

橡胶草高频再生体系的建立

罗成华, 闫洁, 祝建波

(石河子大学 生命科学院, 新疆 石河子 832003)

摘要:以橡胶草叶片为外植体,研究了消毒时间、外源激素等因素对外植体成活率、不定芽的诱导、伸长和生根的影响。结果表明:用 0.1% 的升汞处理 7 min 为最佳消毒方法,最佳的再生培养基为 MS+1.5 mg/L 6-BA+0.1 mg/L NAA,平均诱导率为 97.3%,芽伸长培养基为 MS+2.0 mg/L 6-BA+0.02 mg/L NAA+0.4 mg/L GA₃,生根培养基为 1/2MS+0.2 mg/L NAA,生根率为 100%,所获得的组培苗生长健壮且移栽成活率高,最终摸索出了橡胶草最佳的再生体系。

关键词:橡胶草;再生体系;生根

中图分类号:S 682.1⁺9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)07-0115-05

蒲公英青橡胶草(*Taraxacum kok-saghyz* Rodin)是菊科(Compositae)蒲公英属多年生宿根草本植物,又称俄罗斯蒲公英,在我国俗称橡胶草^[1]。橡胶草与巴西三叶胶、银胶菊一起并称为全球三大产胶植物,其根叶均有乳管组织,多年生植株的根内含有高达 20% 的橡胶^[2],结构和功能与巴西橡胶相似,是具有良好开发前景的产胶植物,同时也是能用来研究橡胶树产胶机理的模式植物,具有很好的研究前景。目前国内学者对橡胶草的研究仍旧停留在形态学方面^[3-4],国外学者对橡胶草的产胶蛋白颗粒及相关的酶进行了分子生物学方面的研究^[5-7],但有关其高效再生体系建立的研究未见发表。现对橡胶草的离体培养进行了研究,建立了高效的再生体系,以期对橡胶草的组培快繁和遗传转化研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

橡胶草植株于 2011 年 6 月采自新疆石河子市蘑菇湖水库边,移栽至温室培养。

1.2 试验方法

1.2.1 外植体的灭菌 采集橡胶草新生幼嫩叶片,用洗洁精水溶液浸泡 10 min,用棉球轻轻擦拭表面,自来水清洗 5 次,在超净工作台内用 70% 酒精处理 30 s,再用 0.1% 升汞做表面消毒处理,处理时间分别为 5、6、7、8 和 9 min。消毒后用无菌水清洗 5 次,每次 5 min,最后将叶

片边缘和主叶脉剪掉,剪成大小为 1 cm×1 cm 的外植体,正面朝上接种于未添加激素的空白培养基上,比较消毒效果,3 次重复。

1.2.2 培养基的配置 采用 MS、1/2MS 基本培养基,添加蔗糖 30 g/L,植物凝胶 2.0 g/L,pH 5.8,分装并高压灭菌后添加不同种类和浓度的植物生长调节剂,倒于培养皿或三角瓶中备用。

1.2.3 不定芽的诱导 采用 MS 基本培养基,添加不同浓度的 6-BA 和 NAA 作为再生诱导激素,采用正交设计 L₁₆(4⁵),设置 2 个因素分别为 6-BA 和 NAA,每个因素设置 4 个水平(表 1),3 次重复。

表 1 因素与水平

Table 1 Factors and levels

水平 Levels	因素 Factors	
	6-BA/mg · L ⁻¹	NAA/mg · L ⁻¹
1	0.5	0.1
2	1.0	0.2
3	1.5	0.5
4	2.0	0.8

1.2.4 不定芽的伸长 将已分化出不定芽的外植体分别接种到添加不同浓度激素的 MS 基本培养基中,其中,6-BA 浓度为 2.0 mg/L,赤霉素浓度为 0.2 和 0.4 mg/L,NAA 浓度为 0 和 0.02 mg/L。

1.2.5 不定芽的生根 将生长健壮,长 2.0 cm 左右的不定芽掰下,于室温下在 IBA 浓度为 100 mg/L 的液体 MS 培养基中浸泡 16 h,然后分别接种到 NAA 浓度为 0、0.2 和 0.5 mg/L 的 1/2MS 培养基上,先暗培养 2 d,后移至自然光下培养。

1.2.6 培养条件 丛生芽诱导、芽伸长和不定根的诱导均在光照强度 2 600 lx,光照时间 16 h/d,温度 26℃ 条件下进行培养。每 15 d 更换 1 次培养基,观察并记录。

第一作者简介:罗成华(1989-),男,湖北公安人,在读硕士,现主要从事植物基因工程研究工作。E-mail:luochenghua890420@163.com。

责任作者:闫洁(1969-),女,博士,副教授,现主要从事生物化学与分子生物学教学与科研工作。E-mail:jiey@shzu.edu.cn。

收稿日期:2012-01-04

2 结果与分析

2.1 消毒时间对橡胶草叶片外植体的影响

从表 2 可看出,用 0.1% 的升汞溶液处理橡胶草叶片,随着消毒时间的增加,污染率逐渐降低,但外植体的

表 2 不同消毒时间对橡胶草的污染率、褐变率及成活率的影响

Table 2 The pollution rate, browning rate and survival rate of *Taraxacum kok-saghyz* in different disinfection time

消毒时间 Disinfection time/min	污染率				褐化率				成活率			
	Pollution rate/%				Browning rate/%				Survival rate/%			
	I	II	III	平均 Average	I	II	III	平均 Average	I	II	III	平均 Average
5	74	72	69	71.7	4	6	2	4.0	24	25	29	26.0
6	48	49	46	47.7	5	4	7	5.3	49	49	50	49.3
7	6	6	4	5.3	8	10	6	8.0	92	87	90	89.7
8	2	4	3	3.0	24	18	19	20.3	69	72	78	73.0
9	0	0	0	0	45	32	43	40.0	50	55	48	51.0

表 3 橡胶草叶片外植体丛生芽诱导的正交实验结果

Table 3 The orthogonal test results of *in vitro* shoot induction of *Taraxacum kok-saghyz* blade explant

处理 Treatment	6-BA /mg · L ⁻¹	NAA /mg · L ⁻¹	诱导率			平均	现象 Phenomenon
			Induction rate / %			Average /%	
1	0.5	0.1	0	0	0	0	外植体接种后生长缓慢,15 d 后边缘出现轻微膨大,20 d 左右长出愈伤组织,随后发生褐化并死亡
2	0.5	0.2	0	0	0	0	外植体接种后生长缓慢,9 d 后边缘出现膨大,15 d 左右愈伤组织强烈生长
3	0.5	0.5	10	7	0	5.7	多数外植体只长愈伤,个别出芽缓慢,且平均出芽数低
4	0.5	0.8	0	0	0	0	外植体接种后 7 d 左右开始出现愈伤组织,随后只见愈伤组织膨大,不见有出芽趋势
5	1.0	0.1	24	27	32	27.7	接种 20 d 左右开始出现个别绿色芽点,平均出芽数低,多数外植体仍旧只长愈伤不出芽
6	1.0	0.2	86	90	78	84.7	接种 15 d 左右开始有绿色芽点出现,25 d 左右普遍出芽,且平均出芽数为 8
7	1.0	0.5	78	74	75	75.7	接种后愈伤组织增长迅速,出芽缓慢,12 d 左右开始有绿色芽点出现
8	1.0	0.8	15	24	18	19.0	外植体边缘愈伤组织增殖快,接种 20 d 以后才开始有少量绿色芽点出现,且芽生长缓慢
9	1.5	0.1	95	97	100	97.3	外植体接种后 4 d,边缘加厚并轻微膨大,15 d 左右开始有绿色芽点出现,20 d 普遍出芽,最终平均出芽数为 10
10	1.5	0.2	86	79	83	82.6	接种 12 d 左右开始有绿色芽点出现,25 d 左右普遍出芽,且平均出芽数为 4
11	1.5	0.5	76	76	74	75.3	外植体长出轻微愈伤后即开始出芽,但平均出芽数低,只有 3
12	1.5	0.8	35	28	36	33.0	外植体出愈迅速,接种 15 d 后长出大量愈伤组织,未见有芽点出现
13	2.0	0.1	42	46	52	46.7	接种 4 d 后边缘开始有明显膨大,15 d 左右开始出现不定芽,平均出芽数为 3,多数外植体生长缓慢,不见出芽
14	2.0	0.2	68	74	68	70.0	接种 20 d 左右开始出芽,平均出芽数为 6.3
15	2.0	0.5	65	59	62	62.0	外植体出愈严重,接种 20 d 后个别才开始有芽点出现,平均出芽数为 3
16	2.0	0.8	36	36	37	36.3	外植体愈伤增殖严重,15 d 后出现少量芽点,不定芽诱导及生长缓慢

2.2.2 对 6-BA 和 NAA 正交组合结果进行方差分析及多重比较 为了探明 6-BA 和 NAA 对丛生芽诱导的显著性及其各水平间的差异,对正交实验结果进行了方差分析和多重比较(表 4、5、6)。由表 4 可知,6-BA 和 NAA 2 种植物激素以不同浓度组合诱导丛生芽,均达到了显著差异水平。为进一步探明显著因素中各水平之间的差异情况,需进行 2 个因素内部的多重比较(表 5、6)。

表 4 不同浓度 6-BA 和 NAA 组合对橡胶草不定芽诱导的方差分析

Table 4 Variance analysis of different concentration 6-BA and NAA combination on *in vitro* shoot induction of *Taraxacum kok-saghyz*

来源	自由度	平方和	均方	F	P
Origin	Freedom	Sum of squares	Mean square		
A	3	3.306	1.102	48.267	0.000
B	3	0.994	0.331	14.510	0.000
误差 Error	3	0.936	0.023		
总变异 Total variation	9	5.236			

褐化率也随着时间的增加而上升,当消毒时间为 9 min 时,褐化率达到 40.0%。而外植体的成活率却随着消毒时间的增加呈现出先上升后下降的趋势。综合比较污染率、褐化率与成活率 3 个指标,最终确定橡胶草叶片外植体升汞消毒的最佳时间为 7 min,此时污染率为 5.3%,褐化率为 8%,成活率为 89.7%,能够满足组培需要。

2.2 不同浓度 6-BA 和 NAA 对橡胶草不定芽诱导的影响

2.2.1 正交实验结果 选择最合适的消毒方法进行处理后,将外植体正面朝上接种至不同浓度组合的再生培养基上,先暗培养 2 d,后移至自然光下培养。在按照正交设计的橡胶草不定芽诱导培养基中,外植体的分化程度差异显著。在接种 7 d 后,个别外植体卷曲,边缘加厚,个别继续膨大形成淡黄色的愈伤组织,个别则在边缘出现绿色芽点。由表 3 可知,最佳诱导不定芽培养基为 MS+6-BA 1.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L。

表 5 不同浓度 6-BA 对橡胶草丛生芽诱导的多重比较

Table 5 Multiple comparisons of 6-BA on *in vitro* shoot induction of *Taraxacum kok-saghyz*

(I)6-BA	(J)6-BA	标准误差 Standard error	P
A1	A2	0.06169	0.000
	A3	0.06169	0.000
	A4	0.06169	0.000
A2	A1	0.06169	0.000
	A3	0.06169	0.002
	A4	0.06169	0.747
A3	A1	0.06169	0.000
	A2	0.06169	0.002
	A4	0.06169	0.005
A4	A1	0.06169	0.000
	A2	0.06169	0.747
	A3	0.06169	0.005

注:均值差值在 0.05 级别上较显著,下同。

Note: The mean difference in the 0.05 level is significant, the same below.

表 6 不同浓度 NAA 对橡胶草丛生芽诱导的多重比较

Table 6 Multiple comparisons of NAA on *in vitro* shoot induction of *Taraxacum kok-saghyz*

(I) NAA	(J) NAA	标准误差 Standard error	P
B1	B2	0.06169	0.011
	B3	0.06169	0.064
	B4	0.06169	0.002
B2	B1	0.06169	0.011
	B3	0.06169	0.454
	B4	0.06169	0.000
B3	B1	0.06169	0.064
	B2	0.06169	0.454
	B4	0.06169	0.000
B4	B1	0.06169	0.002
	B2	0.06169	0.000
	B3	0.06169	0.000

多重比较结果表明,6-BA 各水平中,A2(1.0 mg/L)和 A4(2.0 mg/L)之间差异显著,NAA 各水平中 B2(0.2 mg/L)和 B3(0.5 mg/L)之间差异显著。

2.3 不同浓度激素对不定芽伸长的影响

将生长良好的已诱导出不定芽的外植体接种至不同浓度的芽伸长培养基上,结果表明,不定芽均能伸长,只是在伸长时间上存在差异。从表 7 可看出,最佳芽伸长培养基为 MS+2.0 mg/L 6-BA+0.4 mg/L GA₃+0.02 mg/L NAA。

表 7 不同浓度激素对不定芽伸长的影响

Table 7 Effects of different concentration hormones on the elongation of *in vitro* shoots

处理 Treatment	6-BA /mg · L ⁻¹	GA ₃ /mg · L ⁻¹	NAA /mg · L ⁻¹	现象 Phenomenon
1	2.0	0.2	0	芽生长缓慢,约 14 d 后个别出现明显伸长
2	2.0	0.2	0.02	接种约 8 d 后芽开始有明显伸长,且不定芽生长健壮,约 20 d 后长度达到 1 cm
3	2.0	0.4	0	接种后芽生长较慢,10 d 后个别不定芽出现明显伸长
4	2.0	0.4	0.02	接种约 5 d 后可以看见明显伸长,约 16 d 后长度达到 1~2 cm,且不定芽生长健壮

2.4 不定芽的生根

在试验中发现,橡胶草不定芽的生根较为困难,在 1/2MS 培养基中单独添加一定浓度的 NAA 诱导生根缓慢,且生根质量欠佳。然而在将不定芽插入到生根培养基前于室温下在含 100 mg/L IBA 的液体 MS 培养基(添加 30 g/L 蔗糖,pH 为 5.8)中浸泡 16 h,然后插入生根培养基中,各浓度 NAA 均能很快诱导不定芽生根。从表 8 可看出,橡胶草不定芽的根诱导需要 NAA 的存在,且浓度为 0.2 和 0.5 mg/L 的 NAA 处理均能在短期内达到 100% 的生根率,为节约成本考虑,在今后的试验中应选择 1/2MS+0.2 mg/L NAA 作为根诱导培养基。

表 8 不同浓度 NAA 对不定芽生根率的影响

Table 8 Effects of different concentration NAA on rooting rate of *in vitro* shoots

处理 Treatment	NAA /mg · L ⁻¹	生根率 Rooting rate /%	现象 Phenomenon
1	0	0	不定芽接种后生根缓慢,个别只见伸长,极个别在接种 25 d 后才表现出生根趋势,且组培苗弱小,叶片有时泛黄
2	0.2	100	生根迅速,70% 不定芽在接种 10 d 后即表现出生根趋势,20 d 左右生根率达到 100%,且生根质量好,苗粗壮,叶片呈浓绿色
3	0.5	100	生根迅速,85% 不定芽在接种 10 d 后即表现出生根趋势,20 d 左右生根率达到 100%,且生根质量好,苗粗壮,叶片呈浓绿色

3 结论与讨论

3.1 结论

该研究结果表明,橡胶草叶片外植体直接诱导丛生芽的最适培养基为 MS+1.5 mg/L 6-BA+0.1 mg/L NAA,该培养基诱导产生不定芽时间短,外植体出芽率高,出芽整齐,且芽形好。通过方差分析及多重比较发现,所选择的 2 种激素均表现出显著性差异,6-BA 各水平中 A2(1.0 mg/L)和 A4(2.0 mg/L)之间差异显著,NAA 各水平中 B2(0.2 mg/L)和 B3(0.5 mg/L)之间差异显著;最佳芽伸长培养基为 MS+2.0 mg/L 6-BA+0.02 mg/L NAA+0.4 mg/L GA₃,已出芽的外植体接种到该培养基后能很快看见不定芽有明显伸长,且能在短期内达到理想的长度;最佳的生根培养基为 1/2MS+0.2 mg/L NAA,该培养基中诱导生根迅速,生根质量好,长出的组培苗健壮,叶片浓绿,移栽后成活率高。

3.2 讨论

在植物的组织培养中,外植体灭菌的时间长短直接影响着外植体的污染率和存活率^[8]。在该研究中,选择了表面消毒效果最佳的 0.1% 升汞溶液,设置了消毒处理的时间梯度。结果表明,在处理时间为 7 min 时,外植体的污染率下降到了 5.3%,褐化率为 8.0%,成活率为 89.7%,而当处理时间增加至 9 min 时,尽管污染率降至 0,但是褐化率却增加到了 40.0%,而且添加抑制物也很难降低褐化,外植体成活率也下降至 51.0%。可能因为升汞是一种强表面消毒剂,在消毒振荡过程中会使外植体因为液体剪切力而受伤,从而导致升汞进入叶片伤口而难以在后续处理中清洗干净,继而在后面的培养过程中伤害植物组织,导致酚类氧化物加速氧化而增加外植体的褐变几率。

在该研究的预试验中,发现橡胶草叶片外植体经直接消毒后接种至培养基上极易导致褐化,有时褐化率竟高达 100%。在植物组织培养中,褐化一般可分为两大类:一类是在氧化酶催化下的多酚类物质的氧化变色,

称为酶促褐变;另一类是如美拉德反应、焦糖化作用等产生的褐变没有酶的参与,称为非酶褐变^[9]。多数认为,植物组织培养中的褐化现象主要是由酶促褐变引起的^[10],即由多酚氧化酶(PPO)作用于天然底物酚类物质而引起的^[11],品种褐化难易可能与该品种中多酚类物质含量的多少及多酚氧化酶活性的差异有关^[12]。培养材料褐变主要是由伤口分泌的酚类化合物引起的^[13],由于组织中多酚氧化酶被激活,使细胞中的代谢发生变化,酚类化合物被氧化后产生醌类化合物,它们会逐步扩散到培养基中,抑制其它酶的活性,毒害整个外植体组织,导致组织代谢紊乱,生长受阻,最终逐渐死亡^[14]。前人在对果蔬的组织培养研究中指出,外植体总多酚含量与褐化关系密切^[15-17],其中 PPO 活性的高低是引起材料褐变的关键。段艳欣等^[18]通过对不同基因型的柑橘胚性愈伤组织的多酚含量和多酚氧化酶活性的测定发现,柑橘胚性愈伤组织褐化与多酚含量成正相关,而多酚氧化酶活性则与愈伤组织的褐化无明显相关。Wahler D 等^[6]研究表明,在橡胶草体内含有大量活性很高的 PPO,正是这些 PPO 能在短时间内让橡胶草伤口处分泌的乳胶迅速褐化凝聚,从而避免乳胶的不必要流失。该研究中可能正是因为橡胶草体内存在的高浓度 PPO 而导致了极高的褐化率。

为尽量降低褐化率,尝试了多种防止褐化的方法。结果表明,在培养基中添加活性炭(3 g/L)虽然能明显降低褐化率,但是由于活性炭的无选择性吸附,外植体在接种到培养基后很难生长,在 2 周后相继黄化并死亡。有研究指出,活性炭不仅能吸收有毒物质,但同时也能吸收植物生长所必需的营养元素。刘真华等^[19]在蝴蝶兰的组织培养中发现活性炭能有效控制褐化和促进生长,但不利于不定芽的分化;添加一定量的(2.0 mg/L)的维生素 C 也不能达到很好的效果,外植体褐化率仍然高达 30%;在将外植体消毒处理并接种至培养基后先低温暗培养 2 d,再移至自然光下培养,2 d 后倒板至添加了一定量的 20% Na₂S₂O₃ 的 MS 培养基中,能显著降低褐化率。这可能是因为温度过高或光照过强,都会加速酚类化合物的氧化,而低温处理或暗培养能使外植体在伤口愈合的过程中避免高温或强光,从而能有效防止褐化^[20]。欧阳磊^[21]在桉树培养中发现,减少光线的照射,巨桉带芽茎段在 5℃低温下处理几天,可以有效降低外植体诱导的褐化率。在培养基中加入抗氧化剂 Na₂S₂O₃ 也能有效防止褐化,韩素英等^[22]在核桃的组织培养中使用 Na₂S₂O₃ 作为抗氧化剂防止褐化,取得了很好的效果。龚晓洁^[23]通过对马铃薯愈伤组织培养的研究发现 20 g/L 的 Na₂S₂O₃ 防褐效果最好,可以将褐化率降低到 15% 以下。

可能是因为外源因素的影响,橡胶草不定芽在直接

插入到含有 NAA 的 1/2MS 培养基后生根缓慢且生根率低,但采用接种前用一定浓度 IBA 的液体 MS 培养基浸泡不定芽的方法能在短期内获得极高的生根率。Castillon J 等^[24]在对同样是产胶植物的银胶菊不定芽的生根培养中采用了这种方法,最终获得了高达 100% 的生根率。段莹莹等^[25]用 IBA 溶液对食用菊插穗基部进行浸泡处理诱导生根,结果表明 IBA 能明显促进生根,用 150 mg/L IBA 浸泡 2 h 处理的生根率最高,可由 75% 提高到 100%。董必慧等^[26]在菊花水插生根的研究中采用不同浓度的 IBA 溶液浸泡处理,发现经过浸泡处理能明显缩短插穗生根时间,且在浓度为 100 mg/L 时效果最佳,而浓度过高时则会抑制根的生长。容惠玲^[27]在金钱树插条进行不同浓度 IBA 溶液的浸泡处理发现,150~200 mg/L 的浓度最能促进生根。

在橡胶草的遗传转化研究中,Schmidt T 等^[7]采用玉米素和 NAA 对丛生芽进行诱导。但是由于玉米素价格昂贵,而 6-BA 完全可以替代 ZT,故在该研究中,通过对 6-BA 和 NAA 进行不同水平的正交实验,最终获得了叶片外植体直接诱导丛生芽的最适培养基,且不定芽的诱导率高达 97.3%,在经过芽伸长培养后所获得的不定芽完全可以满足生根的需要,从而为橡胶草的组织培养及遗传转化开辟了一条更加经济的再生途径。

参考文献

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志[M]. 北京:科学出版社,1999:45-46.
- [2] 罗士苇,冯午,吴相钰. 橡胶草[M]. 北京:中国科学院,1951.
- [3] 罗士苇,冯午,吴相钰. 橡胶草的研究部分I-新疆橡胶草的形态观察[J]. 中国科学,1951,2(3):373-379.
- [4] 龚祝南,张卫明,刘常宏,等. 中国蒲公英属植物资源[J]. 中国野生植物资源,2001,20(3):9-14.
- [5] Schmidt T, Hillebrand A, Wurbs D. Molecular cloning and characterization of rubber biosynthetic genes from *Taraxacum kok-saghyz* [J]. Plant Mol Biol Rep, 2010, 28: 277-284.
- [6] Wahler D, Gronover C S, Richter C. Polyphenoloxidase silencing affects latex coagulation in *Taraxacum* species [J]. Plant Physiology, 2009, 151: 334-346.
- [7] Schmidt T, Lenders M, Hillebrand A. Characterization of rubber particles and rubber chain elongation in *Taraxacum kok-saghyz* [J]. BMC Biochemistry, 2010, 11: 11.
- [8] 李永文,刘新波. 植物组织培养技术[M]. 北京:北京大学出版社,2007.
- [9] 杨昌鹏,黄华海. 果蔬多酚氧化酶酶促褐变的控制[J]. 食品研究与开发,2008,29(10):135-138.
- [10] Asmus B, Hamme H. Enzymatic browning of vegetables. Calibration and analysis of variance by multiway methods [J]. Chemometrics Intelligent Laboratory Systems, 1996, 34: 85.
- [11] 李凤兰,胡国富,胡宝忠. 八种不同花色一串红组织培养快繁的研究[J]. 生物技术,2005,15(4):71-73.
- [12] 黄丹莹,江贵波. 植物组织培养褐变产生的因素及对策[J]. 广西轻工业,2006(5):31-32.

- [13] 颜昌敏. 植物组织培养手册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1990.
- [14] 陈菲, 李黎, 宫伟. 植物组织培养的防褐化探讨[J]. 北方园艺, 2005(2): 69.
- [15] 刘杰, 张希. 梨外植体组培褐变的影响因子及预防措施[J]. 果树学报, 2008, 25(5): 727-731.
- [16] Rocha A M C N, Morais A M M B. Polyphenoloxidase activity of minimally processed 'Jonagored' apples (*Malus domestica*) [J]. Journal of Food Processing and Preservation, 2005, 29: 8-19.
- [17] Mayer A M. Polyphenol oxidases in plant-recent progress[J]. Phytochemistry, 1987, 26: 11-20.
- [18] 段艳欣, 郭文武. 多酚含量及多酚氧化酶活性与柑橘胚性愈伤组织褐化的关系[J]. 中国农学通报, 2009, 25(15): 117-120.
- [19] 刘真华, 葛红, 郭绍霞. 蝴蝶兰组织培养中的褐化控制研究[J]. 园艺学报, 2005, 32(4): 732-734.
- [20] 谷延泽, 高瑞彦. 植物组织培养中的褐化现象及防治措施[J]. 河北农业科学, 2008, 12(6): 56-58.
- [21] 欧阳磊. 桉树组培快繁中存在的问题与对策[J]. 福建林业科技, 2006, 33(1): 203-206.
- [22] 韩素英, 齐亚旺, 张淑改. 核桃组培中防止组织氧化褐变措施的研究[J]. 山西农业大学学报, 1995, 15(4): 339-341.
- [23] 龚晓洁. 几种防褐剂对马铃薯愈伤组织培养褐化现象的抑制效应[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(22): 10410-10412.
- [24] Castillon J, Cornish K. A simplified protocol for micropropagation of *guayule* (*Parthenium argentatum* Gray) [J]. In Vitro Cell, 2000, 36: 215-219.
- [25] 段莹莹, 贾文龙. 不同质量浓度 IBA 对食用菊扦插繁殖的影响[J]. 山西农业科学, 2011, 39(8): 838-840.
- [26] 董必慧, 沈银凤. 不同浓度 IBA 处理对菊花水插生长的影响[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(26): 11311-11313.
- [27] 容惠玲. 不同激素处理对水培金钱树生根的影响[J]. 广东农业科学, 2010(5): 30-31.

Establish of High Frequency Regeneration System of *Taraxacum kok-saghyz* Rodin

LUO Cheng-hua, YAN Jie, ZHU Jian-bo

(College of Life Science, Shihezi University, Shihezi, Xinjiang 832003)

Abstract: The effects of disinfection time and exogenous hormones on the survival rate, induction of *in vitro* shoot, elongation and root formation were studied by taking young leaf of *Taraxacum kok-saghyz* Rodin as explants. The results showed that the optimum disinfection method was treated with 0.1% HgCl_2 for 7 min; the optimum regeneration medium was $\text{MS} + 1.5 \text{ mg/L } 6\text{-BA} + 0.1 \text{ mg/L NAA}$ and the average induction rate was 97.3%; the optimum shoot regeneration medium was $\text{MS} + 2.0 \text{ mg/L } 6\text{-BA} + 0.02 \text{ mg/L NAA} + 0.4 \text{ mg/L GA}_3$; the best rooting medium was $1/2\text{MS} + 0.2 \text{ mg/L NAA}$, the rooting rate was 100%, the tissue cultured plants obtained grew well and had high survival rate after transplanting, the optimum regeneration system of *Taraxacum kok-saghyz* Rodin was found finally.

Key words: *Taraxacum kok-saghyz* Rodin; regeneration system; rooting

葡萄春季管理关键技术

春季是葡萄萌芽展叶、枝蔓伸长及抽穗、开花结果的季节, 加强春季葡萄管理, 可提高葡萄产量和品质。

2月中、下旬至3月初萌芽期灌催芽水, 施速效氮肥。此阶段有条件的果园应及时全园灌水, 以确保萌芽整齐。而此时正是花芽继续分化和新梢开始旺盛生长的时候, 需要大量的养分, 因此施用腐熟的人粪尿混掺0.2%尿素, 这次施肥量约占全年的15%左右。

3月份至4月中、下旬定梢、抹芽、花穗处理和病害防治。经过冬季整修后, 结果母枝上的冬芽通常都有70%~80%萌发, 此时应该注意留芽。留芽太多, 易浪费养分, 树势弱, 不利于坐果; 但若留芽太少, 易促发枝蔓旺盛生长严重的易落花落果, 因此要注意抹芽定梢。

抹芽: 通常一条结果母枝上有多个芽萌发时, 每隔15~20 cm留1芽, 每条结果母枝留2~5条新梢, 其余的从基部抹除。抹芽时, 一般抹除双芽中的无花穗芽或弱芽, 一个芽眼只留一条梢。为确保产量, 也可在新梢长至4~5片叶时, 视其第1卷丝是否带花穗而决定其去留, 但这样浪费养分较多。

定梢绑蔓: 所保留的新梢开花前在花穗以上留5片叶摘心, 而无花的梢留8片叶摘心。摘心后, 大量萌发副梢, 只留顶部1~2个副梢并且留2片叶反复摘心, 其余的副梢全部抹除。同时要根据蔓的生长适时绑蔓。

花果穗的处理: 为确保坐果率, 通常用人工方法将花穗1/5的穗尖摘除, 花期喷施0.3%硼肥加0.5%尿素。花后5 d对于结果较多的果树, 进行人工疏果, 然后套袋保护。

(来源: 农民日报)