

李 鹏,刘济明,文爱华,等.小蓬竹根际土壤可培养细菌多样性[J].江苏农业科学,2016,44(7):223-227.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.07.062

小蓬竹根际土壤可培养细菌多样性

李 鹏^{1,2},刘济明¹,文爱华¹,高 攀¹,王军才¹,莫会影¹

(1. 贵州大学林学院,贵州贵阳 550025;2. 贵州科学院贵州省山地资源研究所,贵州贵阳 550001)

摘要:以罗甸县小蓬竹根际土壤为研究对象,采用稀释平板法调查土壤微生物数量,并挑选菌落形态存在差异的细菌菌株,对其 16S rDNA 序列进行分析,构建系统发育树,研究根际土壤可培养细菌多样性,为小蓬竹的保护以及喀斯特山地土壤微生物多样性研究提供一定的理论依据和技术支撑。结果表明:小蓬竹根际土壤微生物数量由多到少为细菌>放线菌>真菌,干土中所含细菌、真菌、放线菌的平均数量分别为 8.32×10^7 、 9.19×10^5 、 2.32×10^6 CFU/g。分离纯化共获得菌落表型差异的细菌 41 株,16S rDNA 有效序列进行 Blast 比对,可划分为 26 个分类单元,Shannon-Wiener 多样性指数 H 为 1.067 9,丰富度指数 S 为 7,均匀度指数 J 为 0.548 8,优势度指数 D 为 0.521 7。基于细菌 16S rDNA 序列建立系统发育树,结果表明:30 株细菌属于厚壁菌门(Firmicutes)(按单元种类数计算所占比例为 73.17%),10 株属于变形菌门(Proteobacteria)(24.39%),1 株属于拟杆菌门(Bacteroidetes)(2.44%),其中芽孢杆菌属(*Bacillus*)占绝对优势。由结果可知,小蓬竹根际土壤中含有较为丰富的微生物多样性。

关键词:小蓬竹;根际土壤;可培养细菌;微生物多样性

中图分类号: S154.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)07-0223-04

根际微生物是指存在于植物根系微区直接影响土壤的结构、生物化学活性及土壤养分利用效率^[1]的微生物类群,主要包括细菌、放线菌、真菌、藻类和原生动物等。根际土壤微生物具有数量庞大、种群结构复杂、代谢旺盛、繁殖速度快等特点,推动土壤物质与能量的流动,将土壤微生物种群、数量以及分布作为评价土壤生态环境质量的重要指标。根际微生物的研究越来越受到学者的重视^[2-3],国内有关茶树^[4](*Camellia sinensis*)、烤烟^[5](*Nicotiana tabacum*)、槟榔^[6](*Semen arecae*)、野生稻^[7](*Oryza rufipogon*)根际微生物的研究较多。但是对喀斯特地区土壤微生物种群多样性的研究相对较少,针对于小蓬竹根际土壤微生物种群多样性的研究更是一片空白。

小蓬竹[*Drepanostachyum luodianense* (Yi et R. S. Wang) Keng f.]对于喀斯特环境具有很好的生境适应性以及较强的抗逆性,在裸露的喀斯特石山甚至悬崖上均有广泛分布^[8]。丛生的小蓬竹的枝叶可较好地覆盖裸露的岩层,提高喀斯特地区植被的覆盖率,其地下部分可以减少水土流失、改良土壤理化性质,进而提高土壤活力。在石漠化治理中关于石漠化地区植被恢复物种的选择上,小蓬竹完全可以作为一个很好的候选物种。因此,开展小蓬竹根际微生物研究,掌握小蓬竹根际土可培养微生物数量及种群结构,对于小蓬竹的保护、丰富喀斯特地区土壤和竹类微生物资源,都具有很好的理论及

现实意义。

本研究采用稀释平板法统计小蓬竹土壤微生物数量,分离纯化其根际土壤中的细菌,并基于 16S rDNA 序列特征对分离的菌株进行系统发育分析,初步获得小蓬竹根际细菌的物种多样性信息,以期为进一步开展小蓬竹对恶劣的喀斯特生境适应性与微生物关系研究和喀斯特地区微生物资源的开发利用提供一定的理论支撑。

1 材料与方法

1.1 土样的采集与处理

于 2014 年 5 月上旬,选择小蓬竹主产区罗甸,该区域为典型的喀斯特丘陵地貌,小蓬竹群落分布较为典型。试验地位于坡下位,地理位置为 106°45'17"E、25°30'39"N,平均海拔 757 m,土壤为典型的喀斯特石灰土,土壤肥力较高,pH 值为 7.68。沿等高线分别设置 5 个样地(5 m×5 m),在各样方随机选 10 株竹,沿着竹基部挖取健康根系,采集土壤的深度为 5~20 cm,连同根系一起装入无菌袋中并注明采集地点、日期、土样号(轻轻抖动 1 min,取附着根系 2 mm 左右的土壤为根际土)^[9]。试验用小蓬竹根际土壤为 5 个样地采集的等量混合土壤样品,土样冰箱低温保存(4℃),以进行微生物的分离和计数(1 周内分离)。

1.2 根际微生物的分离计数

(1)细菌分离和培养采用牛肉膏蛋白胨培养基:牛肉膏 3.0 g,蛋白胨 10.0 g,NaCl 5.0 g,琼脂 15~25 g,加水补足至 1 000 mL,pH 值 7.4~7.6。(2)真菌分离培养采用马丁氏-孟加拉红培养基:KH₂PO₄ 1 g,MgSO₄·7H₂O 0.5 g,蛋白胨 5 g,葡萄糖 10 g,1/3 000 孟加拉红(Rose Bengal)100 mL,琼脂 15~20 g,加水补足至 1 000 mL,pH 值自然。培养基也可以加入青霉素,加入量为 100 U/mL,同时加入庆大霉素 160 U/mL,主要是为了抑制细菌的生长,减少干扰性。(3)放

收稿日期:2015-06-10

基金项目:贵州省国际科技合作计划[编号:黔科合外 G 字(2013)7010 号];贵州大学研究生创新基金(编号:研农 2014028)。

作者简介:李 鹏(1987—),男,硕士研究生,主要从事野生植物保护与利用研究。E-mail:lp761410952@163.com。

通信作者:刘济明,博士,教授,主要从事植物生态学研究。E-mail:karst0623@163.com。

线菌培养采用改良高氏 1 号培养基:可溶性淀粉 20 g,KNO₃ 1 g,K₂HPO₄ 0.5 g,MgSO₄ · 7H₂O 0.5 g,NaCl 0.5 g,FeSO₄ · 7H₂O 0.01 g,琼脂 20 g,pH 值 7.4 ~ 7.6 (每 300 mL 培养基中加 3% 重铬酸钾 1 mL)。

牛肉膏蛋白胨培养基、孟加拉红培养基、PDA 培养基和改良的高氏 1 号培养基于 121 ℃ 灭菌 20 min,土壤微生物的分离计数每种培养基倒 6 皿,纯化时每种培养基倒 3 皿,凝固成平板备用。

采用稀释平板涂法,在无菌培养皿中倒入 15 ~ 20 mL 选择性培养基,待凝固后,用无菌移液枪吸取 0.1 mL 各稀释度的土壤悬液,不同浓度稀释度的土壤悬液在牛肉膏蛋白胨培养基、高氏 1 号培养基和孟加拉红琼脂培养基平板上进行涂布培养。细菌于 37 ℃ 培养 2 ~ 4 d,放线菌于 28 ℃ 培养 7 d,真菌于 28 ℃ 培养 5 d,然后进行分离、计数(细菌和放线菌的最佳计数的菌落形成单位在 30 ~ 300 个之间,真菌的菌落形成单位在 10 ~ 100 个之间)。

1.3 细菌 16S rDNA 的扩增

采取购买的生工生物工程(上海)股份有限公司 Ezup 柱式细菌基因组 DNA 抽提试剂盒提取分离纯化的细菌基因组 DNA,提取之后的 DNA 选用细菌通用引物(正向引物 27 F;反向引物 1495 R)对细菌、放线菌的 16S rDNA 扩增,然后采用 1.2% 琼脂糖凝胶(含 0.5 mg/L 溴化乙锭)电泳检测。

选用细菌通用引物^[10](正向:27 F,5′ - AGAGTTTGATC-CTGCTCAG - 3′;反向:1 495 R,5′ - CTACGGCTACCTGT-TALGA - 3′),采用适宜的反应条件,对 16S rDNA 进行 PCR 扩增。正向引物 27F、反向引物 1 495R 分别位于大肠埃希氏菌(*Escherichia coli*) 16S rDNA 序列的 8 ~ 27 位和 1 495 ~ 1 514 位的碱基位置上。

细菌采用 50 μL 的 PCR 反应体系: *Taq* PCR Master Mix 25 μL;基因组 DNA 模板 1 μL;正向引物 27F 2 μL;反向引物 1495R 2 μL;Nuclease - free ddH₂O 20 μL。扩增程序:94 ℃ 3 min;94 ℃ 3 min,51 ℃ 1 min,72 ℃ 3 min,30 个循环;72 ℃ 5 min,4 ℃ 保存。用 1.2% 琼脂糖凝胶(含 0.5 mg/L 溴化乙锭)电泳进行检测。

1.4 16S rDNA 序列分析

PCR 扩增产物送英潍捷基(上海)贸易有限公司(Invitrogen)测序,测序后登陆 GenBank 对比,利用 GenBank 通过 BLAST 对测序结果进行比对分析,下载最相近菌株的 16S rDNA 序列,用 Clustal X^[11] 按照最大同源性的原则进行排序,采用 Kimura 2(Kimura,1980)计算核苷酸差异值^[12],再采用 Neighbor - Joining^[13] 构建系统进化树,自展数(bootstrap)为 1 000。

1.5 细菌种群的多样性分析

定义 16S rDNA、ITS rDNA 序列同源性 >97% 作为同一分类单元^[14],采用 Shannom - Wiener 指数(*H*)、均匀度(Pielou)指数(*J*)、丰富度指数(*S*)和 Simpson 优势度指数(*D*),分析小蓬竹根际土壤环境的微生物多样性特征。

多样性 Shannom - Wiener 指数:

$$H = - \sum_{i=1}^S P_i \ln P_i。$$

式中:*P_i* 为第 *i* 种的多度比例,可表示为 *P_i* = *N_i* / *N*, *N_i* 为属 *i*

的单菌落数量,*N* 为根际土样的所有菌株数之和。

Pielou 指数:

$$J = - \sum_{i=1}^S P_i \ln P_i / \ln S。$$

式中:*S* 为分类单元,可表示为属(种) *i* 所在根际土壤中属(种)的数目。

根际土壤中不同物种所起的作用及所占的地位,选用 Simpson 优势度指数表示,公式如下:

$$D = \sum P_i^2。$$

2 结果与分析

2.1 小蓬竹根际土壤微生物数量分析

由表 1 可知,干土中微生物数量由多到少为细菌 > 放线菌 > 真菌,细菌在根际土壤中占绝对优势,占根际土壤微生物总数的 96.25%。小蓬竹根际土壤中,干土中约含有细菌 8.32 × 10⁷ CFU/g,与张友杰等对烤烟不同生育期根际土壤微生物含量变化的研究(3.73 × 10⁷ 个/g 干土)结果^[15]在同一数量级;约含放线菌 2.32 × 10⁶ CFU/g,比雍太文等对不同种植模式下小麦土壤根际微生物数量研究结果(2.3 × 10⁵ ~ 3.8 × 10⁵ 个/g 干土)结果^[16]高 1 个数量级;约含真菌 9.19 × 10⁵ CFU/g,与殷瑶等对不同年龄麻疯树林土壤放线菌、真菌(14.68 × 10⁴ ~ 22.46 × 10⁴ CFU/g)的研究结果^[17]在同一数量级。

表 1 小蓬竹根际土壤微生物数量分析

微生物种类	数量 (CFU/g)	百分比 (%)
细菌	(8.32 ± 1.75) × 10 ⁷	96.25
真菌	(9.19 ± 1.05) × 10 ⁵	1.06
放线菌	(2.32 ± 0.27) × 10 ⁶	2.69
微生物总数	8.64 × 10 ⁷	100.00

2.2 小蓬竹根际土壤细菌种群多样性分析

利用牛肉膏蛋白胨培养基对小蓬竹根际土壤的 41 株细菌分离培养物的 16S rDNA 进行测定,共获得 41 条有效序列。登陆 GenBank,进行相似性对比表明,它们分属于 7 属 26 种。小蓬竹根际土壤细菌 Shannon - Wiener 多样性指数 *H* 为 1.067 9,丰富度指数 *S* 为 7,均匀度指数 *J* 为 0.548 8,及优势度指数 *D* 为 0.521 7。土壤细菌菌株与数据库中已知细菌的 16S rDNA 具有较高的相似度,从 97% 到 99% 不等(表 2)。

细菌 16S rDNA 序列的系统发育树结果(图 1)显示,所得 41 条有效序列主要分属 3 大类群。其中 30 株细菌属于厚壁菌门(Firmicutes)(按单元种类数计算所占比例为 73.17%),10 株属于变形菌门(Proteobacteria)(24.39%),1 株属于拟杆菌门(Bacteroidetes)(2.44%)。

厚壁菌门在小蓬竹根际细菌种类中所占比例较高,成为根际可培养细菌的最优势类群。该类群 29 株细菌(68.4%)均与芽孢杆菌属(*Bacillus*)关系密切,细菌 16S rDNA 序列除 B - 107 与 *Bacillus* sp. CL1.8(AM934693.1)的相似度为 97% 外,其余均为 99%,相似度极高;仅 1 株与动物球菌属(*Planococcus*)关系密切,16S rDNA 序列相似度为 98%。

变形菌门为分离得到的第二大优势类群,其中 5 株与溶杆菌属(*Lysobacter* spp.)关系密切,细菌 16SrDNA 序列相似

表 2 分离细菌的 16S rDNA 序列相似性分析

类群	代表菌株	碱基数	菌株数	最相近菌种 (登录号)	序列相似性 (%)
芽孢杆菌属	B-1	1 440	1	<i>Bacillus thuringiensis</i> (HM585282.1)	99
	B-2	1 447	1	<i>Bacillus thioparans</i> (FR695446.1)	99
	B-5	1 442	5	<i>Bacillus acidicer</i> (KJ575070.1)	99
	B-8	1 450	2	<i>Bacillus toyonensis</i> BCT-7112(CP006863.1)	99
	B-13	1 448	1	<i>Bacillus simplex</i> (KM888120.1)	99
	B-14	1 450	2	<i>Bacillus</i> sp. Ha27(JX949204.1)	99
	B-16	1 451	1	<i>Bacillus cereus</i> (KF835392.1)	99
	B-19	1 446	4	<i>Bacillus simplex</i> (KJ831619.1)	99
	B-32	1 447	1	<i>Bacillus</i> sp. Ho-1(FJ941850.1)	99
	B-35	1 445	1	<i>Bacillus licheniformis</i> (KJ526844.1)	99
	B-76	1 445	1	<i>Bacillus megaterium</i> (KJ528875.1)	99
	B-87	1 447	1	<i>Bacillus idriensis</i> (JQ956518.1)	99
	B-98	1 448	1	<i>Bacillus</i> sp. MHS035(DQ993300.1)	99
	B-101	1 446	1	<i>Bacillus simplex</i> (LK391525.1)	99
	B-102	1 456	1	<i>Bacillus</i> sp. ITCr36(FR823407.1)	99
溶杆菌属	B-107	1 446	1	<i>Bacillus</i> sp. CL1.8(AM934693.1)	97
	B-114	1 460	3	<i>Bacillus weihenstephanensis</i> (KJ127234.1)	99
	B-115	1 447	1	<i>Bacillus</i> sp. 5 138(KC236668.1)	99
	B-6	1 435	1	<i>Lysobacter</i> sp. R7-567(JQ659897.1)	99
	B-27	1 437	4	<i>Lysobacter</i> sp. BBCT65(EF471226.1)	99
假单胞菌属	B-24	1 425	1	<i>Pseudomonas monteili</i> (KJ819565.1)	99
	B-85	1 428	1	<i>Pseudomonas</i> sp. JSPB3(JQ308616.1)	99
动性球菌属	B-116	1 459	1	<i>Planococcus</i> sp. (JX505343.1)	99
金黄杆菌属	B-12	1 411	1	<i>Chryseobacterium</i> sp. WG4(FN691776.1)	99
贪铜菌属	B-20	1 425	2	<i>Cupriavidus oxalaticus</i> (KF815692.1)	99
鞘氨醇单胞菌属	B-92	1 391	1	<i>Sphingomonas</i> sp. (JQ815622.1)	98

度为 99% ;2 株与假单胞菌属(*Pseudomonas*) 关系密切,16S rDNA 序列相似度为 99% ;2 株与贪铜菌属(*Cupriavidus*) 密切相关,16S rDNA 序列相似度为 99% ;反 1 株与鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*) 关系密切,16S rDNA 序列相似度为 98% 。

1 株拟杆菌门(*Bacteroidetes*) 的细菌(B-12) 与金黄杆菌属(*Chryseobacterium*) 关系密切,16S rDNA 序列相似度为 99% 。

3 讨论

3.1 小蓬竹根际土壤微生物数量

小蓬竹根际土壤干土中所含微生物总数为 8. 64 × 10⁷ CFU/g,总体上小蓬竹根际土壤中微生物总数较多,细菌数量占优势,防线菌次之、真菌数量较少。花棒微生物总数及细菌、真菌、放线菌数量均高于小蓬竹根际土壤微生物数量^[18]。灰木莲人工林地土壤微生物春、秋、冬季 2 种林地都是细菌 > 放线菌 > 真菌^[19]。华菊玲等对连作芝麻根际土壤微生物群落的研究表明,新生、连作 2、5 年芝麻地微生物数量与本研究的微生物细菌、真菌、放线菌数量都在同一数量级^[20]。

3.2 小蓬竹根际土壤细菌多样性

小蓬竹根际土壤细菌主要分为三大类,分别为厚壁菌门、变形菌门、拟杆菌门。李潞滨等研究发现,毛竹、冷箭竹共有细菌类群厚壁菌门、变形菌门^[21],其中在毛竹的厚壁菌门方面,本研究结果与之较为相似。小蓬竹细菌类群的芽孢杆菌属占绝对优势,与竹林根际可培养微生物种群多样性分析结果^[22]一致。虽然小蓬竹与冷箭竹(*Bashania fangiana*)^[23]、毛

竹(*phyllostahys pubescens*)^[21] 根际土壤微生物种类之间存在一定的相似性,但具有其自身特有的菌群结构。

本研究仅采用牛肉膏蛋白胨单一培养基分别对小蓬竹根际土壤细菌进行分离研究,初步揭示了小蓬竹根际土壤特有生境中微生物种群的组成特征,但仍然存在一定的局限性。应采用多种有效的培养基对土壤样品进行更为全面的分离培养,将充分了解小蓬竹根际可培养微生物细菌种群的完整信息。此外,由于自然环境中大部分微生物不能通过常规方法进行培养,应用传统的微生物分离培养方法研究土壤微生物区系将导致微生物多样性严重丢失^[24]。对于小蓬竹根际土壤未培养或不能培养的微生物,非常有必要采用不依赖纯培养的分子生物学方法,以获取更全面的小蓬竹根际微生物多样性信息。

参考文献:

[1] Schippers B. Interaction of deleterious and beneficial rhizosphere microorganisms and the effect of cropping practices [J]. Ann Rev Phytopathel,1987,25(3):339-358.

[2] Hartmann A, Schmid M, Tuinen D, et al. Plant-driven selection of microbes [J]. Plant and Soil,2009,321(1/2):235-257.

[3] 章家恩,刘文高,胡刚. 小同土地利用力式下土壤微生物数量与土壤肥力的关系 [J]. 土壤与环境,2002,11(2):140-143.

[4] 孙海新,刘训理. 茶树根际微生物研究 [J]. 生态学报,2004,24(7):1353-1357.

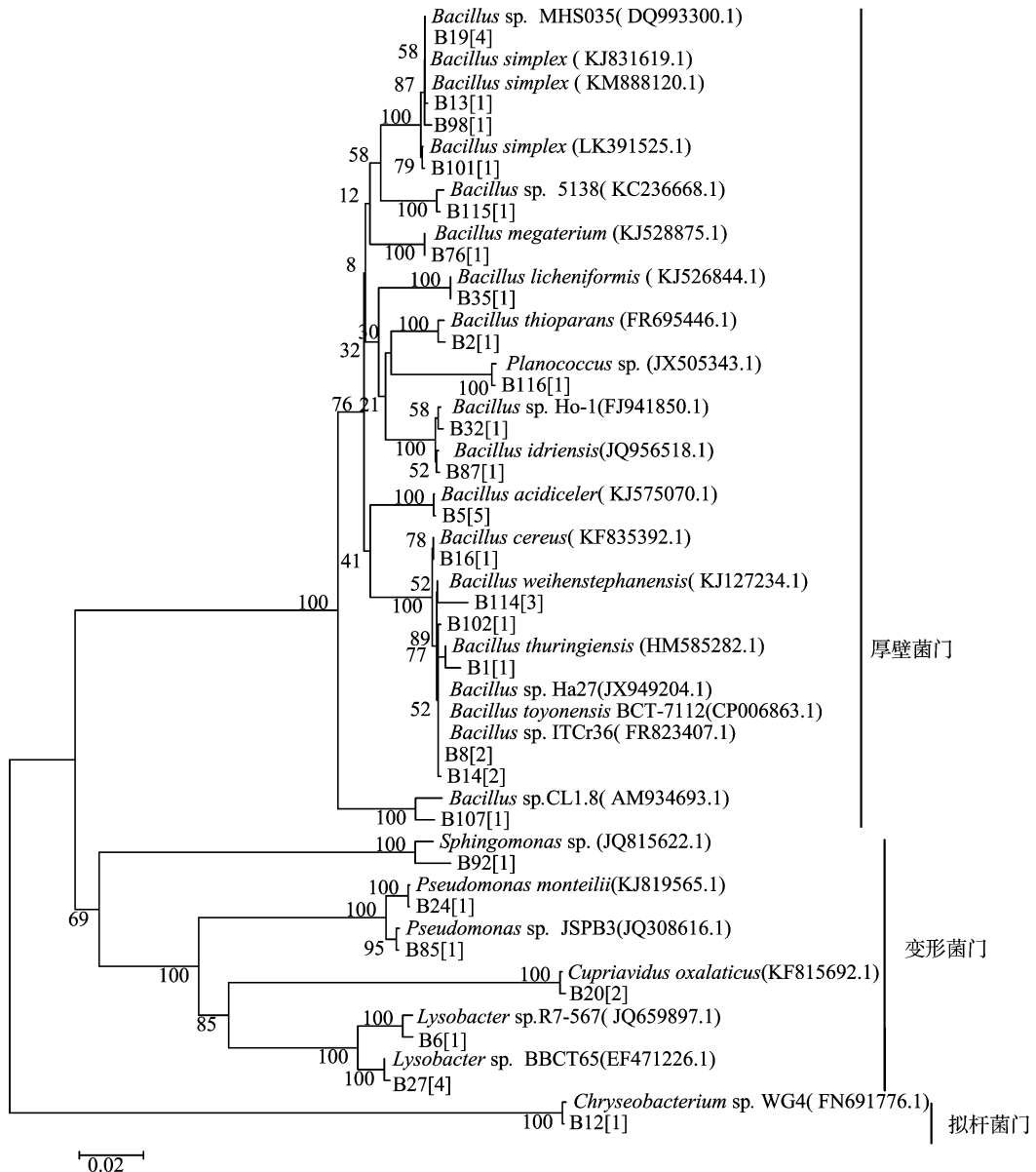


图1 基于 16S rDNA 序列同源性的小蓬竹根际细菌系统发育树

- [5] 湛方栋, 陆引昱, 美国经, 等. 烤烟根际微生物群落结构及其动态变化的研究[J]. 土壤学报, 2005, 42(3): 488 - 494.
- [6] 余凤玉, 朱 辉, 王 萍, 等. 槟榔根际微生物研究[J]. 江西农业学报, 2010, 22(11): 26 - 27, 31.
- [7] 戴 菲. 东乡普通野生稻根际微生物群落特征的研究[D]. 南昌: 江西师范大学, 2011.
- [8] 徐雪娇, 刘济明, 徐国瑞, 等. 不同小生境中小蓬竹的含水率及生物量分配规律[J]. 贵州农业科学, 2010, 38(10): 163 - 166.
- [9] Courchesne F, Gobran G R. Mineralogical variations of bulk and rhizosphere soils from a Norway spruce stand[J]. Soil Science Society of America Journal, 1997, 61(4): 1245 - 1249.
- [10] Stackbrandt E, Ludwig W, Fox G E, et al. 16S ribosomal RNA oligonucleotide cataloging[J]. Methods in Microbiology, 1985, 18: 75 - 107.
- [11] Thompson J D, Gibson T J, Plewniak F, et al. The CLUSTAL_X Windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools[J]. Nucleic Acids Research, 1997, 25(24): 4876 - 4882.

- [12] Kimura M. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences[J]. Journal of Molecular Evolution, 1980, 16(2): 111 - 120.
- [13] Saitou N, Nei M. The neighbor - joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees[J]. Molecular Biology and Evolution, 1987, 4(4): 406 - 425.
- [14] Mccraig A E, Glover L A, Prosser J I. Molecular analysis of bacterial community structure and diversity in unimproved and improved upland grass pastures[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1999, 65(4): 1721 - 1730.
- [15] 张友杰, 刘国顺, 叶协锋, 等. 烤烟不同生育期土壤酶及微生物活性的变化[J]. 土壤, 2010, 42(1): 39 - 44.
- [16] 雍太文, 杨文钰, 向达兵, 等. 不同种植模式对作物根系生长、产量及根际土壤微生物数量的影响[J]. 应用生态学报, 2012, 23(1): 125 - 132.
- [17] 殷 瑶, 谷 勇, 熊 智, 等. 不同年龄麻疯树林地土壤微生物多样性研究[J]. 土壤通报, 2011, 42(6): 1350 - 1354.

何 军,李晓莺,焦恩宁,等. 枸杞杂交 F_1 代叶片及果实性状分离规律[J]. 江苏农业科学,2016,44(7):227-229.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.07.063

枸杞杂交 F_1 代叶片及果实性状分离规律

何 军,李晓莺,焦恩宁,尹 跃,张曦燕,曹有龙

(宁夏农林科学院/国家枸杞工程技术研究中心,宁夏银川 750002)

摘要:为了研究枸杞杂交 F_1 代叶片及果实的性状分离规律,筛选能够用于枸杞杂交后代早期选择的指标,对 09191 \times 0968、0968 \times 09191 的 F_1 代 94 株实生苗的叶片、果实性状指标进行测定和分析。结果表明:枸杞叶片和果实性状在杂交后代中都存在着广泛的分离,而且变化均呈连续性正态分布或偏正态分布。枸杞叶片大小与果实大小显著相关,叶片大小可以作为早期筛选大果型枸杞品种的性状指标之一。

关键词:枸杞;杂交 F_1 代;叶片性状;果实性状;早期选择

中图分类号: S567.1⁺90.3

文献标志码: A

文章编号: 1002-1302(2016)07-0227-03

枸杞(*Lycium barbarum*)系茄科枸杞属落叶灌木,本属 80 余种,主要分布于南美洲,少数分布于欧亚大陆的温带。我国自然分布 7 种 3 变种,几乎所有省份均有野生或栽培,是一种分布极广的树种^[1]。杂交育种作为常规育种技术,在植物育种中应用广泛。宁夏回族自治区枸杞杂交育种始于 20 世纪 70 年代初,90 年代后期杂交育种成就突出^[2]。李润淮等首次用野生枸杞与栽培枸杞进行杂交育种,使枸杞种间杂交获得成功,培育出菜用枸杞新品种宁杞菜 1 号^[3]。安巍等先后用宁杞 1 号枸杞与四倍体枸杞杂交授粉,培育出三倍体无籽枸杞,以枸杞、番茄为亲本进行属间远缘杂交育种试验,获得了大量杂交株系^[4-5]。枸杞杂交育种工作耗费大量人力、物力,由于缺乏杂交后代早期鉴定和筛选的指标,杂交后代要经过多年的性状观察和鉴定。本试验研究枸杞杂交 F_1 代叶片及果实性状分离规律,探讨通过枸杞叶片对枸杞杂交后代进行早期选择,旨在为缩短育种周期、提高育种效率提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

试验材料定植于国家枸杞工程技术研究中心的枸杞种质资源圃,以 09191、0968 为亲本进行正交、反交,09191 为长果

形材料,叶片长 \times 宽平均为 47.24 mm \times 14.93 mm;0968 为圆形材料,叶片长 \times 宽平均为 40.52 mm \times 14.60 mm。2012 年杂交,2013 年春天播种、定植,株行距为 1 m \times 2 m,常规管理。2014 年,对 09191 \times 0968 的 30 株杂交 F_1 代以及 0968 \times 09191 的 64 株杂交后代进行调查测定。

1.2 方法

1.2.1 叶片性状 7 月中旬,选择树冠中部外围生长势相近的一年生枝条,选取春梢中部(自基部数第 5 节位至第 7 节位)叶片,每株调查 10 张叶片,取平均值,测定指标包括叶长、叶宽、叶柄长度、叶片厚度、叶绿素含量。用游标卡尺测量叶长、叶宽、叶柄长度、叶片厚度,用 SPAD-502 叶绿素含量测定仪测定叶绿素含量,用叶长/叶宽表示叶形指数。

1.2.2 果实性状 摘取同一批次所有成熟的枸杞果实,统计每株的果实个数,用电子天平称质量,计算千粒质量。从每株果实中随机取出 10 粒,测定果实纵径、横径,用纵径/横径表示果形指数。

1.3 性状分级

采用等距离分级法进行性状分级。将各性状取值从小(低)到大(高)排序,分成 5 级,Ⅰ级为最低,Ⅴ级为最高,Ⅲ级为中级。统计各级的单株数,绘制性状取值的分布直方图。

1.4 统计分析

采用 DPS7.05 软件分析数据。

2 结果与分析

2.1 叶片和果实性状分离规律

从表 1 可以看出,叶片性状在枸杞杂交后代中存在着广泛的分离,但各性状单株间的差异相对较小,其中差异最大的为 0968 \times 09191 的叶柄长。从变异系数来看,枸杞杂交后代

性分析[J]. 微生物学报,2008,48(6):772-779.

[22] 刘 敏. 竹林根际可培养微生物种群多样性分析[D]. 保定:河北大学,2008.

[23] 刘 敏,李璐滨,杨 凯,等. 冷箭竹根际土壤中可培养细菌的多样性[J]. 生物多样性,2008,16(1):91-95.

[24] 王岳坤,洪 葵. 红树林土壤细菌群落 16S rDNA V3 片段 PCR 产物的 DGGE 分析[J]. 微生物学报,2005,45(2):201-204.

收稿日期:2015-06-08

基金项目:宁夏农林科学院科技创新先导资金(编号: NKYJ-14-06)。

作者简介:何 军(1978—),男,宁夏平罗人,硕士,副研究员,主要从事枸杞耕作与栽培研究。E-mail:706451180@qq.com

通信作者:曹有龙,博士,研究员,主要从事枸杞耕作与栽培研究。Tel:(0951)6886785;E-mail:youlongch@163.com。

[18] 韩艳洁,李全基,袁秀英,等. 花棒根际土壤微生物研究[J]. 干旱区资源与环境,2012,26(3):164-167.

[19] 韦善华,吕成群,黄宝灵,等. 灰木莲人工林地土壤微生物及酶活性分析[J]. 林业科技开发,2012,26(5):59-62.

[20] 华菊玲,刘光荣,黄劲松. 连作对芝麻根际土壤微生物群落的影响[J]. 生态学报,2012,32(9):2936-2942.

[21] 李璐滨,刘 敏,杨淑贞,等. 毛竹根际可培养微生物种群多样