

大蒜根尖培养诱导不定芽研究

薛寒青^{1,2} 王 舰^{1,2}, 周淑兰^{1,2}, 高 霞^{1,2}

(1. 青海省农林科学院 生物技术研究所, 青海 西宁 810016 2. 青藏高原生物技术教育部重点实验室, 青海 西宁 810016)

摘 要:以青海省格尔木蒜脱毒后获得的脱毒小蒜为试材, 研究不同培养基、蔗糖浓度、pH 值和不同浓度激素配比对脱毒的格尔木大蒜根尖诱导不定芽的影响。结果表明: 最佳培养基配比为 MS 培养基, pH 6.2, 蔗糖 20 g/L, BA 2 mg/L+2, 4-D 0.1 mg/L。pH 为 6.2 时诱导率达 81.7%, 蔗糖浓度 20 g/L 时诱导率达 55%, 激素配比为 BA 2 mg/L+2, 4-D 0.1 mg/L, 诱导率达 55%。

关键词: 脱毒; 大蒜; 根尖; 不定芽

中图分类号: S 633.460.36 文献标识码: A 文章编号: 1001-0009(2011)09-0120-03

1 材料与方法

1.1 试验材料

青海省格尔木蒜脱毒后获得的脱毒小蒜。培养基: MS 培养基 (Murashige and Skoog, 1962), B₅ 培养基 (Gamborg, 1968)。消毒剂: 0.5% 的 84 消毒液和 0.1% 的升汞 (HgCl₂) 等溶液现用现配。激素: 6-BA (6-苄基氨基嘌呤)、NAA (萘乙酸)、2, 4-D (2, 4-二氯苯氧乙酸)、KT (6-糠氨基嘌呤) 等, 先配制成 1 mg/mL 的溶液。

1.2 试验方法

1.2.1 材料灭菌 试验材料均在温度 (25±1) °C、光照

强度为 2 000 lx (16 h/d) 的条件下进行培养。以青海省格尔木蒜脱毒后获得的脱毒小蒜为试验材料, 剥去外层保护叶, 在流动的自来水中冲洗 20 min, 用 0.5% 的 84 消毒液浸泡并加入 1~3 滴 Tween-20 (表面活性剂), 在摇床上摇动消毒 30 min, 滤去消毒液后用无菌水 (取蒸馏水经过高温灭菌 30 min) 冲洗 3~5 次, 用 0.1% 升汞消毒 10 min, 滤去升汞液后用 75% 的酒精浸泡 30 s, 用无菌水冲洗 3~5 次。然后在超净工作台中再用 0.1% 升汞消毒 10 min, 用无菌水冲洗 3~5 次。然后在把已消毒的鳞茎接种到培养基中进行生根培养。待生出根后, 切取 2~3 mm 的根尖进行接种, 每瓶培养基接种 6 个根尖。

第一作者简介: 薛寒青 (1965), 女, 硕士, 研究员, 现主要从事蔬菜及花卉的组织培养和脱毒研究工作。E-mail: hanqx77@sina.com。

基金项目: 青海省科技厅资助项目 (2006-N-515)。

收稿日期: 2009-03-09

1.2.2 试验设计 不同培养基对大蒜根尖诱导不定芽的影响: 将生根培养后获得的根尖接种在 MS、B₅ 培养基上 (均含 BA 2.0 mg/L, NAA 1.0 mg/L), 15 次重复。30 d 后调查根尖诱导情况。蔗糖浓度对大蒜根尖诱导不

Investigation on the Current Situation of Green Roof in Hangzhou City

LI Ling-yun¹, BAO Zhi-yi¹, LAI Qi-xian², DENG Zhi-ping³, YING Qiu-shi³

(1. Institute of Landscape Architecture Zhejiang Agricultural and Forestry University, Lin'an, Zhejiang 311300; 2. Institute of Agriculture and Food Science Zhejiang Agricultural and Forestry University, Lin'an, Zhejiang 311300; 3. Botanical Garden of Hangzhou, Hangzhou, Zhejiang 310007)

Abstract: The variety of the plants used for roof greening of Hangzhou was added up to 145 species of 111 genera of 63 families. We analyzed the situation about the plant application from the ornamental features of them; classified the green roof according to the form of the garden layout and the open lever of the roof. Linked to field survey, compared with itself and the advanced level of abroad in green roof, we found the problems existing in the green roof of Hangzhou and suggested the improvements.

Key words: green roof; ornamental plant; Hangzhou city; investigation

定芽的影响:以蔗糖为碳源,设 10、20、30、40、50、60 mg/L 5 种浓度,共 6 个处理,重复 10 次,培养基为 MS+2.0 BA mg/L+1.0 NAA mg/L 固体培养基, pH 为 5.8。30 d 后调查根尖的诱导率。培养基 pH 对大蒜根尖诱导不定芽的影响:设 pH 5.4、5.8、6.2、6.6, 10 次重复,培养基为 MS+2.0 BA mg/L+1.0 NAA mg/L 固体培养基,蔗糖浓度 30 g/L, 30 d 后调查根尖的诱导率。不同浓度的 BA、KT 与 2,4-D 配合对大蒜根尖诱导的影响:试验设置 8 次重复,共 9 个处理,30 d 后调查根尖诱导情况。基本培养基 MS,蔗糖浓度 30 g/L, pH 5.8。

表 1 植物激素配比

处理	植物激素浓度/mg·L ⁻¹		
	BA	KT	2,4-D
1	2	0	0.1
2	2	0	1.0
3	4	0	0.1
4	4	0	1.0
5	6	0	0.1
6	0	0	0.1
7	0	1	0.1
8	0	2	1.0
9	0	2	1.0

2 结果与分析

2.1 不同基本培养基中大蒜根尖诱导不定芽结果

将生根培养后获得的根尖接种在 MS、B₅ 培养基上(均含 BA 2.0 mg/L, NAA 1.0 mg/L), 15 次重复, 30 d 后统计 2 种培养基中根的诱导情况。由表 2 可知,根尖在 MS 培养基中生长要明显好于 B₅ 培养基。从 2 种培养基成分上看,MS 培养基含有较高的无机盐浓度,硝酸盐、钾和铵的含量较高,对保证组织生长所需的矿质营养和加速愈伤组织的生长十分有利。B₅ 培养基的主要特点是含有较低的铵,这是因为铵可能对不少培养物的生长有抑制作用。经过试验发现^[7],有些植物的愈伤组织和悬浮培养物在 MS 培养基上生长的比 B₅ 培养基上要好,而另一些植物在 B₅ 培养基上更适宜。而对于脱毒格尔木大蒜根尖培养诱导不定芽的生长而言,MS 培养基明显好于 B₅ 培养基(表 2)。计算公式为:诱导率=分化的外植体块数/接种的外植体总块数×100%。

表 2 根尖在不同基本培养基中的诱导率差异显著性检验

培养基	接种数 /个	诱导数 /个	诱导率 /%	5%显著 水平	1%极显 著水平
MS	100	30	30	a	A
B ₅	100	21	21	b	B

2.2 不同蔗糖浓度对大蒜根尖诱导不定芽的影响。

以蔗糖为碳源,设 10、20、30、40、50、60 mg/L 6 种浓度处理,10 次重复,样本容量为 9,培养基为 MS+2.0 BA mg/L+1.0 NAA mg/L 固体培养基,30 d 后统计

6 个组合中根的诱导情况。由表 3 可知,在蔗糖浓度培养基含量为 10、20、30、40 g/L 时根尖的诱导率都比较高,培养基含量 50、60 g/L 时诱导率要相对低一些,蔗糖浓度在 20 g/L 时诱导率最高。

表 3 根尖在不同蔗糖浓度中诱导率的差异显著性检验

蔗糖浓度/g·L ⁻¹	接种数 /个	诱导数 /个	诱导率 /%	5%显著 水平	1%极显 著水平
20	60	33	55.0	a	A
10	60	24	40.0	b	B
30	60	24	40.0	b	B
40	60	21	35.0	c	B
50	60	12	20.0	d	C
60	60	10	16.7	e	C

2.3 不同 pH 条件下大蒜根尖诱导不定芽的影响

设 pH 为 5.4、5.8、6.2、6.6, 10 次重复,样本容量为 9,30 d 后调查根尖的诱导率。由表 4 可知,在 pH 5.4~6.6 间根尖的诱导率都较高,但在 pH 6.2 时根尖的诱导是最好的,这与张昌伟等在太仓大蒜根尖离体培养直接诱导不定芽及其试管鳞茎的形成^[9]中采用的 pH 是一致的。

表 4 根尖在不同 pH 环境中诱导率的差异显著性检验

pH	接种数 /个	诱导数 /个	诱导率 /%	5%显著 水平	1%极显 著水平
6.2	60	49	81.7	a	A
5.8	60	44	73.3	b	B
6.6	60	39	65.0	c	C
5.4	60	38	63.3	c	C

2.4 不同浓度的 BA、KT 与 2,4-D 配合对大蒜根尖诱导的影响。

大蒜根尖直接诱导不定芽受多种因子影响,植物激素是影响不定芽诱导的主要因子^[5],按表 1 的激素配合,试验设置 8 次重复,共 9 个处理,30 d 后统计根尖诱导情况。组合 1、6、3 处理的效果较好,其中组合 1 最好,与其它处理呈极显著差异,其余的处理效果都较差,极显著低于组合 1、6、3。

表 5 根尖在不同激素配比环境中诱导率间的显著性检验

组合	接种数 /个	诱导数 /个	诱导率 /%	5%显著 水平	1%极显 著水平
1	60	32	53.3	a	A
6	60	21	35.0	b	B
3	60	17	28.3	b	B
2	60	6	10.0	c	C
5	60	5	8.3	cd	C
4	60	4	6.7	cd	C
7	60	3	0.5	ed	C
8	60	3	0.5	ed	C
9	60	1	0.2	d	C

3 结论与讨论

脱毒大蒜在进行根尖培养诱导不定芽时,基本培养基应选择 MS 培养基, pH 为 6.2, 蔗糖浓度为 20 g/L, 激素条件为 BA 2 mg/L+2,4-D 0.1 mg/L, 在此组合下根尖的诱导率最高。另外采用此方法有以下优点:以 1 个蒜瓣生成 20 条根, 平均每条根诱导 2.25 个不定芽计算, 1 个蒜瓣可获得 45 棵再生植株, 也就是说, 仅通过蒜瓣根尖进行离体快速繁殖, 不用蒜瓣的茎尖和茎盘, 就可获得比传统的外植体材料(3~8 倍)^[1] 高 6~15 倍的增殖率; 大蒜根尖取材方便、操作简单, 直接诱导的试管苗具有良好的遗传稳定性^[6,10], 试管苗再生根通过以上途径于离体条件下循环增殖, 不受季节和环境条件的限制^[9], 可周年生产; 与已有的不定芽诱导试管鳞茎所得到的试管鳞茎质量的相关报道^[8,11] 相似, 对不定芽不作分割, 这样可以减少分割对不定芽的伤害, 提高工作效率^[9]; 试管鳞茎毋须驯化就可直接播种, 并且比试管苗驯化移栽(成活率 53%)成活率高^[12]。周桂珍等^[13] 和 Pierik^[14] 认为, 以大蒜根尖得到的试管苗有可能是脱毒的, 该研究结果不仅对脱毒大蒜的根尖繁殖起到积极地引导作用, 而且对研究大蒜的脱毒方式, 利用大蒜根尖培养快速获得脱毒苗具有一定的理论和实践意义。

参考文献

[1] 刘高琼, 索长江. 大蒜微繁技术研究现状与展望[J]. 中国蔬菜, 1997(1): 50-53.

- [2] 赵心爱, 薛庆中. 检测大蒜病毒和产生脱毒的方法[J]. 植物生理学通讯, 2002, 38(6): 603-606.
- [3] 王秀芝, 孙震晓, 宋兴民. 大蒜组织培养快速繁殖的激素调节[J]. 山东师范大学学报(自然科学版), 1996(3): 118-120.
- [4] Haque M S, Wada T, Hattori K. Novel method of rapid micropropagation using cyclic bulblet formation from root tip explants in garlic[J]. Breed Sci, 1998, 48(3): 293-299.
- [5] Haque M S, Wada T, Hattori K. High frequency shoot regeneration and formation from root tip of garlic[J]. Plant Cell Tiss Org Cult, 1997, 50: 83-89.
- [6] 徐培文, 马伟青. 大蒜组织培养材料染色体倍性变化研究[J]. 山东农业科学, 1998(5): 30-31.
- [7] 熊正琴, 李式军, 刘高琼, 等. 一种大蒜脱毒苗快速繁殖的方法[P]. 中国专利: 99114259.
- [8] 孙晓波. 大蒜微繁的一种新技术体系构建[D]. 南京: 南京农业大学, 2002: 13-22.
- [9] 张昌伟, 侯喜林, 袁建玉, 等. 太仓大蒜根尖离体培养直接诱导不定芽及其试管鳞茎的形成[J]. 植物生理学通讯, 2004, 42(2): 167-70.
- [10] Novak F J. Phenotype and cytological status of plants regenerated from callus cultures of *Allium sativum* L.[J]. Z Pflanzenzucht, 1980, 84(1): 250-260.
- [11] 刘高琼, 李式军, 张学平. 大蒜试管鳞茎微繁技术研究[J]. 南京农业大学学报, 1996, 19(3): 31-36.
- [12] 薛万新, 陆帼一, 杨竹莹. 大蒜蒜瓣离体繁殖研究[J]. 西北农业大学学报, 1994(3): 62-66.
- [13] 周桂珍, 曹鸣庆, 裘季燕. 京郊大蒜病毒病的研究及其鳞茎中病毒脱除[J]. 植物病理报, 1989, 19(3): 145-148.
- [14] Pierik R L M. *In vitro* Culture of Higher Plants[M]. Dordrecht: Martinus Nijhoff Pub, 1987.

Induce Adventitious Bud Garlic Root

XUE Han-qing^{1,2}, WANG Jian^{1,2}, ZHOU Shu-lan^{1,2}, GAO Xia^{1,2}

(1. Institute of Biotechnology, Qinghai Academy of Agriculture and Forestry of Science Xining, Qinghai 810016; 2. Key Laboratory Qinghai Tibet Plain Biological Technology of Education Ministry, Xining, Qinghai 810016)

Abstract: Golmud small garlic offer virus-free was used as test materials in study on effect of different medium, sucrose concentration, pH, and different concentrations of hormones on induction adventitious bud of root tip from virus-free Golmud garlic. The results showed that the best medium ratio were MS medium, pH 6.2, sucrose 20 g/L, BA 2 mg/L+2,4-D 0.1 mg/L. Induction rate was 81.7% when pH was 6.2, induction rate was 55% when sucrose concentration was 20 g/L, induced rate was 55% when the hormone ratio were BA 2 mg/L+2,4-D 0.1 mg/L.

Key words: virus-free; garlic; root; adventitious bud