

大蒜脱毒苗扩繁途径的探讨

陈典 栾非时 陈友

(东北农业大学园艺系·哈尔滨)

摘要:应用植物组织培养技术,探讨利用脱毒种蒜茎尖周围鳞茎组织进行扩繁的新途径。结果表明:以MS为基本培养基,诱导鳞茎愈伤组织形成及分化幼芽的最佳激素浓度组合为2,4-D 0.1mg/L +BA 0.3mg/L ,切割幼芽接种于NAA;BA不同激素浓度处理的培养基中,促使幼苗株高,叶片生长的最佳激素浓度组合为NAA 0.05mg/L +BA 0.5mg/L 。因此,切取脱毒种蒜茎尖周围 $0.2\text{--}0.3\text{mm}$ 鳞茎组织,经愈伤组织诱导,幼芽分化,幼苗生长三个阶段110天培养,可获得4株试管成苗,并且经幼苗根尖染色体压片,镜检,未发现有任何染色体变异。

关键词:脱毒种蒜,鳞茎组织,扩大繁殖。

“阿城大蒜”植株生长繁茂,蒜皮呈紫色,蒜头直径 $3.5\text{--}5.0\text{cm}$,高 $4.0\text{--}5.5\text{cm}$,每头 $5\text{--}8$ 瓣,单头干重 $25\text{--}50\text{g}$ 。成熟早,产量高,品质优良。但由于连年使用鳞茎繁殖,品种退化相当严重,几乎全部感染病毒。表现为:花叶,褪绿条斑,矮化,鳞茎球小,直径 $3.0\text{--}3.2\text{cm}$,高 $2.8\text{--}3.0\text{cm}$,平均单头干重 13.5g ,小蒜瓣增加,产量逐年降低。近年来,国内外通过切取 $0.1\text{--}0.2\text{mm}$ 大蒜茎尖分生组织培育脱毒苗,并进行加代,驯化培养获得脱毒种蒜。但由于繁殖系数低,生产成本低,定植于露地后病毒易再侵染等一系列问题,因此,未能大面积应用于生产实践。目前国内外虽然开展了利用茎尖分生组织,叶片,气生鳞茎,茎盘等进行脱毒种蒜大量繁殖的研究,但以茎尖周围鳞茎组织为试材的研究较少。本试验主要研究利用脱毒种蒜鳞茎组织拓宽繁殖脱毒苗的途径,以期对脱毒种蒜应用于生产实践提供理论依据。

材料与方 法

一、材料与培养条件 本试验以阿城脱毒紫皮种蒜为试材。以MS为基本培养基。蔗糖与琼脂含量分别为 3% 和 0.8% ,PH调整至 5.7 ,培养温度 $23\text{--}25\text{C}$,补充光照时间 13 小时,光照强度 2500Lux 。试验时间1993年10月至1994年3月。

二、试验方法 (一)愈伤组织的诱导及幼芽分化。使用 10% 次氯酸钠溶液对去皮脱毒种蒜表面杀菌 10 分钟,在解剖镜下切取 $0.2\text{--}0.3\text{mm}$ 茎尖周围鳞茎组织,接种于2,4-D+BA不同激素浓度组合的培养基中,每三角瓶接种5块,重复10次,40天后调查愈伤组织重量,3个月后调查每块愈伤组织分化幼芽数。(二)幼苗培养。切割分化的幼芽,接种于NAA+BA不同激素浓度组合的培养基中,每三角瓶接种3个,重复5次,20天后调查各处理幼苗生长的株高与叶宽。(三)染色体观测。取幼苗生长 $0.8\text{--}1.0\text{cm}$ 长度的幼根,用对二氯苯饱和液预处理,卡诺氏液固定, 70% 酒精于冰箱中保存,制片时用 1NHCl 在 60C 水浴中水解8分钟, 4% 铁明矾于 $30\text{--}40\text{C}$ 水浴中媒染1小时,冲净铁明矾, 0.5% 苏木精染色4小时,压片、镜检、观测其变异率。

结果与分析

一、不同激素浓度组合对愈伤组织的形成及幼芽分化的影响 将鳞茎组织块接种于2,4-D+BA不同组合的培养基中,1周后观察到接种部位有膨大的黄白色颗粒状组织,说明愈伤组织形成,40天后对各处理愈伤组织重量进行方差分析,结果表明:2,4-D 0.1mg/L +BA 0.3mg/L 组合的愈伤组织重量最重,且分化幼芽数最多。

BA0.3mg/L 组合诱导的愈伤组织平均每块重 0.1148g, 极显著优于其他处理(表 1)。从形态上观察, 该组合的愈伤组织块体积大, 并且松紧适宜。

表 1 2,4-D, BA 不同激素浓度组合对愈伤组织重量及分化幼芽数的影响

2,4-D, BA(mg/L)	愈伤组织平均重 X _t (g)	显著水平		平均分化幼芽数 X _t (个)	显著水平	
		α=0.05	α=0.01		α=0.05	α=0.01
0.1 0.3	0.1148	a	A	4	a	A
0.3 0.3	0.0661	b	B	2.7	b	A
0.5 0.3	0.0648	b	B	0.8	c	B
0.7 0.3	0.0464	b	B	0.8	c	B
0.9 0.3	0.0437	b	B	0.75	c	B

接种 50 天后, 愈伤组织表面分化绿色幼芽, 3 个月对各组合分化幼芽数进行方差分析, 结果表明: 2,4-D0.1mg/L+BA0.3mg/L 处理组合愈伤组织每块分化幼芽数最高 12 个, 平均为 4 个, 显著高于其他处理组合

表 2 NAA, BA 不同激素浓度组合对幼苗生长的影响

激素及浓度 NAA, BA(mg/L)	平均株高 (cm)	显著水平		激素及浓度 NAA, BA(mg/L)	平均叶宽 (mm)	显著水平	
		α=0.05	α=0.01			α=0.05	α=0.01
0.05 0.5	9.38	a	A	0.05 0.5	4.52	a	A
0.05 1.0	8.64	ab	AB	0.05 1.0	4.12	ab	AB
0.5 0.5	7.14	bc	ABC	0.5 1.0	3.72	bc	ABC
0.05 3.0	6.34	cd	BCD	0.5 3.0	3.40	cd	BCD
0.05 5.0	5.98	cd	BCDE	1.0 0.5	3.34	cd	BCD
0.5 1.0	5.94	cd	BCDE	1.0 1.0	3.10	cde	CD
1.0 0.5	5.84	cd	BCDE	0.05 3.0	3.06	cde	CD
0.5 3.0	5.74	cd	BCDE	1.0 3.0	2.90	de	CDE
0.5 5.0	5.52	cde	CDEF	0.05 5.0	2.82	de	CDE
1.0 1.0	5.40	cdef	CDEF	2.0 0.5	2.76	de	CDE
2.0 1.0	4.28	defg	CDEF	0.5 5.0	2.64	def	DE
1.0 3.0	3.52	efg	DEF	1.0 5.0	2.54	ef	DE
1.0 5.0	3.34	fg	EFG	0.5 0.5	2.52	ef	DE
2.0 3.0	3.02	g	EFG	2.0 1.0	2.50	ef	DE
2.0 0.5	2.74	g	FG	2.0 3.0	1.94	f	EF
2.0 5.0	0.78	h	G	2.0 5.0	1.20	g	F

三、染色体观测 大蒜标准染色体 2n=16 条, 本试验通过对鳞茎愈伤组织分化幼苗的根尖染色体压片, 镜检, 观测 30 个染色体数目清晰的视野, 结果全部为 2n=16 条, 未发现变异。

小 结

切取 0.2—0.3mm 脱毒种蒜茎尖周围鳞茎组织, 经愈伤组织诱导, 幼芽分化, 幼苗生长三个阶段 110 天培养可获得 4 株试管苗, 经染色体观察未产生变异。因此

(表 1)。上述结果说明, 2,4-D0.1mg/L+BA0.3mg/L 浓度组合的培养基诱导产生愈伤组织及分化幼芽数均为最佳, 2,4-D0.1mg/L 浓度能较好的诱导愈伤组织产生, 而 BA0.3mg/L 浓度对愈伤组织分化幼芽有利。

二、不同激素浓度组合对幼苗生长的影响 切割分化的幼芽, 接种于 NAA+BA 不同激素浓度组合的培养基中, 1 周后观察各浓度组合的幼芽均有明显生长, 其中以 NAA0.05mg/L+BA0.5mg/L 组合的幼芽生长最快, 平均株高达 3.0cm, 叶宽 2.5mm, 20 天后对各处理组合幼苗的株高, 叶宽进行方差分析, 结果表明: NAA0.05mg/L+BA0.5mg/L 浓度组合的幼苗平均株高 9.38cm, 叶宽 4.52mm, 显著高于其他水平(表 2), 并且该组合幼苗产生了不定根。BA0.5mg/L 浓度能较好的促进幼苗生长, NAA0.05mg/L 浓度对幼苗发根有利, 随着 NAA 浓度的增高, 有不同程度地限制幼苗地上部生长的趋势。

利用脱毒种蒜丰富的鳞茎组织, 可较大的提高脱毒试管苗的繁殖数量, 对降低脱毒苗生产成本, 提高繁殖系数, 拓宽繁殖途径, 有很大的生产意义。(参考文献 7 篇略)

售 果 树 苗 山 丁 苗

品种: GM256, 76—1059(龙秋)、龙冠、123、黄太平、玲瑯、大秋, 李子有 1 号、3 号、17 号、216, 杏树 82—2, 山丁苗, 山杏苗, 樱桃苗, 山梨苗等, 价格合理, 请与五常市背阴河镇郑家村大盘道屯朱福君联系, 邮编: 150227。

北方园艺 (总 98) 17