

王莹,郭聪,谈峰,等. 甲基磺酸乙酯诱变筛选强耐盐旱柳愈伤组织变异体研究[J]. 江苏农业科学,2019,47(19):57-61.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.19.013

# 甲基磺酸乙酯诱变筛选强耐盐旱柳愈伤组织变异体研究

王莹,郭聪,谈峰,李玉娟

(江苏沿江地区农业科学研究所,江苏如皋 226541)

**摘要:**为获得强耐盐旱柳愈伤组织突变体,采用甲基磺酸乙酯(EMS)诱变处理旱柳愈伤组织,对得到的旱柳愈伤组织变异体进行耐盐性检验。结果表明,0.4% EMS 处理 3 h 为旱柳愈伤组织的半致死处理方式;愈伤组织存活率和生长率会随盐浓度的升高而降低,NaCl 为 0.4% 时,愈伤组织的死亡率为 93.6%;对筛选出的愈伤组织突变体进行盐胁迫形态与生理指标检验,诱变组 SOD 活性、POD 活性、积累可溶性蛋白的能力比对照组高,而 MDA 含量始终低于对照组。旱柳愈伤组织突变体在 0.4% NaCl 胁迫下可正常生长,而原亲本只能耐受 0.2% 盐浓度,诱变体比原亲本耐盐性提高了 100%。

**关键词:**甲基磺酸乙酯(EMS);旱柳;强耐盐性;愈伤组织;变异体

**中图分类号:** S792.120.5;Q813.1<sup>+</sup>2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2019)19-0057-04

旱柳(*Salix matsudana* Koidz)为杨柳科(Salicaceae)柳属(*Salix*)落叶乔木、灌木或亚灌木,在世界上分布广泛<sup>[1]</sup>,具有速生、成材早等优点,且具有一定的抗旱、耐盐、耐瘠薄、抗风沙能力,是平原地区重要的造林绿化植物,也是固堤护岸、防风固沙、净化大气和改良盐碱地的重要树种<sup>[2]</sup>。随着沿海开发被提升为国家战略之际,更多的科研工作者将沿海滩涂的综合开发与柳树耐盐性的遗传改良工程相结合进行研究。张继明等利用传统的杂交育种方式,进行多年试验,选育出 3 个速生且抗盐的优良柳树新品种<sup>[3]</sup>;余春梅等利用分子生物学手段,在拟南芥中过量表达柳树耐盐性相关 *SVPL1s* 基因,为选育优良耐盐林木提供重要材料<sup>[4]</sup>。但到目前为止,由于传统方法的育种限制,其耐盐等级大都局限于轻度或中度耐盐水平<sup>[5]</sup>,强耐盐柳或特耐盐柳成功选育或已产业化生产的报道鲜有报道,故柳树资源的开发利用受到了极大的制约。

诱变育种是一个非常规、有效的育种方式,其借用生物、化学或物理手段,在洋亚麻(*Linum sitatissimum* L.)<sup>[6]</sup>、番茄(*Lycopersicon esculentum* Mill.)<sup>[7]</sup>、紫花苜蓿(*Medicago sativa*)<sup>[8]</sup>等植物耐盐新品系的培育中显示出极其重要的作用和诱人的前景。其中甲基磺酸乙酯(EMS)是一个高效、稳定的化学诱变剂,目前在植物诱变育种中应用最广泛、效果最好,诱变后产生的突变频率高,且多为显性突变体,易于进行耐盐突变体的筛选和育种<sup>[9]</sup>。近年来,育种工作者们通过

EMS 诱导耐盐突变体途径,已成功获得了耐盐番茄<sup>[7]</sup>、耐盐纤维亚麻<sup>[10]</sup>、耐盐菊花[*Dendranthema morifolium* (Ramat.) Tzvel.]<sup>[11]</sup>等多种不同耐盐等级的突变体植物新品种,大大丰富了耐盐植物的种质资源,对功能基因组学研究亦具有非常重要的作用。因此本研究在前期选育的强耐盐柳树新品系的基础上,通过 EMS 人工化学诱导形成柳树强耐盐突变体方式,进一步在细胞水平上进行 NaCl 定向筛选,以期为旱柳强耐盐品种的选育提供基础材料,为耐盐碱植物的选育提供一种高效的育种方法。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

试验于 2017 年 3 月在江苏沿江地区农业科学研究所组培实验室进行。在本项目组前期建立的旱柳愈伤组织繁育体系基础上,选取长势一致的健壮旱柳愈伤组织作为供试材料,进行 EMS 诱变处理及盐胁迫试验。

### 1.2 方法

**1.2.1 EMS 诱变处理及半致死量的确定** 将旱柳愈伤组织放入无菌三角瓶中,加入不同浓度的 EMS(0、0.2%、0.4%、0.6%)分别浸泡 1、2、3、4 h,无菌水冲洗干净后接种于培养基中,2 周后统计成活率,最终确定旱柳的 EMS 最佳半致死剂量。

**1.2.2 强耐盐愈伤组织突变体的筛选** 采用多步正筛选法,分别配制含愈伤组织诱导分化培养基,选取生长健壮的旱柳愈伤块,分别接种于不同 NaCl(0、0.4%、0.6%、0.8%)培养基中,每 7、14、21 d 进行取样,统计愈伤组织成活率和生长率,确定 NaCl 的 95% 致死剂量。

**1.2.3 强耐盐愈伤组织突变体耐盐性及稳定性分析**

**1.2.3.1 临界浓度 NaCl 胁迫下继代次数对愈伤组织存活率的影响** 将筛选获得的旱柳强耐盐愈伤组织回接到无压力的基本培养基中,然后选择生长旺盛的愈伤组织再返回接到含

收稿日期:2018-06-28

基金项目:江苏省农业科技自主创新资金[编号: CX(16)1005、CX(17)1004]。

作者简介:王莹(1986—),女,江苏南通人,硕士,助理研究员,主要从事耐盐苗木新品种培育及配套栽培技术方面的研究。E-mail: 466625450@qq.com。

通信作者:李玉娟,副研究员,主要从事园林植物的育种、繁殖与栽培研究。E-mail: lygjy90@sohu.com。

NaCl( 临界浓度) 的筛选培养基中, 每 2 周继代 1 次, 共继代 6 次, 通过测定愈伤组织存活率, 确定其耐盐稳定性。

1.2.3.2 临界浓度 NaCl 胁迫对突变体愈伤组织各种耐盐性指标的影响 将获得的强耐盐旱柳愈伤组织突变体转入不含盐的诱导培养基上培养 3 代后, 再转入含不同浓度 NaCl(0、0.2%、0.4%、0.6%、0.8%) 的筛选培养基上培养, 对照也培养相同时间, 每 30 d 取样, 测定过氧化物酶(POD)活性、超氧化物歧化酶(SOD)活性、可溶性蛋白含量、丙二醛(MDA)含量等相关耐盐生理生化指标, 并与原亲本相关指标进行对比。

1.3 数据处理

采用 Excel 2010 进行试验数据整理、计算及作图。

2 结果与分析

2.1 EMS 诱变处理及半致死量的确定

从表 1 可以看出, 旱柳愈伤组织成活率随处理时间的延长或 EMS 浓度升高而降低。在不加 EMS 条件下, 愈伤组织的存活率均为 100.00%; 低浓度 EMS 处理对愈伤组织的杀伤力较弱, 其平均存活率仍在 60% 以上; 而当 EMS 浓度达到 0.6% 及以上时, 愈伤组织存活率较低。用 0.4% EMS 处理 3 h 条件下, 其愈伤组织存活率达 49.67%。最终根据 50% 致死剂量和存活率确定旱柳愈伤组织最佳处理方式 0.4% EMS 浸泡 3 h。

表 1 不同浓度和时间 EMS 处理对愈伤组织的影响

EMS 浓度 (%)	处理时间 (h)	接种数 (个)	存活率 (%)	颜色和状态
0	1	30	100.00	深绿色, 致密颗粒状
	2	30	100.00	深绿色, 致密颗粒状
	3	30	100.00	深绿色, 致密颗粒状
	4	30	100.00	深绿色, 致密颗粒状
0.2	1	30	83.33	绿色, 死亡的呈褐色, 致密颗粒状
	2	30	70.00	绿色, 死亡的呈褐色, 致密颗粒状
	3	30	66.67	淡绿色, 死亡的呈褐色, 致密颗粒状
	4	30	63.33	黄绿色, 死亡的呈褐色, 致密颗粒状
0.4	1	30	63.33	淡绿色, 死亡的呈褐色, 致密颗粒状
	2	30	56.67	淡绿色, 死亡的呈褐色, 致密颗粒状
	3	30	49.67	淡绿色, 死亡的呈褐色, 致密颗粒状
	4	30	40.00	黄绿色, 死亡的呈褐色, 致密颗粒状
0.6	1	30	36.67	黄色, 死亡的呈褐色, 致密颗粒状
	2	30	26.67	黄色, 死亡的呈褐色, 致密颗粒状
	3	30	0	死亡的呈褐色, 致密颗粒状
	4	30	0	死亡的呈褐色, 致密颗粒状

2.2 强耐盐愈伤组织突变体的筛选

采用多步正筛法对旱柳强耐盐愈伤组织突变体进行筛选, 如图 1、图 2 显示, 旱柳的愈伤组织存活率和生长率均随盐浓度的升高而降低。在 NaCl 的浓度低于 0.2% 时, 盐浓度对愈伤组织的成活率和分化率影响不大; 当 NaCl 浓度达到 0.4% 时, 旱柳的愈伤组织存活率为 6.3%, 生长率也表现出相似的趋势; 0.6% NaCl 处理时, 愈伤组织几乎不生长或生长受到严重抑制; 而 0.8% NaCl 胁迫条件下, 愈伤组织全部褐化死亡。根据 NaCl 对旱柳愈伤组织的 95% 致死剂量率和继续培养过程中愈伤组织的分化率表现, 最终确定满足试验要求的 NaCl 临界浓度为 0.4%。

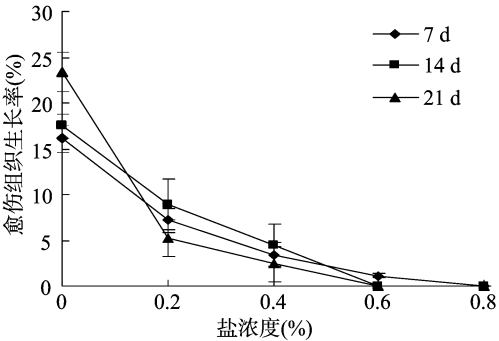


图2 不同浓度NaCl 胁迫对旱柳愈伤组织生长率的影响

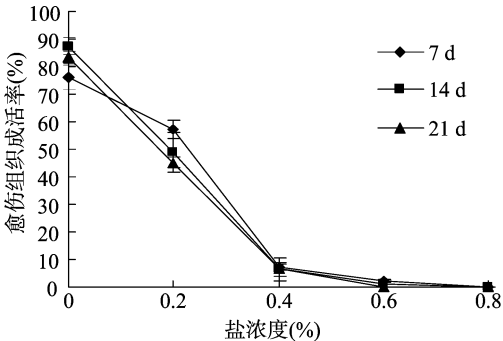


图1 不同浓度 NaCl 胁迫对旱柳愈伤组织成活率的影响

2.3 临界浓度 NaCl 胁迫下继代次数对愈伤组织存活率的影响

在临界浓度 NaCl(0.4%) 胁迫下继代 6 次, 结果如图 3 显示, 通过诱变处理得到的旱柳愈伤组织在盐胁迫下能表现出相对稳定的耐受性, 且随着继代次数的增加, 存活率均能保持在 50% 以上, 尤其在第 3 代时存活率最高, 达到 76.7%。

2.4 NaCl 胁迫对突变体愈伤组织各种耐盐性指标的影响

2.4.1 不同 NaCl 胁迫对旱柳愈伤组织突变体 SOD 活性的影响 SOD 活性的强弱, 是植物抗逆性的重要指标之一。由图 4 看出, 与对照组相比, 诱变组的旱柳愈伤组织 SOD 活性明显高于对照愈伤组织; 0.2% 浓度盐胁迫下, 对照组 SOD 活

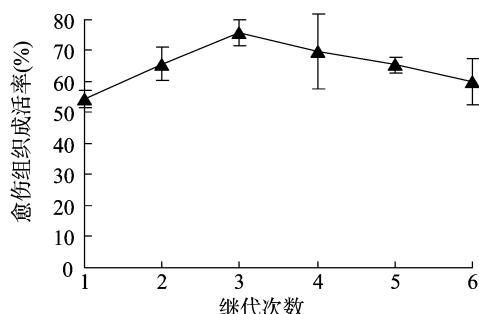


图3 临界浓度 NaCl 胁迫下继代次数对愈伤组织存活率的影响

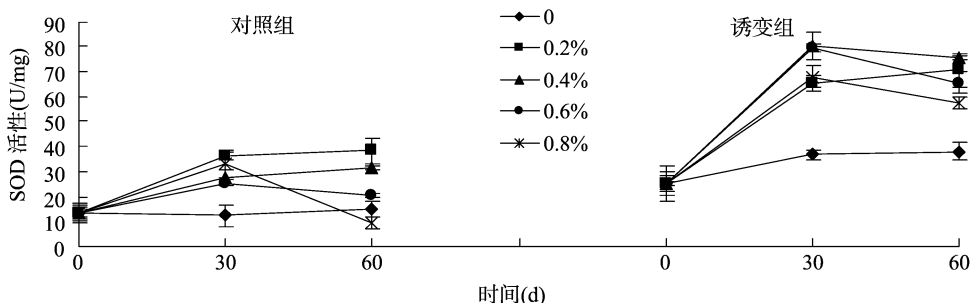


图4 不同 NaCl 胁迫对愈伤组织 SOD 活性的影响

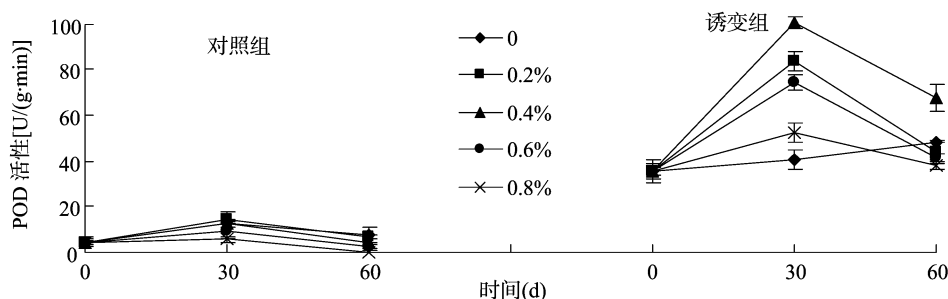


图5 不同 NaCl 胁迫对愈伤组织 POD 活性的影响

高值,为  $100.8 \text{ U}/(\text{g} \cdot \text{min})$ 。变异体愈伤组织在受到盐胁迫时,比对照 POD 活性高,说明诱变组愈伤组织比对照组具有更强的耐盐适应性。

**2.4.3 不同 NaCl 胁迫对旱柳愈伤组织突变体 MDA 含量的影响** MDA 是膜脂过氧化最重要的产物之一。MDA 含量的多少可代表膜损伤程度的大小。由图 6 可知,诱变组的 MDA

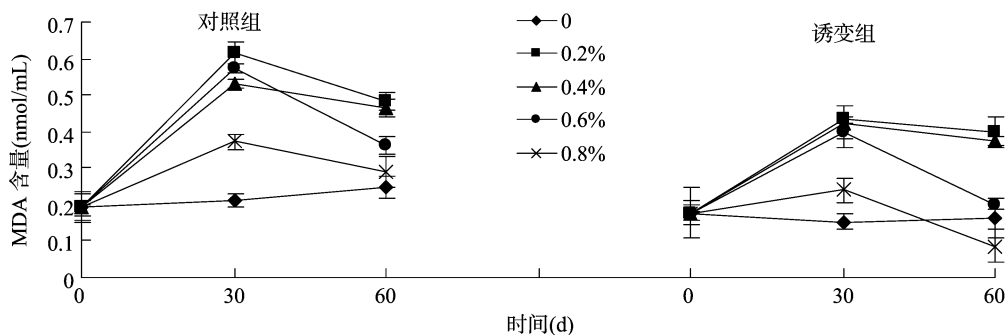


图6 不同 NaCl 胁迫对愈伤组织 MDA 含量的影响

**2.4.4 不同 NaCl 胁迫对旱柳愈伤组织突变体可溶性蛋白含量的影响** 由图 7 可见,随着 NaCl 浓度的升高,对照组可溶性蛋白含量先增加后降低;在 NaCl 浓度  $0 \sim 0.4\%$ ,诱变组可溶性蛋白含量随 NaCl 浓度的升高而升高,当 NaCl 浓度为

性最大;诱变组在  $0.4\%$  浓度 NaCl 条件下活性最大,培养 30 d 时诱变的愈伤组织 SOD 活性最高,是对照组的 2.46 倍;60 d 时对照组 SOD 活性最低,仅为  $9.54 \text{ U}/\text{mg}$ 。这说明,在盐胁迫条件下,诱变组愈伤组织具有较高的 SOD 活性,来保护膜系统。

**2.4.2 不同 NaCl 胁迫对旱柳愈伤组织突变体 POD 活性的影响** POD 是存在于植物细胞中最重要的清除自由基的酶类之一。由图 5 可以看出,当旱柳愈伤组织处于逆境胁迫条件下时,POD 活性先升高再下降,且诱变组 POD 活性均高于对照组;在培养 30 d 时, $0.4\%$  NaCl 胁迫时 POD 活性达到最

含量始终低于对照组。愈伤组织在盐胁迫条件下,随着处理时间的延长,对照组 MDA 含量先增加后下降; $0.2\%$  浓度盐胁迫下,对照组培养 30 d 时 MDA 含量达到最大值 ( $0.615 \text{ nmol}/\text{mL}$ ),是相同处理条件下诱变组的 1.42 倍。诱变愈伤组织的膜损伤程度低于对照,诱变愈伤组织比对照愈伤组织更适应盐胁迫环境。

$0.4\%$  时,培养 60 d 时诱变组可溶性蛋白含量最高,为对照的 6.19 倍,说明耐盐愈伤组织变异体在盐胁迫条件下积累可溶性蛋白的能力大大强于对照。

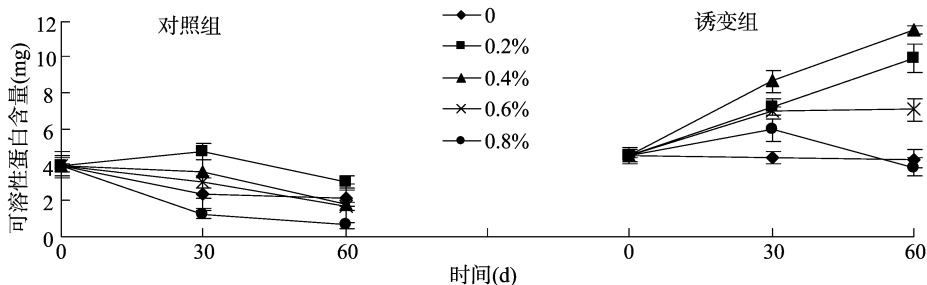


图7 不同 NaCl 胁迫对愈伤组织可溶性蛋白含量的影响

### 3 结论与讨论

EMS 诱变技术是应用最为广泛的农作物新品种育种技术之一,育种家们利用 EMS 诱变已成功创制出了大批具有高产、优质、抗病、抗逆等优良农艺性状的新种质资源<sup>[12-14]</sup>,而在林木诱变育种工作中尚不多见。本研究在明确适于早柳的最佳 EMS 诱变条件基础上开展大规模 EMS 诱变处理,首次构建了早柳愈伤组织 EMS 突变体库。在 0.4% EMS 浸泡处理 3 h 诱变条件下,获得了一批早柳愈伤组织突变体;再经 NaCl 胁迫与逐级筛选,最终获得了一批耐盐性优良的愈伤组织;通过生长状态观察与生理指标测定,早柳愈伤组织突变体在 0.4% NaCl 胁迫下可正常生长,而原亲本只能耐受 0.2% 盐浓度,诱变体比原亲本耐盐性提高了 100%。本研究为耐盐柳树种质创新以及功能基因组学研究提供了基础性材料。

EMS 诱导涉及复杂的物理、化学过程,虽然突变效果明显,但不同的材料适宜的处理浓度及诱导时间均有很大的差异,必须正确地掌握 EMS 诱变剂的最佳剂量、浓度以及处理时间。刘威等研究甲基磺酸乙酯的特性时发现,20℃下 EMS 半衰期为 93.1 h,产物易溶于水且形成无诱变作用但对愈伤组织有一定毒害作用的有机酸,处理时间越长毒害作用越强,选择最适宜诱变剂浓度和处理时间尤为重要<sup>[15]</sup>。Bidabadi 等在用 EMS 诱变香蕉茎尖时发现,不同的香蕉品种对 EMS 耐受的半致死浓度不同<sup>[16]</sup>。张大燕等采用多浓度 EMS 对川芎 (*Ligusticum chuanxiong* Hort.) 进行不同时间段的处理,筛选出了最佳的浓度与时间组合<sup>[17]</sup>。一般随着 EMS 浓度的升高,材料致死率也会逐渐升高,本次试验中也发现高浓度、长时间处理早柳愈伤组织,会导致组培材料的存活率和生长率明显降低,这与前人的 EMS 处理结果相似。同时研究过程中,在构建的早柳愈伤组织诱变体库时,一部分材料在受到临界浓度盐胁迫时,突变性状在后代中未能得到稳定遗传,尤其是第 1 次继代,成活率仅为 54.2%,这可能与 EMS 生理损伤、试验群体大小、突变性状调控的复杂性等因素有一定的关系。

在田小霞等的研究中发现,在受到盐胁迫时,材料细胞会通过积累大量的可溶性蛋白,增加 SOD、POD 活性等一系列的生理生化反应来适应逆境<sup>[18-19]</sup>,本试验也得到了与之相似的研究结果。EMS 是一种常见的烷化剂之一,其分子具有多个能被转移的活性烷基,可转移到电子云密度较高的分子上,置换碱基中的 H 原子<sup>[20]</sup>。EMS 诱变使早柳 DNA 分子上产生较多的点突变,盐胁迫后变异体与对照组生理生化指标呈现出明显的差异,同处理条件下,SOD、POD 活性和可溶性蛋白含量最多,分别比对照提高了 5.1 倍、9.2 倍和 5.2 倍,对

照组培养 30 d 时 MDA 达到最大值,在相同处理条件下是诱变组的 1.42 倍。综合各生理指标,说明盐胁迫对早柳愈伤组织变异体的损伤较小。

本研究只针对 EMS 诱变处理的浓度和时间组合对早柳愈伤组织的生长和耐盐性生理指标做了研究,初步选择出耐盐性良好的早柳愈伤组织变异体,为日后强耐盐柳树突变植株的培育提供材料。但是诱变后如何对再生植株进行鉴定分析,如何筛选具有目的性状并可以稳定遗传的变异植株,以及深入开展早柳强耐盐突变体库基因突变位点分布和诱变机制,还需要进一步研究。

### 参考文献:

- [1] 宋建翰. 中国柳树文化内涵和景观应用特点初探[D]. 北京:中国林业科学研究院,2017.
- [2] 于振旭. 早柳种质资源遗传多样性评价与利用特性研究[D]. 泰安:山东农业大学,2017.
- [3] 张继明,张彩军,郭俊. 柳树杂交育种研究[J]. 内蒙古林业科技,2001,23(2):9-13.
- [4] 余春梅,李敏,何新雨,等. 过量表达柳树两个 SVPIs 基因提高拟南芥抗盐胁迫能力[J]. 中国生物化学与分子生物学报,2015,31(4):414-421.
- [5] 李业宇,曹帮华,倪智雄,等. 柳树耐盐性及良种选育研究进展[J]. 山东林业科技,2018,48(2):120-126,131.
- [6] 李玉环. 亚麻耐盐突变体的筛选及种质耐盐性的评价[D]. 乌鲁木齐:新疆大学,2017.
- [7] 汪斌. 甲基磺酸乙酯(EMS)诱变加工番茄耐盐突变体的筛选与鉴定[D]. 石河子:石河子大学,2016.
- [8] 范金. <sup>60</sup>Co-γ 射线辐射下紫花苜蓿耐盐突变体的筛选和 ISSR 分析[D]. 北京:中国农业科学院,2015.
- [9] 臧辉,任卫波. EMS 诱变在植物育种中的研究与应用[J]. 分子植物育种,2018,15(2):1-7.
- [10] 王卫国,邓倩,计巧灵,等. EMS 诱变和 NaCl 胁迫的正交实验及耐盐纤维亚麻种质的筛选[J]. 生物技术通报,2016,32(6):103-110.
- [11] 张朋. 药用菊花种质资源耐盐评价及氮素营养生理研究[D]. 南京:南京农业大学,2015.
- [12] 刘根忠,王云飞,孟祥飞,等. EMS 诱变的‘里格尔 87-5’番茄 M<sub>2</sub> 群体突变体表型及其抗坏血酸研究[J]. 园艺学报,2017,44(1):120-130.
- [13] 张维宏,安哲,范学锋,等. EMS 诱导小麦 TcLr19 感叶锈病突变体的筛选[J]. 华北农学报,2016,31(4):88-93.
- [14] 李永一,张化瀛,孙云轩,等. 甲基磺酸乙酯诱导的大豆 M1 候选多性状共变体重要农艺性状分析[J]. 吉林农业大学学报,2017,

赵春莉,姚思扬,王 嫚,等. 应用响应面法优化软枣猕猴桃的一步成苗培养基[J]. 江苏农业科学,2019,47(19):61-64.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.19.014

# 应用响应面法优化软枣猕猴桃的一步成苗培养基

赵春莉,姚思扬,王 嫚,王一飞,吴 双,汤 昊,胡钊源

(吉林农业大学园艺学院,吉林长春 130118)

**摘要:**以软枣猕猴桃带芽茎段为外植体,利用响应面法对其组培一步成苗试验进行优化。在单因素的试验基础上,根据 Box-Behnken 的中心组合试验设计原理,以 6-BA、NAA、IBA 的浓度为试验因子,植株再生频率为响应值,进行 3 因素 3 水平的试验设计。结果表明:3 因素对植株再生频率的影响力大小为 6-BA 的浓度 > IBA 的浓度 > NAA 的浓度,最终得到的二元回归方程显示,一步成苗的培养基优化结果为 MS + 6-BA 2.42 mg/L + NAA 0.27 mg/L + IBA 0.32 mg/L。在此条件下,最佳再生频率预测值为 4.23,实际操作结果为 4.13。

**关键词:**响应面;一步成苗;再生频率;软枣猕猴桃;单因素试验;回归分析;再生频率

**中图分类号:**S663.404<sup>+</sup>.3 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2019)19-0061-04

软枣猕猴桃 (*Actinidia arguta*) 是猕猴桃科猕猴桃属植物,分布广阔,产量高,果实甜度高,富含维生素 C、蛋白、氨基酸、果胶等成分,其中维生素 C 含量高达 430.8 mg/100 g,是苹果、梨的 80~100 倍,柑橘的 5~10 倍<sup>[1]</sup>,有极高的营养价值,还可加工成果脯、果汁、罐头果酱、酒类等产品<sup>[2]</sup>。其根、茎、叶均可入药,可治疗消化不良、腹泻、呕吐和风湿性关节炎,有抗衰老防癌的功效<sup>[3]</sup>。猕猴桃适应能力强,种植范围较广,根系发达,可有效保持水土,提高土壤肥力,有良好的生态价值<sup>[4]</sup>。在园林景观应用上,它是一种很好的缠绕木,可作庭院景观观赏,可应用在花架花棚的设计中<sup>[5]</sup>。软枣猕猴桃应用广泛,具有良好的食用、药用、生态、景观价值,具有广阔的经济市场。

软枣猕猴桃传统的繁殖方式为播种繁殖和扦插繁殖<sup>[6-8]</sup>,但种子繁殖易性状分离,生长缓慢。扦插生根率不高,过度采集枝条有损母株<sup>[9]</sup>。组织培养可以保留植株优良性状,可快速大量地繁殖出苗。目前,已有相关软枣猕猴桃组织培养的报道<sup>[9-12]</sup>。传统的组织培养试验是在每个阶段筛选出合适的培养基和培养环境,转接过程可能会造成污染,工作量较大,周期长。一步成苗指在一个培养基内完成诱导、增

殖、生根阶段,可节省成本,节省时间。目前,一步成苗技术还不够成熟,软枣猕猴桃的一步成苗研究未见报道。响应面分析法普遍应用于优化试验中,可精确地反映各因素间的关系,预测出最佳优化条件。本试验以软枣猕猴桃带芽茎段为外植体,研究单因素 6-BA、IBA、NAA 浓度对其一步成苗的影响,用响应面法优化软枣猕猴桃一步成苗培养基,以期今后相关研究提供理论实践基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

试验材料为长白山野生软枣猕猴桃带芽茎段,于 2017 年 5 月采自吉林长白山地区,后用低温保温箱将外植体带回吉林农业大学园艺学院实验室进行研究。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 外植体的灭菌处理** 将外植体用洗洁精洗净灰尘,再用流水冲洗 1 h。放在超净工作台的滤纸上吸干水分,放入灭菌后的烧杯中。加 75% 乙醇消毒 30 s,用蒸馏水清洗 4 次,加 0.1% 三氯甲烷消毒 6 min,用蒸馏水冲洗 5 次。消毒期间不断振荡,使试剂与材料充分接触。

**1.2.2 单因素试验** 为探究每种生长激素的不同浓度对外植体产生的影响,以 MS 为基本培养基,将 6-BA、IBA、NAA 分别设置 5 种浓度:6-BA (1.0、2.0、3.0、4.0、5.0 mg/L); NAA (0.05、0.10、0.20、0.40、0.80 mg/L); IBA (0.05、0.10、0.20、0.40、0.80 mg/L)。将外植体分别接种到培养基内,每个处理接 15 个茎段,培养周期为 50 d。

**1.2.3 软枣猕猴桃一步成苗培养基的优化** 在单因素试验

法研究[J]. 成都中医药大学学报,2017,40(3):49-52.

[18] 田小霞,毛培春,张 琳,等. 苜蓿属植物苗期耐盐指标筛选及耐盐性综合评价[J]. 植物资源与环境学报,2018,27(2):46-56.

[19] 王庆惠,韩 伟,侯银莹,等. 不同耐盐品种棉花根系主要指标对盐胁迫的响应[J]. 应用生态学报,2018,29(3):865-873.

[20] 刘 翔. EMS 诱变技术在植物育种中的研究进展[J]. 激光生物学报,2014,23(3):197-201.

收稿日期:2018-07-12

基金项目:吉林省重点科技攻关项目(编号:20140204030NY、20140101271JC);大学生创新创业训练计划(编号:2017496)。

作者简介:赵春莉(1973—),女,山东寿光人,博士,副教授,主要从事观赏植物资源引种驯化及繁殖技术研究。E-mail: zcl8368@163.com。

39(6):655-664.

[15] 刘 威,杨 峰,任旭东,等. EMS 对种子萌发影响的进展[J]. 分子植物育种,2017,15(11):4585-4589.

[16] Bidabadi, Meon S S, Wahab S, et al. Induced mutations for enhancing variability of banana (*Musa* spp.) shoot tip cultures using ethyl methanesulphonate (EMS). [J]. Australian Journal of Crop Science, 2012, 6(3): 567-575.

[17] 张大燕,文 欢,王 伟,等. 甲基磺酸乙酯化学诱变川芎的方