

# 核桃茎段组织培养无菌芽苗的诱导

胡文斌, 张少飞, 孙娜, 宫峥嵘

(陇南师范高等专科学校, 甘肃 成县 742500)

**摘要:** 以改良 DKW 培养基为基本培养基, 附加不同质量浓度的 6-BA 和 IBA, 对核桃进行茎段组织培养初代培养基筛选, 同时进行继代培养, 诱导无菌芽苗。结果表明: 使用 75% 乙醇消毒 60 s, 再用 0.1% 氯化汞消毒 8 min, 可以达到最佳灭菌效果; 最佳初代培养基为改良 DKW 培养基+蔗糖 30 g/L+琼脂 8 g/L+6-BA 1.0 mg/L+IBA 0.1 mg/L, 继代培养芽苗生长良好。

**关键词:** 核桃组培; 快繁; 污染; 褐化

**中图分类号:** S664.1

**文献标志码:** A

**文章编号:** 1001-1463(2018)05-0036-04

[doi: 10.3969/j.issn.1001-1463.2018.05.012](https://doi.org/10.3969/j.issn.1001-1463.2018.05.012)

核桃(*Juglans regia* L.)古称胡桃或羌桃, 属胡桃科胡桃属, 与榛子、板栗、腰果并称为世界四大干果<sup>[1]</sup>。核桃含有丰富的蛋白质、不饱和脂肪酸、维生素及矿物质, 营养丰富, 具有多种保健及药用价值<sup>[2-3]</sup>。核桃为我国重要经济栽培树种, 但目前主要是以实生苗嫁接的方式进行繁殖, 需要大量的接穗, 且切口处易发生氧化褐变, 成活率很低、周期长且不稳定, 易受天气影响。扦插繁殖基本不能成活, 使得良种的繁殖效

率极其低下<sup>[4]</sup>。

植物组织培养快繁技术, 以繁殖系数高、速度快、育种时间短等优点, 成为目前植物育苗的研究热点之一, 具有很高的商业价值<sup>[5]</sup>。我们以陇南地区最为常见的核桃品种辽核 1 号为材料, 研究了其茎段组织培养的最佳消毒时间及初代培养的最佳培养基配比, 并进行继代培养, 诱导无菌芽苗, 以为核桃快繁体系的建立提供参考。

**收稿日期:**

**基金项目:** 陇南市科技计划项目(2016-16)。

**作者简介:** 胡文斌(1984—), 男, 甘肃成县人, 讲师, 硕士, 主要从事植物组织培养方面的教学与研究工作。E-mail: hwbcl195927@163.com。

的防效最好, 校正防效分别为 93.6%、93.4%, 较药剂对照(CK1)分别高 8.9、8.7 百分点; 药剂残效期长, 较空白对照(CK2)的虫情减退率分别为 89.6%、88.6%; 平均折合产量高, 分别为 34 455.3、33 583.8 kg/hm<sup>2</sup>, 较药剂对照(CK1)分别增产 57.5%、53.5%, 较空白对照(CK2)分别增产 206.6%、198.8%。1.8%阿维菌素乳油 450 mL/hm<sup>2</sup> 兑水 750 kg 和 20%氯氟毒死蜱水乳剂 675 mL/hm<sup>2</sup> 兑水 750 kg 于 5 月 10 日、7 月 20 日、8 月 25 日各喷药 1 次的杀虫效果较好, 校正防效分别为 89.7%、88.9%, 较空白对照(CK2)的虫情减退率分别为 84.5%、79.0%; 平均折合产量分别为 30 894.0、28 580.0 kg/hm<sup>2</sup>, 较药剂对照(CK1)分别增产 41.2%、30.6%, 较空白对照(CK2)分别增产 174.9%、154.3%。可见, 4.5%高效氯氟氰菊酯乳油、10%吡虫啉可湿性粉剂、1.8%阿维菌素乳油、20%氯氟毒死蜱水乳剂

等 4 种药剂对马铃薯二十八星瓢虫的防治效果和保产效果均优于对照药剂 80%敌敌畏乳油, 且喷药 3 次后无药害现象, 建议大面积应用。

**参考文献:**

- [1] 魏敏, 陈娟娟, 李丽君. 马铃薯二十八星瓢虫在庄浪县的发生及防治[J]. 甘肃农业科技, 2014(6): 63-64.
- [2] 李丽君, 李芳君, 李高社. 马铃薯新品种“庄薯3号”的选育[J]. 中国马铃薯, 2015, 29(6): 378-380.
- [3] 石玉章. 黑色地膜覆膜方式对旱地马铃薯的影响[J]. 甘肃农业科技, 2012(7): 41-42.
- [4] 张文解, 王成刚. 马铃薯病虫害诊断与防治[M]. 兰州: 甘肃科学技术出版社, 2010.
- [5] 李丽君. 3 种药剂对马铃薯晚疫病的防效试验[J]. 甘肃农业科技, 2012(6): 43-44.

(本文责编: 郑立龙)

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

指示核桃品种为辽核1号, 2~4年生嫁接苗, 采自成县植物观光园。取当年生枝条的休眠芽和嫩枝茎段进行离体培养。

### 1.2 试剂

6- 卞氨基嘌呤(6-BA), 由上海蓝季科技发展有限公司生产; 3- 吲哚丁酸 (IBA), 由中国医药上海化学试剂公司生产。

### 1.3 外植体消毒和接种方法

茎段于每年5—8月取材, 一般在晴天早上9:00左右进行。先在流水下冲洗过夜, 用软毛刷沾取肥皂液刷洗干净, 再进行表面消毒处理。置于超净工作台上, 剪成长2~3 cm的带芽茎段, 用75%酒精消毒60 s, 然后用无菌水冲洗2~3次, 再用0.1%氯化汞溶液消毒。试验设氯化汞消毒时间6、8、10 min, 共3个处理, 每个处理20瓶, 每瓶接种1个外植体。接种时先将已消毒的外植体用无菌水反复冲洗5次。在无菌条件下切去下部有褐化的伤口, 将消毒过的材料正插于培养基上进行培养。

### 1.4 培养基及培养条件

以改良DKW培养基为基本培养基, 附加6-BA, IBA、蔗糖30 g/L、琼脂粉8 g/L, pH 5.8~6.0。培养条件: 培养温度为(25±2)℃, 相对湿度为60%, 光照时间12 h/d, 光照度2 000~2 500 lx<sup>[6]</sup>。分别于7、14、21、28、35、42 d统计接种材料的污染率、褐化率, 死亡率和成活率, 以及污染的类型。

### 1.5 激素质量浓度确定

以改良DKW培养基为基本培养基, 附加不同质量浓度的6-BA和IBA, 将单芽茎段接种于培养基上, 研究激素配比对核桃萌芽的影响。试验设附加6-BA 0.5 mg/L+IBA 0.05 mg/L、6-BA 0.5 mg/L+IBA 0.1 mg/L、6-BA 0.5 mg/L+IBA 0.2 mg/L、6-BA 1.0 mg/L+IBA 0.05 mg/L、6-BA 1.0 mg/L+IBA 0.1 mg/L、6-BA 1.0 mg/L+IBA 0.2 mg/L, 共6个处理, 3次重复。接种30 d后, 观察芽的分化、增殖与生长情况。

### 1.6 继代培养

腋芽生长至3 cm左右时在无菌环境中将其小心取下, 接种于筛选出的生长状态最好的培养基中, 进行增殖培养。

## 2 结果与分析

### 2.1 外植体最佳消毒时间的确定

由图1、图2可知, 随着消毒时间的延长, 外植体的污染率和褐化率在逐渐下降。但通过与图3进行比较分析可知, 氯化汞消毒8 min时, 萌芽情况最好, 高于其他两个处理。综合分析可知, 核桃外植体的消毒方法是采用75%乙醇消毒60 s, 再用0.1%氯化汞消毒8 min。

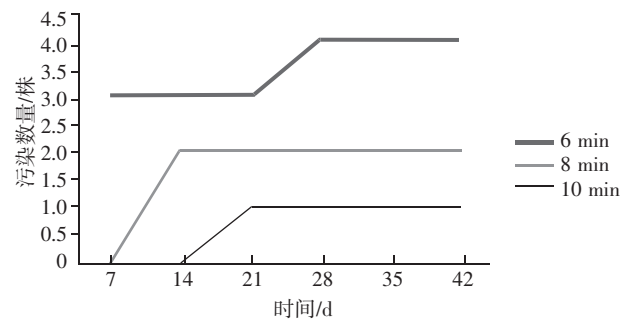


图1 氯化汞消毒后外植体污染情况

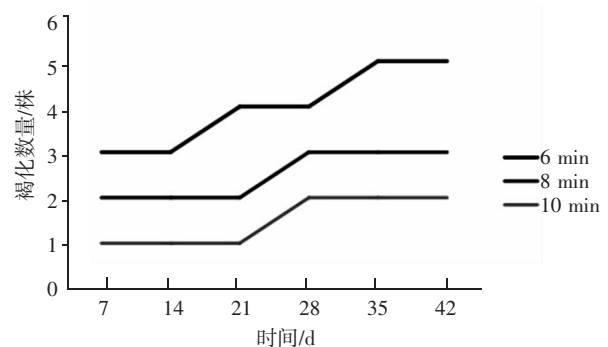


图2 氯化汞消毒后外植体褐化情况

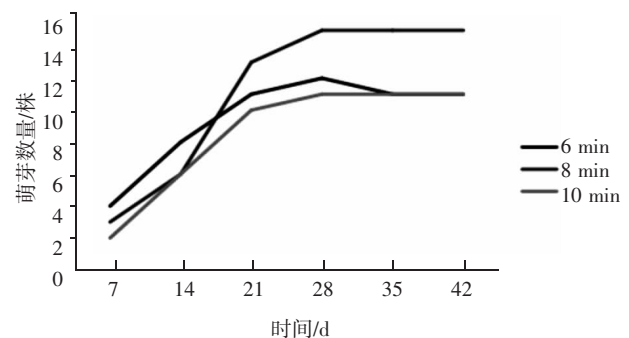


图3 氯化汞消毒后外植体萌芽情况

### 2.2 初代培养基的确定

从表1、图4可以看出, 经过28 d的培养, 所有处理外植体生长状况良好, 其中以6-BA 1.0 mg/L+IBA 0.1 mg/L处理萌芽率最高, 增殖效果最好。因此, 最佳增殖培养基配方确定为改良DKW培养基+6-BA 1.0 mg/L+IBA 0.1 mg/L+蔗糖30 g/L+

表 1 激素对比对核桃外植体萌芽的影响

激素种类和质量浓度	接种数量 / 个	萌芽数量 / 个	萌芽率 / %	污染率 / %	褐化率 / %	死亡率 / %
6-BA0.5 mg/L+IBA0.05 mg/L	20	6	30	10	5	15
6-BA0.5 mg/L+IBA0.1 mg/L	20	7	35	10	5	15
6-BA0.5 mg/L+IBA0.2 mg/L	20	7	35	15	0	15
6-BA1.0 mg/L+IBA0.05 mg/L	20	8	40	10	0	10
6-BA1.0 mg/L+IBA0.1 mg/L	20	12	60	5	5	10
6-BA1.0 mg/L+IBA0.2 mg/L	20	9	45	5	0	5

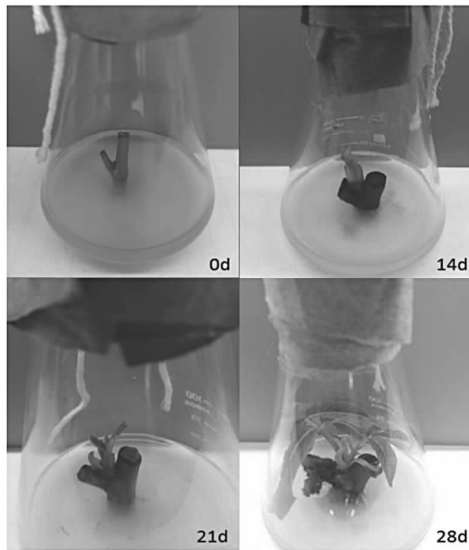


图 4 初代培养外植体生长状况

琼脂 8 g/L, pH 5.8。

### 2.3 继代培养状况

将萌发的腋芽小心剪下, 转接于改良 DKW 培养基 +6-BA 1.0 mg/L+IBA 0.1 mg/L 中。经过 42 d 的培养, 外植体生长状况良好(图5)。

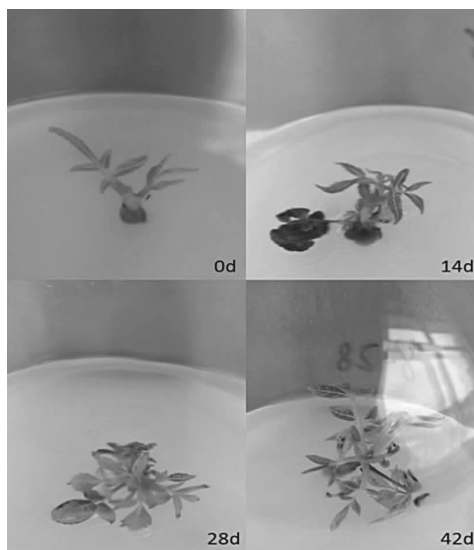


图 5 继代培养外植体生长状况

### 3 结论与讨论

对辽核 1 号核桃茎段组织培养快繁的研究表明, 用 75%乙醇 60 s, 0.1%氯化汞消毒 8 min 为最佳消毒时间。选择改良 DKW 为基本培养基, 最佳初代及继代培养基配比为: 改良 DKW 培养基 + 6-BA 1.0 mg/L+IBA 0.1 mg/L+ 蔗糖 30 g/L+ 琼脂 8 g/L, pH 5.8。

核桃组培过程中污染的发生及组织的褐化是核桃组织培养过程中最常见的现象, 也是核桃组织培养过程中的两大难题。这是由于微生物体积极其微小, 难以肉眼观察, 生活力强, 容易传播, 再加上操作者的操作手法、习惯不同, 以及外植体本身生理状态和环境因素的影响, 导致污染经常发生。褐化是外植体组织内酚类物质经多酚氧化酶氧化形成褐色的醌类物质的现象, 褐化后的外植体由于醌类物质对其抑制而生长缓慢, 甚至将导致外植体死亡<sup>[7]</sup>。目前, 核桃组培可采用 MS、DKW、WPM 培养基等, 但是 DKW 培养效果最好<sup>[8]</sup>。而污染和褐化始终是核桃组织培养过程中的两大顽疾, 常用消毒剂氯化汞能有效控制污染, 但处理时间过长会杀死植物组织, 虽能降低污染率, 但外植体的成活率也随之下降, 且氯化汞为重金属物质, 会对环境造成污染<sup>[9]</sup>。张燕等<sup>[10]</sup>利用青霉素和多菌灵处理外植体进行抗污染研究, 取得了很好的效果; 苗玉青等<sup>[11]</sup>研究发现, 在进行初代培养时, 利用低温处理外植体后, 适当的暗培养可以降低褐化程度。

我们经过 120 d 的试验研究, 采用改良 DKW 培养基, 进行初代培养, 筛选出了最佳初代培养基配比, 同时进行了继代培养, 诱导出无菌芽苗, 也对研究过程中出现的污染及褐化问题进行了很好的处理, 培养过程中没有出现大面积的污染及褐化, 具有统计学意义。下一步可进行组培苗生根培养、炼苗及驯化移栽等研究。

# 中晚熟玉米新杂交种德丰 717 选育报告

张有富<sup>1</sup>, 张爱萍<sup>1</sup>, 郭成<sup>2</sup>, 邢娟<sup>3</sup>

(1. 河西学院农业与生物技术学院, 甘肃 张掖 734000; 2. 甘肃省农业科学院植物保护研究所, 甘肃 兰州 730070; 3. 酒泉德利农丰农业科技有限公司, 甘肃 酒泉 735000)

**摘要:** 玉米杂交种德丰 717 是以自选系 WC658 为母本, 自选系 L76 为父本选育而成的普通杂交种。在 2014—2015 年甘肃省中晚熟水地 A 组区域试验中, 德丰 717 平均折合产量 14 947.5 kg/hm<sup>2</sup>, 较对照品种沈单 16 号增产 10.03%; 在中晚熟旱地 A 组区域试验中, 平均折合产量 11 463.0 kg/hm<sup>2</sup>, 较对照品种沈单 16 号增产 8.74%。德丰 717 属中晚熟品种, 生育期 139 d。苗期生长势强, 成株生长旺盛, 根系发达, 茎秆粗壮, 株型紧凑, 抗倒伏。株高 310 cm, 穗位高 121 cm, 穗长 19.8 cm, 穗粗 5.1 cm, 果穗筒形, 穗轴红色, 籽粒黄色、马齿型, 千粒重 384.4 g。适合在甘肃河西走廊、中部及陇东地区种植。

**关键词:** 玉米; 杂交种; 选育; 德丰 717

**中图分类号:** S513 **文献标志码:** A

**文章编号:** 1001-1463(2018)05-0039-03

[doi:10.3969/j.issn.1001-1463.2018.05.013](https://doi.org/10.3969/j.issn.1001-1463.2018.05.013)

玉米在甘肃农业中占的比例很大, 对保障甘肃省粮食安全、提高农业效益和增加农民收入有非常重要的作用。至 2015 年, 甘肃玉米种植面积达 100.9 万 hm<sup>2</sup>, 产量占全省粮食总产近一半<sup>[1]</sup>。甘肃省各地气候变化差异很大, 从东南到西北包括了北亚热带湿润区到高寒区、干旱区的各种气候类型, 选育高产、优质、广适性的玉米新品种是甘肃玉米育种的主要目标。

随着杂交种的推广, 玉米的种质资源在不断减少<sup>[2]</sup>。为了增加玉米育种的种质资源, 近年来甘肃选育或引进了很多不同类型的玉米新品种<sup>[3-6]</sup>。德丰 717 是适应甘肃省不同气候带种植的中晚熟、抗旱、高产、稳产、高适应性的玉米新品种, 它的选育和推广, 将有助于增加甘肃省玉米的种质资源, 加速甘肃省乃至西北春玉米区玉米品种更新换代的步伐。

**收稿日期:** 2018-01-25

**基金项目:** 国家重点研发计划(SQ2017ZY060067); 农业部公益性行业(农业)科研专项(201503112); 甘肃省科技厅科技支撑计划(1604NKCA063)。

**作者简介:** 张有富(1977—), 男, 甘肃民勤人, 副教授, 主要从事玉米育种科研及教学工作。联系电话: (0)13993694040。E-mail: zyf4391504@163.com。

**通信作者:** 郭成(1985—), 男, 甘肃会宁人, 在读博士, 主要从事玉米种质资源抗性鉴定研究。E-mail: gsguoch@126.com。

## 参考文献:

- [1] 张毅萍. 世界及我国核桃生产概况和几个问题[J]. 林业科技与市场信息, 2002(3): 52-55.
- [2] 封斌奎. 核桃营养保健功能与加工技术研究进展[J]. 陕西林业科技, 2015(1): 10-13.
- [3] 王新平, 孙慧英. 核桃的营养药用价值及加工利用[J]. 现代园艺, 2017(2): 20.
- [4] 杨海波, 王娟. 核桃外植体的组织培养[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(28): 17156-17157.
- [5] 于艳萍, 侯立群. 核桃组织培养技术研究综述[J]. 山东林业科技, 2012(5): 117-120.
- [6] 杨美平. 辽宁 1 号核桃组织培养技术[J]. 河北果树, 2014(4): 46.
- [7] 张燕, 何晖. 核桃组织培养中外植体褐变多酚氧化酶活性的控制[J]. 安徽农业科学, 2010, 38(20): 10553-10556.
- [8] 张小红, 闵东红, 康冰, 等. 核桃组织培养中外植体材料的初代培养研究[J]. 陕西林业科技, 2005(2): 6-8.
- [9] 伊书亮, 郭国宁. 核桃组织培养研究综述[J]. 安徽农学通报, 2009, 15(11): 58-60.
- [10] 张燕. 核桃组培快繁技术的研究[D]. 晋中: 山西农业大学, 2004.
- [11] 苗玉青, 李冠. 薄皮核桃组织培养与快速繁殖[J]. 新疆农业科学, 2010, 47(3): 503-507.

(本文责编: 刘 贇)