

量、分枝数量等形态指标均有不同程度的减少。此外,低水量处理更严重影响了金荞麦的生殖生长,继而影响了其繁育、生殖系统。

有大量研究表明,当土壤水分亏缺时,植株的各个构件生物量以及总生物量都会降低,这是因为植株细胞增大与增殖首先受到抑制,导致光合面积减小,生长速率降低,从而降低了生物量的积累^[14]。此外,生物量的分配比例在一定程度上能反映植株在受到水分胁迫时的生存对策,植株在地上部分生物量降低的同时,较多地提高根密度,即地下生物量,这有利于缓解植株在水分胁迫下水分、养分的供求矛盾^[14,15]。在本实验证实了以上观点,各构件生物量的配比随水分供应变化表现出了明显的差异,除了生殖器官花序外,水分变化可显著影响金荞麦植株其他各构件的生物量分配。与对照相比,高施水量处理对金荞麦植株主茎和叶片的生物量配置有抑制作用,对植株其他构件生物量的分配有促进作用;低施水量对金荞麦植株主茎、分枝茎和叶片的生物量配置有抑制作用,增大了根部生物量的比例,这有助于满足能量与物质的平衡供给,提高了它们在干旱逆境中的竞争效率。

参考文献:

- [1] 郑盛华,严昌荣.水分胁迫对玉米苗期生理和形态特性的影响[J].生态学报,2006,26(4):1140-1143.
- [2] 庄辉发,林位夫.水分胁迫对大芒幼苗生长性状及几个生理指标的影响[J].安徽农业科学,2008,36(11):4388-4390.
- [3] 王海洋,陈家宽.水位梯度对湿地植物生长、繁殖和生物量分配的影响[J].植物生态学报,1999,23(3):269-274.
- [4] 潘宏林,林静.金荞麦的生药学研究[J].中药材,2006,29(1):14-15.
- [5] 冯黎莎,陈放,白洁.金荞麦的抑菌活性研究[J].武汉植物学研究,2006,24(3):240-244.
- [6] 舒成仁,付志荣.金荞麦提取物药理作用的研究进展[J].医学导报,2006,25(4):328-329.
- [7] 杨明宏,卢进,张玉方,等.金荞麦采收 SOP 探讨与研究[J].世界科学技术中药现代化,2002,4(1):56-58.
- [8] 盛明智.金荞麦的栽培与商品化开发[J].现代医药卫生,2005,21(1):81-82.
- [9] 黄仁术.金荞麦的资源开发及其人工繁殖技术[J].中国种业,2008,8:79-81.
- [10] 陈微微,陈传奇,刘鹏,等.荞麦和金荞麦根际土壤铝形态变化及其生长的影响[J].水土保持学报,2007,21(1):176-179.
- [11] 肖冬梅,王森.水分胁迫对长白山阔叶红松林主要树种生长及生物量分配的影响[J].生态学杂志,2004,23(5):93-97.
- [12] 张昊,李鑫,姜凤和,等.水分对克氏针茅和冷蒿生殖生长的影响[J].草地学报,2005,13(2):106-110.
- [13] 尉秋实,赵明,李昌龙,等.不同土壤水分胁迫下沙漠蒿的生长及生物量的分配特征[J].生态学杂志,2006,26(1):7-12.
- [14] Givnish T.J. Adaptation to sun and shade: a whole-plant perspective[J]. Ann Rev Ecol Syst, 1980, 11: 233-260.
- [15] Pearson R.W. Soil environment and root development [A]. Peirre W.H. Plant Environment and Efficient water Use [C]. Madison: American Society Agronomy Soil Science American, 1966.

枯草芽孢杆菌对凤仙花离体快繁的影响

柴瑞娟¹,王玉良²,怒尔巴依·阿不都沙勒克^{3*}

(1. 安徽工程科技学院 生化系,安徽 芜湖 241000; 2. 安徽科技学院 生物系,安徽 凤阳 233100;

3. 新疆大学资源环境科学学院,新疆 乌鲁木齐 830046)

摘要:目的 研究生物因子(枯草芽孢杆菌)对凤仙花离体繁殖的影响。方法 采用不同浓度枯草芽孢杆菌(0 , 5×10^4 、 5×10^5 、 5×10^6 、 5×10^7 、 5×10^8 个/mL)处理凤仙花后,以其叶和茎为外植体,接种于 MS + 0.5 mg/L NAA + 0.5 mg/L 6-BA 培养基上进行愈伤组织诱导和植株再生。结果 无论是叶还是茎作外植体,经 5×10^5 个/mL 浓度的菌液处理后愈伤组织诱导率最高(叶:95.3%,茎:13.3%),与对照差异极显著。经 5×10^5 个/mL 浓度的菌液处理后的幼苗生长速度也最快,50 d 便达到了移栽要求。结论 适当浓度的枯草芽孢杆菌处理有利于凤仙花的离体繁殖。

关键词:凤仙花;枯草芽孢杆菌;植物组织培养

中图分类号:R282.2

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2009)09-1459-04

Effects of *Bacillus subtilis* on rapid clonal propagation of *Impatiens balsamina*

CHAI Rui-juan¹, WANG Yu-liang², ABDUSALIH · Nurbay³

(1. Department of Biochemistry Engineering, Anhui University of Science and Technology, Wuhu 241000, China;

* 收稿日期:2008-12-11

基金项目:国家重点基础研究发展规划资助项目(G1999043508);安徽工程科技学院青年科研基金(2003 YQ004);安徽工程科技学院青年教师科研资助项目(2008rzr004);安徽省高校省级自然科学基金项目(KJ2009B1232)

作者简介:柴瑞娟(1975—),女,内蒙古人,硕士,讲师,主要从事植物生物技术方面的研究。

Tel:13965185093 E-mail:chairuijuan@163.com

2. Department of Biology, Anhui Science and Technology University, Fengyang 233100, China; 3. College of Resource and Environment Science, Xinjiang University, Urumqi 830046, China)

Abstract : Objective To study if *Bacillus subtilis* can affect the rapid clonal propagation of *Impatiens balsamina* **Methods** To treat *I. balsamina* by *B. subtilis*, at different concentration of 0.5×10^4 , 5×10^5 , 5×10^6 , 5×10^7 , and 5×10^8 cfu/mL, then it was cultured on MS + 0.5 mg/L NAA + 0.5 mg/L 6-BA with leaves and stems as explants. **Results** The rate of callus induction was the highest by 5×10^5 cfu/mL, they were 95.3 % (leaf as explant) and 13.3 % (stem as explant), and analysis (*t* test) was remarkable. Meanwhile, young plant grew faster and better by 5×10^5 cfu/mL than other treatments, and could be transplanted to garden soil after 50 d. **Conclusion** *B. subtilis* is favorable for the rapid clonal propagation of *I. balsamina*

Key words : *Impatiens balsamina* L. ; *Bacillus subtilis*; plant tissue culture

凤仙花 *Impatiens balsamina* L. 为凤仙花科凤仙花属植物^[1],为一年生草本,是我国广泛种植的观赏花卉和传统中药材,全草及种子均可入药,种子入药称急性子,具有破血、消积的功效。目前,很多学者对凤仙花进行了多方面研究^[2~6],但未见有用枯草芽孢杆菌处理凤仙花后再研究其离体快繁的报道。枯草芽孢杆菌是广泛使用的生防微生物制剂,在农作物^[7,8]和水产动物^[9]上均有应用,但文献表明还从未有人用枯草芽孢杆菌处理过凤仙花。本实验首次研究了枯草芽孢杆菌对凤仙花离体繁殖的影响。

1 材料与方法

1.1 材料:光照培养箱、超净工作台、显微镜、灭菌锅、振荡培养箱等;70 %酒精、HgCl₂、NaCl、KNO₃、KI、H₃BO₃等,均为分析纯。急性子(凤仙花种子),购于亳州药材公司,经安徽科技学院生物系王玉良老师鉴定。

1.2 方法

1.2.1 种子萌发:取培养皿 30 个,分为 6 组,每组 5 个,铺两层滤纸后每皿放 10 粒经挑选后的凤仙花种子,光照培养箱(25 ℃)萌发。

1.2.2 枯草芽孢杆菌处理:制备枯草芽孢杆菌菌悬液^[10],蒸馏水稀释,浓度分别为 5×10^4 、 5×10^5 、 5×10^6 、 5×10^7 、 5×10^8 个/mL,以蒸馏水为对照。每天 2 次用相应浓度的菌悬液浇灌凤仙花种子,每次 20 mL,待幼苗长到 4~5 叶期时取试。

1.2.3 叶、茎的诱导:取不同菌液浓度处理后的凤仙花幼苗的叶片和茎(均 100 个)作外植体(叶片 0.5 cm × 0.5 cm,茎长 0.5 cm),经 0.1 %升汞和 70 %酒精消毒^[11],重蒸水冲洗干净后接种于 MS^[12] + 0.5 mg/L NAA + 0.5 mg/L 6-BA 培养基上培养。计算愈伤组织和器官诱导率。

愈伤组织诱导率 = 长出愈伤组织的外植体数/

接种的外植体总数 × 100 %

器官诱导率 = 长出器官的愈伤组织数/愈伤组织总数 × 100 %

1.3 统计分析:将对照和不同菌液浓度处理的数据进行 *t* 检验。

2 结果与讨论

2.1 枯草芽孢杆菌处理后不同外植体(叶、茎)愈伤组织的诱导:从表 1 可以看出,接种 15 d 后观察,叶作外植体的所有组合均能诱导出愈伤组织,而茎作外植体却只有一半组合能诱导出愈伤组织,且诱导率均偏低,表明凤仙花幼叶愈伤组织的诱导要比茎更容易。即使茎诱导出愈伤组织(图 1),生长也不是很良好,生长很慢,大多数外植体茎玻璃化,但未发现 1 例污染;而叶诱导出的愈伤组织(图 1),生长很快,呈绿色,个别有红色色素,个别外植体叶玻璃化,也未发现一例污染。因此,凤仙花离体繁殖时宜用叶作外植体。同时,可以看出无论是茎还是叶作外植体, 5×10^5 个/mL 菌液浓度处理对愈伤组织的诱导最有利,与对照相比差异极显著($P < 0.01$)。

表 1 凤仙花不同外植体(叶、茎)愈伤组织的诱导

菌液处理/(个·mL ⁻¹)	NAA+6BA/(mg·L ⁻¹)	叶出愈率/%	茎出愈率/%
0	0.5+0.5	53.2a	3.3a
5×10^4	0.5+0.5	60.8a	0.0a
5×10^5	0.5+0.5	95.3b **	13.3b **
5×10^6	0.5+0.5	72.1a	7.5b *
5×10^7	0.5+0.5	68.0a	0.0a
5×10^8	0.5+0.5	65.2a	0.0a

与对照组相比: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$;相同字母表示差异不显著,不同字母表示差异显著(表 2 同)

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group, same letters represent no significant difference, different letters represent significant difference (Table 2 is same)

从表 2 可以看出,接种一个月后,大多组合都能诱导出器官,如 5×10^7 个/mL 组合诱导出不定芽(图 1), 5×10^8 个/mL 组合诱导出不定根(图 1),只有 5×10^6 个/mL 和 5×10^4 个/mL 这两个组合没

有器官生成,表明凤仙花以叶作外植体是相对容易进行器官诱导的。但在这些不同菌液浓度组合下 5×10^5 个/mL 的诱导结果最好,愈伤已分化成明显的幼苗(图 1)。

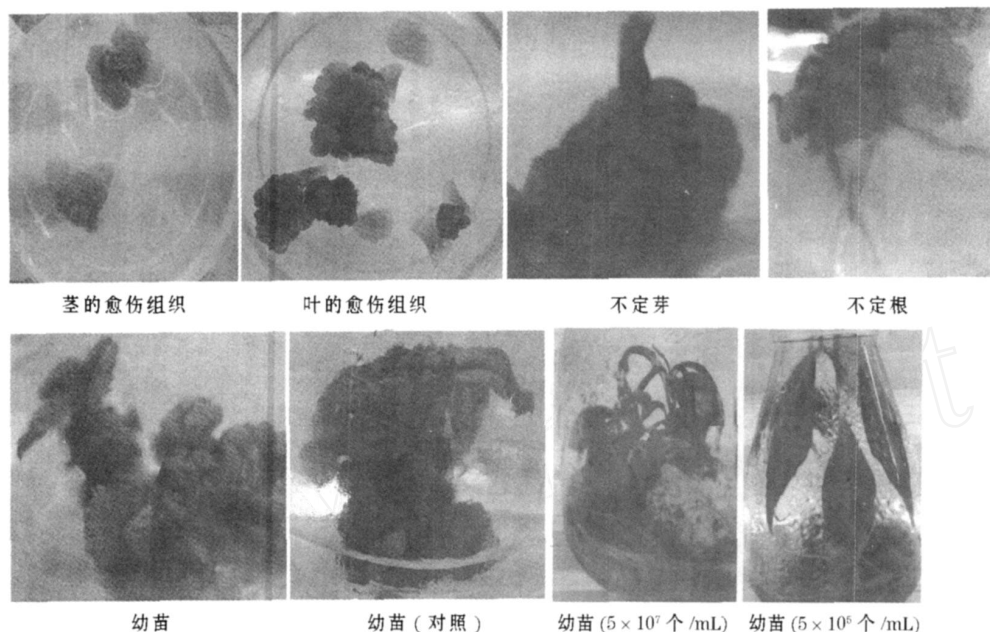


图 1 枯草芽孢杆菌对凤仙花离体快繁的影响

Fig. 1 Effect of *B. subtilis* on rapid clonal propagation of *I. balsamina*

表 2 不同浓度枯草芽孢杆菌对凤仙花器官诱导的影响

Table 2 Effect of *B. subtilis* at different concentration on organ induction of *I. balsamina*

菌液处理/(个 $\cdot$ mL $^{-1}$)	NAA+6-BA/(mg $\cdot$ L $^{-1}$)	生根率/	出芽率/%	说 明
0	0.5+0.5	0.0 a	62.5 a	愈伤组织小,芽也小
5×10^4	0.5+0.5	0.0 a	0.0 b **	愈伤小,无不定根或芽
5×10^5	0.5+0.5	90.4 b **	97.6 b *	愈伤最大,有幼苗生长
5×10^6	0.5+0.5	0.0 a	0.0 b **	只有愈伤生长,无根或芽
5×10^7	0.5+0.5	0.3 a	78.9 a	愈伤生长,有芽
5×10^8	0.5+0.5	80.5 b **	0.0 b **	愈伤生长,有根

2.2 不同浓度枯草芽孢杆菌对凤仙花幼苗生长的影响:接种 50 d 后观察,对照组的幼苗(图 1)和其他菌液浓度(如 5×10^7 个/mL)处理下的幼苗还很幼小(图 1),而 5×10^5 个/mL 菌液浓度处理下的幼苗生长最佳(图 1),已达到移栽要求,表明 5×10^5 个/mL 菌液浓度的枯草芽孢杆菌处理有助于凤仙花离体繁殖中幼苗的生长。

3 讨论

组织培养技术是一种成熟的植物无性繁殖方式,在植物组培中,影响愈伤组织诱导和器官发生的因素很多,如激素的种类和浓度^[13],培养基的配制^[14]等,除了这些众所周知的因素外,还有许多物理、生物、化学等方面的因素也可影响植物离体繁殖。而探讨这些因子对组织培养的影响是目前生物

技术研究领域的热点之一。通过用不同浓度的枯草芽孢杆菌处理供试材料进行实验,结果表明,适当菌液浓度(5×10^5 个/mL)处理后有利于凤仙花组培中愈伤组织和器官的诱导,也有利于幼苗的生长,大约生长 50 d 后就可长成可移栽的幼苗,而对照和其他浓度组合处理后至少需 3 个月才能达到要求,说明适当的微生物试剂处理是有利于凤仙花组培及幼苗生长的,此研究为提高植物离体繁殖率提供了一条新的途径。枯草芽孢杆菌对其他材料离体快繁的影响正在研究中。

参考文献:

- [1] 鞠培俊,孔德云,李晓波. 凤仙花化学成分及药理作用研究进展[J]. 沈阳药科大学学报, 2007, 24(5): 320-324.
- [2] 蔡秀珍,刘克明,刘锦辉,等. 凤仙花属两种植物花粉的扫描电镜制样研究[J]. 激光生物学报, 2007, 16(1):

- 109-111.
- [3] 张秀丽,李劲涛,杨 军,等. 凤仙花花逆转突变体的组织学研究[J]. 园艺学报,2007,34(6): 1503-1508.
- [4] 胡喜兰,韩照祥,刘玉芬,等. 凤仙花提取物的抗氧化活性研究[J]. 食品科学,2007,28(2): 48-50.
- [5] 刘 静,丁 兰,赵庆芳,等. 凤仙花的组织培养与离体快繁[J]. 西北师范大学学报(自然科学版),2008,44(1): 80-82.
- [6] Wang M B, Feng H, Yuan S. Rapid clonal propagation of *Impatiens balsamina* mosaic flower mutant induced by space flight [J]. *J Sichuan Univ: Nat Sci*, 2007, 44(6): 1349-1353.
- [7] 谭贵娥,何池全,陆晓怡. 外源微生物强化蕹菜对铅的吸收与积累研究[J]. 农业环境科学学报,2008,27(1): 82-85.
- [8] 陈 弟,殷晓敏,张荣意. 内生枯草芽孢杆菌 B215 对香蕉炭疽菌抑制作用初探[J]. 广西热带农业,2008,114(1): 1-2.
- [9] 温 俊,孙 鸣. 枯草芽孢杆菌制剂对牙鲆生长性能的影响[J]. 饲料研究,2008,3: 59-61.
- [10] 沈 萍,范秀容,李广武. 微生物学实验[M]. 北京:高等教育出版社,1999.
- [11] Kritzing E M, Van Vuuren R J, Woodward B, et al. Elimination of external and internal contaminants in rhizomes of *Zantedeschia aethiopica* with commercial fungicides and antibiotics [J]. *Plant Cell Tissue Organ Cult*, 1998, 52(1-2): 61-65.
- [12] 曹孜义,刘国民. 实用植物组织培养技术教程[M]. 兰州:甘肃科学技术出版社,2001.
- [13] 刘金朗. 植物生长调节剂在马蹄莲组培与快繁中的生理效应[J]. 植物生理学通讯,2005,41(2): 185.
- [14] 张志扬,陈信波,张 瑜,等. 亚麻组织培养高频不定芽诱导体系[J]. 植物学通报,2007,24(5): 629-635.

黄独的茎尖培养和病毒检测

尹明华,洪森荣*

(上饶师范学院 生命科学系,江西 上饶 334001)

摘 要:目的 以黄独为试材,研究不同因素对黄独茎尖培养的影响,以期找到适合黄独茎尖分化成苗的培养基和脱毒检测方法。方法 采用植物组织培养的方法进行茎尖培养,采用症状学法、指示植物法和 RT-PCR 法对茎尖脱毒植株进行病毒检测。结果 黄独茎尖的最佳消毒方式是先用 70%酒精消毒 30 s,再用 0.1% HgCl₂ 消毒 12 min;在 37℃ 中热处理 7 d 后再切离 0.5 mm 茎尖效果更佳。茎尖再生芽增殖的最佳培养基是 MS + KT 2 mg/L + NAA 0.5 mg/L;黄独茎尖再生芽的最适生根培养基为 1/2 MS + NAA 0.5 mg/L;黄独脱毒苗最好的移栽基质为珍珠岩-蛭石 (2:1);RT-PCR 法是检测黄独马铃薯 Y 病毒(PVY)感染的主要方法,通过病毒学检测,其平均脱毒率为 86.5%。结论 首次建立了黄独茎尖脱毒培养的体系,为黄独脱毒苗的快速繁殖及工厂化生产奠定了技术基础。

关键词:黄独;茎尖培养;病毒检测;RT-PCR

中图分类号:R282.2

文献标识码:A

文章编号:0253-2670(2009)09-1462-05

Shoot tip culture and virus detection of *Dioscorea bulbifera*

YIN Ming-hua, HONG Sen-rong

(College of Life Sciences, Shangrao Normal University, Shangrao 334001, China)

Abstract : Objective Effects of different factors on shoot tip culture *in vitro* were studied by using *Dioscorea bulbifera* as test material to find the media suitable to the shoot tip differentiation of *D. bulbifera* and the method of virus detection. **Methods** Plant tissue culture method was used in shoot tip culture and the symptom observation method, instruction plant method, and RT-PCR method were used in virus detection of virus-free plantlets. **Results** The best disinfection method for *D. bulbifera* shoot tips was firstly disinfected for 30 s with 70% alcohol and then disinfected for 12 min with 0.1% HgCl₂; It is better for *D. bulbifera* to cut shoot tips in 0.5 mm length after 37℃ heat treatment for 7 d; The best proliferation medium of *D. bulbifera* shoot tips was MS + KT 2 mg/L + NAA 0.5 mg/L; The best rooting medium of regeneration buds from *D. bulbifera* shoot tips was 1/2 MS + NAA 0.5 mg/L; The best matrix of regeneration plantlets from *D. bulbifera* shoot tips was perlite-vermiculite (2:1); RT-PCR Method was primary mean to detect potato virus Y (PVY) of regeneration plantlets from *D. bulbifera* shoot tips, and average rate of PVY-free was 86.5% by RT-PCR. **Conclusion** The virus-free culture system of *D. bulbifera*

* 收稿日期:2008-11-12

基金项目:江西省教育厅科技项目(GJJ09374);上饶师范学院 2009-2010 年度校级科技项目(SR0911)

作者简介:尹明华,女,硕士,讲师,研究方向为生物技术。

*通讯作者 洪森荣