

大葱茎尖脱毒苗培养及增殖技术的研究

陈典 黄晓梅 姜玉东 梁艳

(东北农业大学园艺学院, 哈尔滨 150030)

摘要: 章丘大葱茎尖外植体启动培养基以 MS+NAA 0.1 mg L⁻¹+2iP 0.4 mg L⁻¹ 最佳, 诱导率为 100%, 生根壮苗最佳培养基为 1/2 MS+NAA 0.01 mg L⁻¹+IBA 1.5 mg L⁻¹, 生根率 100%。驯化移栽成活率 100%。分化培养基以 MS+NAA 0.1 mg L⁻¹+2iP 0.6 mg L⁻¹ 最佳, 丛生率 100%, 平均分化苗数 6.8。根尖染色体观察, 遗传表现稳定。

关键词: 大葱; 茎尖培养; 增殖; 驯化

中图分类号: S 633.1 文献标识码: A 文章编号: 0513-353X (2004) 05-0673-03

Studies on Culture and Propagation of Virus Elimination Seedlings from Welsh Onion Shoot-tip

Chen Dian, Huang Xiaomei, Jiang Yudong, and Liang Yan

(Department of Horticulture, Northeast Agriculture University, Harbin 150030, China)

Abstract: The results of virus elimination by shoot-tip culture of welsh onion commonly grown in Zhangqiu showed that the optimum medium for starting culture of shoot-tip was MS+NAA 0.1 mg L⁻¹+2iP 0.4 mg L⁻¹, the rate of shoot induction was 100%; the optimum medium for root induction was 1/2 MS+NAA 0.01 mg L⁻¹+IBA 1.5 mg L⁻¹, both rates of rooting were 100%, and survival rate after habituation were 100%. The optimum medium for shoot-tip to differentiate rank seedlings was MS+NAA 0.1 mg L⁻¹+2iP 0.6 mg L⁻¹, and the average divided seedlings number of each shoot-tip was 6.8. The observation of cytology showed that this approach could maintain the stability of hereditary.

Key words: Welsh onion; Shoot-tip culture; Propagation; Habituation

1 目的、材料与方法

大葱 (*Allium fistulosum* L.) 生产上普遍发生病毒病^[1,2]。作者以‘章丘大葱’为试材进行组培脱毒研究, 探讨有性繁殖植物脱毒种苗的培养和增殖途径, 建立脱毒植株生产种子的良繁体系, 为提高大葱生产奠定基础。

取 10 月上旬收获的秋葱成株 (15~16 片叶), 洗净后切取茎盘以上 2~3 cm 假茎, 用 10% 次氯酸钠溶液浸泡 10 min, 无菌水冲洗 3~4 次, 无菌滤纸吸干水分, 在无菌条件下切取 0.15~0.3 mm 茎尖接种到启动、分化培养基上。25 d 时将试管苗从基部切取 2~3 cm, 分别接入相同培养基继代 1 次, 50 d 时统计分化丛生苗数。另外, 将 3.5~5 cm 高的初生茎尖试管苗分离, 移入生根培养基, 25 d 时统计生根率。均以 MS 为基本培养基, 蔗糖 3%, 琼脂 0.8%, pH 值调至 5.7~5.8。启动、分化培养基: MS+NAA+2iP, NAA、2iP 浓度分别为 0.1、0.2 mg L⁻¹ 和 0.1、0.2、0.4、0.6、0.8 mg L⁻¹ 共 10 个处理。生根培养基: 1/2 MS+NAA+IBA, NAA、IBA 浓度分别为 0.01、0.05 mg L⁻¹ 和 0.5、1.0、1.5 mg L⁻¹, 及 1/2 MS 与 1/2 MS+IBA 1.5 mg L⁻¹ 共 8 个处理。培养温度 (22±1), 光照 2000 lx, 13 h d⁻¹。驯化移栽前低温炼苗 2~3 d, 并电镜检测病毒, 然后移栽到营养钵中, 置于 (昼 22~24, 夜 11~14, RH 90% 以上) 温室内驯化, 4 月 15 日前后栽植于冷床防蚜室内。

收稿日期: 2004-01-02; 修回日期: 2004-05-25

2 结果与分析

2.1 茎尖外植体的启动培养

试验结果表明, NAA 和 2iP 不同浓度比例影响试管苗的素质。降低 NAA 浓度, 可提高诱导率, 促进株高、假茎生长。随着 2iP 浓度的提高, 诱芽率和假茎粗呈低—高—低的趋势, 利于植株生长和产生不定芽。当 2iP 浓度加大到 0.6 mg L^{-1} 时茎尖启动分化幼苗, 其达到 0.8 mg L^{-1} 时则产生玻璃化苗。NAA 0.1 mg L^{-1} + 2iP 0.4 mg L^{-1} 是茎尖外植体启动培养最佳组合, 诱导率 100%, 平均株高 6.3 cm, 假茎粗 2.02 mm, 植株生长健壮 (图 1, A)。

2.2 试管苗的增殖

在使用相同培养基分别继代培养中, 随着 NAA、2iP 浓度的升高, 幼苗丛生率提高, 分化苗数增多。但随着丛生苗数的增多, 假茎变细, 幼苗生长势减弱。调查结果显示, NAA 0.1 mg L^{-1} + 2iP 0.6 mg L^{-1} 组合最佳, 丛生率 100%, 平均分化苗数 6.8, 假茎粗 1.96 mm (图 1, B)。因此, 可认定由于茎尖分生组织经过一次继代培养, 延长了植物激素处理时间, 有利于芽分化。一般认为产生丛生苗是由于叶原基或芽原基周围的分生细胞分化产生芽器官或由于产生的愈伤组织诱导分化产生的芽器官, 而且芽器官发生能力受细胞分裂素的浓度影响, 适当增加其浓度有利于其分化^[3]。本试验在丛生苗诱导过程中未产生愈伤组织, 其结果符合上述理论。

2.3 根系的诱导

用 NAA 0.1 mg L^{-1} + 2iP 0.4 mg L^{-1} 组合培养的初生幼苗, 从基部切取 2~3 cm, 接种在生根培养基上, 25 d 后观察发现, IBA 浓度升高有利于提高生根率、根系数量和根系分支数。以 NAA 0.01 mg L^{-1} + IBA 1.5 mg L^{-1} 组合生根效果最佳 (图 1, C), 根系发生早, 根多粗壮, 叶色浓绿, 地上与地下部协调生长。



图 1 大葱茎尖试管苗的培养与增殖

A. 茎尖外植体启动培养形成试管苗; B. 分化培养丛生苗; C. 生根培养基诱导生根。

Fig. 1 The culture and propagation of virus elimination seedlings from welsh onion

A. Test-tube seedling derived from shoot-tip explant on starting culture medium; B. Differentiation and culture of cluster seedlings;

C. Root induction on different medium.

2.4 驯化与移栽

4 月上旬将根系发达，生长健壮的试管苗移出培养室，打开封口膜，于 18℃ 温室下炼苗 2~3 d，然后洗净根系附着的琼脂，移植到 8 cm ×8 cm 营养钵内，基质为 1/3 的草炭和 2/3 田土。浇足底水后置于温室中管理，成活率达 100 %。经观察无病毒症状。电镜检测脱毒率达 100 %。

2.5 遗传稳定性检测

取茎尖启动培养苗 60 株、分化丛生苗 60 株、普通大葱苗 60 株，进行根尖染色体观察，结果表明 2n=16 的比率均为 100 %，说明本研究条件下保持了试材的遗传稳定性。

参考文献：

1 上海农科院情报所译. 葱属植物的病毒和病毒病. 国外农业科技, 1985, (4): 89
2 黄晓梅, 陈 典. 脱毒大葱农艺性状的研究. 北方园艺, 2003, (4): 54
3 李学红, 苏 玲, 张举仁. 玉米芽尖培养和丛生芽发生. 山东大学学报 (自然科学版), 1997, 32 (4): 461~465

水杨酸对桃树花期抗寒性的影响

郭守华^{1,2} 杨 晴² 杨晓玲² 张 曼¹ (河北科技师范学院¹ 园艺园林系; ² 生命科学系, 昌黎 066600)

Effect of Different Content of SA on Low Temperature Resistant of Peach during Flower Period

Guo Shouhua^{1,2}, Yang Qing², Yang Xiaoling², and Zhang Man¹ (¹ Department of Horticulture and Gardening; ² Department of Life Science, Hebei Normal University of Science & Technology, Changli 066600, China)

关键词：水杨酸；桃；花期；抗寒性

中图分类号：S 662.1 文献标识码：A 文章编号：0513-353X (2004) 05-0675-01

在华北和东北地区桃树花期低温 (0℃ 左右) 引起坐果率严重下降的现象时有发生。以管理手段延迟花期成本较高。水杨酸 (SA) 能诱导抗氰呼吸，有产热效应。本试验对施用外源 SA 降低桃树花期低温伤害的效应进行了研究，期望为桃树花期提供低成本的抗寒手段。

试验于 2004 年 4 月下旬进行。采集常规栽培的‘瑞光 5 号’油桃初开花朵，以室温下 (20℃) 蒸馏水培养为对照 (CK)，配成 SA 0、2、10、20、40、80 mg L⁻¹ (单位下同)，水溶液培养桃花，3 次重复。室温下平衡 2 h 后转入 0℃ 低温恒温培养箱，4 h 后取出室温平衡 2 h 后进行形态观察及生理生化指标测定。结果表明，0℃ 低温使桃花雌蕊柱头呈水浸状褐变，并出现黑色斑点，SA 20~80 使形态恶变减轻，SA 20 处理更接近 CK。低温下与 CK 相比桃花呼吸强度升高 28 %，SA 20 处理升高 4.8 %；电解质外渗率升高 41 %，SA 20 处理仅升高 7.3 %；雌蕊 SOD 活性降低了 20 %，SA 20 处理反而升高 33 %；雌蕊 POD 活性变化与 SOD 相似，降低了 21 %，SA 20 则升高了 7 %；MDA (丙二醛) 含量升高 16 %，SA 20 处理则降低 39 % (表 1)。

以 15 %蔗糖 + 0.2 %硼砂为培养液，分别加入 CK 及低温处理的桃花柱头浸出液培养久保桃花粉，低温下花粉萌发率仅相当于 CK 的 18.5 %，说明低温严重抑制了柱头刺激花粉萌发的能力。SA 2~80 在抵消了 0℃ 低温的影响之后，还使花粉萌发率高于对照，其中 SA 20 的萌发率相当于 CK 的 234 %；以 SA 代替柱头液进行花粉培养，有刺激花粉萌发的作用，但作用明显低于柱头。说明 SA 不是直接作用，而是通过对低温下柱头活力的调节所致。

试验结果预示，在桃树初花期喷施 SA 20 可改善某些生理生化指标，强化某些抗性指标，利于授粉受精，减轻低温对坐果的影响，降低花期 0℃ 低温伤害。

表 1 水杨酸对低温下桃花生理生化指标的影响

Table 1 Effect of SA on physiological and biochemical index of peach flower at 0℃

温度 (℃) Temp.	SA (mg · L ⁻¹)	呼吸强度 Respiration intensity (CO ₂ mg h ⁻¹ g ⁻¹ FM)	外渗电导率 Electrolyte exosmosis rate(%)	SOD 活性 SOD activity (U h ⁻¹ g ⁻¹ FM)	POD 活性 POD activity (OD ₄₀₅ min ⁻¹ g ⁻¹ FM)	MDA 含量 MDA content (μmol g ⁻¹ FM)	花粉萌发率 Pollens germination rate(%)	
							有柱头 Pistil	无柱头 Not pistil
0	0	1.32	5.60	839.0	123.62	2.23	7.0	1.1
	2	1.29	5.34	1173.8	122.84	1.56	67.2	2.7
	10	1.21	4.95	1381.2	132.03	1.22	78.2	9.8
	20	1.08	4.25	1401.1	168.96	1.18	88.2	13.2
	40	1.18	4.70	496.6	127.07	1.43	81.3	7.8
	80	1.13	5.40	415.6	123.54	1.69	68.3	5.1
20(CK)		1.03	3.96	1052.7	157.38	1.92	37.8	

收稿日期：2004 - 08 - 12；修回日期：2004 - 09 - 20