-D浓度 (mg/L)	接种数 (粒)	愈伤组织数 (粒)	胚性愈伤组织数 (粒)	愈伤组织诱导率 (%)	胚性愈伤组织诱导率 (%)
成熟胚	1.0	50	3	0	6.00 a	0 a
	2.5	50	7	0	14.00 b	0 a
	3.0	50	13	5	26.00 c	10.00 b
	4.0	50	15	7	30.00 d	14.00 c
	5.0	50	19	15	38.00 e	30.00 d
	6.0	50	15	9	30.00 d	18.00 e
生长点	1.0	50	11	8	22.00 a	16.00 a
	2.5	50	15	11	30.00 b	22.00 b
	3.0	50	21	16	42.00 c	32.00 c
	4.0	50	29	21	58.00 d	42.00 d
	5.0	50	33	28	66.00 e	56.00 e
	6.0	50	27	19	54.00 f	38.00 f

2.4 不同浓度 6-BA 对愈伤组织分化的影响

将继代 2 次以上的胚性愈伤组织 (I 型) 转移到分化培养基上, 7~10 d 即可长出绿色芽点, 15 d 左右分化出苗, 且在 1 粒愈伤组织块上常可分化出 3~5 棵绿苗; 出苗时间可持续 40 d 左右。而放入分化培养基 40 d 后不出苗的愈伤组织在以后的诱导分化中再出苗的几率非常小, 可认定为无分化能力。

分化 60 d 后统计的分化率见表 4。从表 4 可以看出, 愈伤组织在 4 种分化培养基上均能分化出苗, 但从愈伤组织分化率上来看, 几种培养基之间存在着明显差异。其中以 6-BA 的浓度为 1.0 mg/L 时所获得的愈伤组织分化率最高, 达到 86.00%; 当 6-BA 浓度为 2.0 mg/L 时, 愈伤组织的分化率开始下降, 为 56.00%; 当 6-BA 浓度为 3.0 mg/L 时分化率仅为 42.00%。

3 小结与讨论

1) 由生长点诱导的愈伤组织、胚性愈伤组织分化率明显高于成熟胚。可能是因为不同外植体对激素等外源信号的感应程度不同^[3]。作为建立再生体系的材料, 两者各有优点, 成熟胚虽然愈伤组织的分化频率较低, 但易于获取, 且不受季节、植株发育时期等因素限制, 取材方便、操作简单;

表4 不同 6-BA 浓度处理的黑麦草品种夜影愈伤组织分化率

6-BA浓度 (mg/L)	接种愈伤组织数 (个)	发芽数 (个)	愈伤分化率 (%)
0.5	50	31	62.00 a
1.0	50	43	86.00 b
2.0	50	28	56.00 c
3.0	50	21	42.00 d

生长点愈伤组织分化频率高, 且在培养过程中不易污染。

2) 在禾本科植物中, 2,4-D 浓度是影响愈伤组织形成的关键因素^[4]。浓度较低时, 诱导出的愈伤组织结构致密, 颜色鲜亮, 分化和生根能力都较强, 但诱导率偏低。浓度较高时, 诱导出的愈伤组织结构较松散, 诱导率较高, 这是因为高浓度的 2,4-D 能抑制胚芽的生长, 在一定程度上提高了愈伤组织诱导率, 这与刘文真的结论相同^[5]。但过高浓度的 2,4-D 对愈伤组织的诱导起抑制作用, 会导致胚性愈伤诱导率下降。钱海丰等指出, 过高或过低的 2,4-D 浓度都不利于胚性愈伤组织的形成和分化再生^[6]。综合考虑愈伤组织的质量和诱导效率, 认为 2,4-D 浓度为 5.0 mg/L 时诱导黑麦草品种夜影愈伤组织的效果最佳。

3) 在黑麦草品种夜影的愈伤组织分化时添加适当浓度的 6-BA, 可以促进愈伤组织的分化。在 MS+1.0 mg/L 6-BA+3%蔗糖+琼脂 4.5 g/L 培养基上诱导愈伤组织芽的分化, 生长 7~14 d 后就开始分化出小芽, 且愈伤组织平均分化率高达 86.00%。但过高的 6-BA 浓度会抑制愈伤组织的分化。

参考文献:

- [1] WILLIAM A T, SYMINGTON A G. Regeneration from perennial ryegrass callus tissue[J]. Hort Science, 1984, 19: 56-57.
- [2] 程有珍. 几种人工牧草在黄土高原干旱半干旱区的表现及利用意见[J]. 甘肃农业科技, 2004(1): 18-19.
- [3] 张振霞, 储成才. 多年生黑麦草种子愈伤组织诱导和植株再生[J]. 草地学报, 2004, 12(4): 289-293.
- [4] BHASKAREN S, SMITH R H. Regeneration in cereal tissue culture of a review[J]. CropSci., 1990, 30:

3个玉米品种在古浪县引种试验初报

杨慧林, 黄少学, 钟龙魁, 张多云

(甘肃省古浪县农业技术推广中心, 甘肃 古浪 733100)

摘要: 在古浪县对引进的 3 个玉米品种在全膜穴播栽培条件下进行了比较试验。结果表明, 中地 88 产量最高, 折合产量为 10 775.5 kg/hm², 较对照品种先玉 335 增产 1 265.3 kg/hm², 增产率 13.3%; 冬玉 99、豪威 168 较先玉 335 分别减产 4.7%、0.4%。豪威 168、先玉 335 在当地可适当种植, 生产中可大力推广中地 88。

关键词: 玉米品种; 引种; 初报; 古浪县

中图分类号: S513

文献标识码: A

文章编号: 1001-1463(2016)06-0031-02

doi: 10.3969/j.issn.1001-1463.2016.06.012

古浪县位于甘肃省西部, 河西走廊东端, 海拔 2 307 m, $\geq 10\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的积温 1 786 $^{\circ}\text{C}$, 年平均气温 5.4 $^{\circ}\text{C}$, 年降水量 250 ~ 300 mm, 无霜期 120 d, 是典型的旱作农业区^[1-4]。近年来古浪县玉米种植面积逐年扩大, 产量大幅度提高, 市场行情看好。为了进一步挖掘玉米种植潜力, 我们于 2015 年对 3 个引进玉米品种的农艺性状和产量进行田间观察, 以期筛选出适合本地生产的品种, 为玉米高产种植提供一定的参考。

1 材料和方法

1.1 供试材料

供试玉米品种为中地 88(北京中地种业科技有限公司提供)、冬玉 99(甘肃省古浪县农业科技服务部提供)、豪威 168(由武威豪威田园种业有限责任公司提供), 对照品种为先玉 335(由敦煌先锋种业公司提供)。

1.2 试验地概况

试验设在甘肃省古浪县水川灌溉区的西靖镇古山村。海拔 1 869 m, 属温带干旱气候, 年平均温度 5 $^{\circ}\text{C}$, 降水量 200 mm 左右, 无霜期 150 d。供试土壤为灰钙土, 试验地前茬作物为玉米, 耕层土壤含有机质 20.4 g/kg、速效氮 60 mg/kg、速效磷 7 mg/kg、速效钾 213 mg/kg, pH 为 8.11。

1.3 试验方法

试验采用单因素随机区组设计, 3 次重复, 小区面积 24.5 m²。试验采用全膜平铺穴播栽培方式, 4 月 23 日覆宽 1.2 m、厚 0.01 mm 地膜。覆膜前结合整地一次性基施尿素 300 kg/hm²、普通过磷酸钙 750 kg/hm²、硫酸钾 225 kg/hm²、硫酸锌 30 kg/hm²^[5]。4 月 26 日播种, 行距 0.4 m, 株距 0.27 m, 小区间不设走道, 区组间走道为 0.8 m。其他大田管理同当地常规。10 月 2 日收获, 收获期每小区取中间 2 行, 收获面积 4.8 m², 从中随机选取 20 穗统计穗长、排数、穗粒数、穗重、千粒重等性状。将 4.8 m² 的所有玉米穗晒干后脱粒计产。

2 结果与分析

2.1 生育期

通过表 1 可以看出, 各处理全生育期为 142 ~ 151 d, 中地 88、冬玉 99 的拔节期、大喇叭口期、吐丝期、散粉期、灌浆期均较对照品种先玉 335 提前, 成熟期分别提前 5、8 d。豪威 168 较对照品种出苗期、拔节期、大喇叭口期、吐丝期、散粉期、灌浆期迟 1 ~ 4 d, 成熟期推迟 1 d。

2.2 主要性状

从表 2 可以看出, 株高以豪威 168 最高, 为

收稿日期: 2016-01-19

作者简介: 杨慧林(1968—), 女, 甘肃古浪人, 高级农艺师, 主要从事农业技术推广工作。联系电话: (0)15193550919。

[5] 刘文真, 玄松南. 几种作用因子对多年生黑麦草组织培养影响的研究[J]. 林业科学研究, 2004, 17(1): 95-101.

[6] 钱海丰, 薛庆中. 激素对高羊茅愈伤组织诱导及其分化的影响[J]. 中国草地, 2002, 24(1): 46-49; 60.

(本文责编: 郑立龙)