

分蘖洋葱茎尖愈伤组织诱导及植株再生

陈典¹ 徐启江²

(¹ 东北农业大学园艺系, 哈尔滨 150030; ² 黑龙江农垦师范专科学校生物系, 阿城 150301)

摘要: 阿城紫皮分蘖洋葱鳞茎茎尖愈伤组织诱导培养基以 MS + 2,4-D 2.0 mg L⁻¹ + KT 0.5 mg L⁻¹ 最佳, 出愈率为 100%; 分化培养基以 MS + NAA 0.1 mg L⁻¹ + BA 0.4 mg L⁻¹ 最佳, 分化率为 88.3%, 平均成苗数为 10.2; 生根壮苗最佳培养基为 1/2 MS + PP₃₃₃ 0.1 mg L⁻¹ + NAA 0.01 mg L⁻¹ + IBA 1.5 mg L⁻¹, 生根率 100%, 移栽成活率达 100%。

关键词: 洋葱; 愈伤组织; 再生植株; 移栽

中图分类号: S 633.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2001) 04-0359-02

1 目的、材料与方法

分蘖洋葱 (*Allium cepa* L. var. *multiplacans* Bailey syn. var. *Agrogatum* Don) 由于生产上长期采用鳞茎繁殖, 致使病毒积累、产量及品质下降。作者以‘阿城紫皮’分蘖洋葱茎尖为试材, 进行组培研究, 为脱毒苗大量繁殖奠定基础。

剥除鳞茎外皮, 洗净后切除顶部 2/3, 于 70℃ 温箱中热处理 10 min, 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, 在无菌条件下剥离 0.2~0.5 mm 茎尖, 接种到脱分化培养基, 35 d 时统计出愈率。选择生长较好、质地疏松的愈伤组织切成 5 mm 的方块接入分化培养基, 40 d 时统计分化率和平均成苗数。将 3.5~5 cm 高的分化苗分离, 移入生根培养基, 20 d 时统计生根率。选择健壮的试管苗进行驯化移栽, 15 d 时统计成活率; 40 d 后将成活苗移入冷床, 扣网棚防蚜。均以 MS 为基本培养基, 添加不同的植物激素, 蔗糖 3%, 琼脂 0.8%, 调 pH 值至 5.7~5.8。脱分化培养基: (1) MS, (2) MS + 2,4-D 2.0 mg L⁻¹ + KT 0.5 mg L⁻¹, (3) MS + 2,4-D 2.0 mg L⁻¹ + KT 1.0 mg L⁻¹, (4) MS + 2,4-D 2.0 mg L⁻¹ + BA 0.5 mg L⁻¹, (5) MS + 2,4-D 2.0 mg L⁻¹ + BA 1.0 mg L⁻¹; 分化培养基: MS + NAA + BA, NAA、BA 浓度分别为 0.1、0.5、1.0 mg L⁻¹ 和 0.1、0.4、1.0 mg L⁻¹, 共 9 个处理; 生根培养基: (1) MS + NAA 0.01 mg L⁻¹ + IBA 1.5 mg L⁻¹, (2) 1/2 MS + NAA 0.01 mg L⁻¹ + IBA 1.5 mg L⁻¹, (3) 1/2 MS + PP₃₃₃ 0.1 mg L⁻¹ + NAA 0.01 mg L⁻¹ + IBA 1.5 mg L⁻¹。培养温度 (22 ± 1)℃, 光照强度 2 000 lx, 光照时间 13 h d⁻¹。移栽前进行低温炼苗 5~7 d, 然后移植到营养钵中, 在自然光照 (昼 22~24℃, 夜 11~14℃, RH 90% 以上) 温室内驯化, 4 月 5 日前后栽植于冷床。生育过程中检查有无褪绿条斑、花叶、皱缩扭曲等病毒病症状, 同时电镜检测有无病毒粒体。

2 结果与分析

2.1 愈伤组织的诱导 生长素和细胞分裂素能启动细胞分裂, 导致愈伤组织发生^[1]。本试验表明, 2,4-D 与 KT 或 BA 组合均能诱导分蘖洋葱茎尖产生愈伤组织, 但 KT 的效果优于 BA; 并且 KT 以低浓度为优, BA 以高浓度为优; 当 KT、BA 浓度均为 0.5、1.0 mg L⁻¹ 时, 添加 KT 培养基的出愈率分别比添加 BA 培养基的高 57.3%、20.2%; KT 浓度为 0.5 mg L⁻¹ 的出愈率比浓度为 1.0 mg L⁻¹ 的高 30%; BA 浓度为 1.0 mg L⁻¹ 的出愈率比浓

收稿日期: 2001-03-15; 修回日期: 2001-06-18

度为 0.5 mg L^{-1} 的高 26.1 %。2,4-D 2.0 mg L^{-1} + KT 0.5 mg L^{-1} 是诱导愈伤组织的最佳激素组合, 35 d 出愈率达 100 %, 形成的愈伤组织呈白色或淡黄、浅绿色, 质地疏松, 生长量最大 (见插页 1 图版, A)。

2.2 愈伤组织的分化 在一定生长素浓度范围内, 随着 BA 浓度的增大, 愈伤组织的分化率也随之增大, 如 NAA 为 0.1 mg L^{-1} 时, BA 0.4 比 0.1 mg L^{-1} 的分化率高 46.6 %; NAA 为 0.5 mg L^{-1} 时, BA 0.4 比 0.1 mg L^{-1} 的分化率高 20.9 %。但 BA 浓度增大到一定值时, 愈伤组织的分化率则减少, 如 NAA 为 0.1 mg L^{-1} 时, BA 1.0 比 0.4 mg L^{-1} 的分化率低 51.3 %; NAA 为 0.5 mg L^{-1} 时, BA 1.0 比 0.4 mg L^{-1} 的分化率低 19.1 %。在细胞分裂素浓度较低时, 随着 NAA 浓度的增大分化率也随之增大, 但差异不明显, 如 BA 为 0.1 mg L^{-1} 时, NAA 为 0.1 、 0.5 、 1.0 mg L^{-1} 的分化率分别为 41.7 %、49.1 %、53.3 %; 但当 BA 浓度较高时, 要获得最高的分化率则要求较低的 NAA 浓度, 如 BA 为 0.4 mg L^{-1} 时, 达到 88.3 % 分化率时的 NAA 浓度为 0.1 mg L^{-1} 。所以较高浓度的 BA 和低浓度的 NAA 有利于愈伤组织的分化。

40 d 时 MS + NAA 0.1 mg L^{-1} + BA 0.4 mg L^{-1} 培养基愈伤组织分化率最高, 达 88.3 %, 并且每块愈伤组织上形成的芽最多, 可达 14 个芽, 平均成苗数高达 10.2, 其繁殖系数是生产上鳞茎繁殖的 12 倍。

2.3 生根和壮苗 切取健壮芽转入到生根培养基 20 d 后的结果表明, $1/2 \text{ MS} + \text{PP}_{333}$ 0.1 mg L^{-1} + NAA 0.01 mg L^{-1} + IBA 1.5 mg L^{-1} 培养基为最佳, 能诱导根系早生快发, 根粗而多 (见插页 1 图版, D), 叶色浓绿, 植株整齐, 地上与地下部能协调生长。

2.4 炼苗与移栽 3 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 °C 室温下炼苗 5 ~ 7 d。然后洗净根系附着的琼脂, 移植到营养钵中。基质为 $1/3$ 草炭土、 $1/3$ 大田土、 $1/3$ 厩肥并添加少量过筛炉灰渣。浇足水后置于温室中管理, 其成活率为 100 % (见插页 1 图版, E); 4 月 5 日前后移栽到冷床中, 植株能适应外界环境条件, 生长势强 (见插页 1 图版, F)。经观察无病毒病症状, 经电镜检测脱毒率达 100 %。

参考文献:

- 1 中国科学院上海植物生理研究所. 植物组织和细胞培养. 上海: 上海科学技术出版社, 1978. 177 ~ 178

Callus Induction and Plantlets Regeneration of Tillered-onion from the Shoot-tip

Chen Dian¹ and Xu Qijiang²

(¹ Department of Horticulture, Northeast Agriculture University, Harbin 150030; ² Department of Biology, Heilongjiang Nongken Teachers College, Acheng 150301)

Abstract: This paper reports the studies on in vitro culture of shoot-tip of tillered-onion, including callus induction and differentiation, plantlet root development and transplantation. Results showed: (1) MS basal medium supplemented with 2,4-D 2.0 mg L^{-1} and KT 0.5 mg L^{-1} was advantageous to callus induction. The frequency of callus induction was 100 %. (2) The combination of NAA 0.1 mg L^{-1} and BA 0.4 mg L^{-1} was the best for callus differentiation with the ratio of 88.3 %. Most of callus was aggrandized again and induced green bud spots then formed multiplying clumpy buds, the mean number of plantlets per callus was 10.2. (3) 100 % of the regenerated plantlets treated with NAA 0.01 mg L^{-1} and IBA 1.5 mg L^{-1} and PP_{333} 0.1 mg L^{-1} could develop their roots, grew robustly and robust green leaves, after the regenerated plantlets were transplanted to soil. The survival ratio of transplanting reached 100 %.

Key words: Tillered-onion; Shoot-tip; Callus; Plant regeneration; Transplant