

芦笋“冠军”亲本组培快繁技术研究

包艳存, 李书华, 李保华, 郑红霞, 牟 萌, 厉广辉

(山东省潍坊市农业科学院 生物所, 山东 潍坊 261041)

摘 要:以芦笋“冠军”父、母本为试材,采用不同浓度 NAA、6-BA、KT、IBA 激素配比,进行启动、增殖、生根、过渡培养试验,研究了适宜其父、母本茎尖快繁的培养基。结果表明:MS+NAA 0.05 mg/L+6-BA 0.5 mg/L+KT 0.1 mg/L 为母本启动培养基,MS+NAA 0.10 mg/L+6-BA 0.5 mg/L+KT 0.2 mg/L 为父本启动培养基;MS+NAA 0.1 mg/L+6-BA 1.5 mg/L+KT 0.1 mg/L 为母本继代增殖培养基,MS+NAA 0.2 mg/L+6-BA 1.5 mg/L+KT 0.05 mg/L 为父本继代增殖培养基;1/2MS+NAA 0.05 mg/L+6-BA 1.5 mg/L+KT 1.5 mg/L+IBA 1.5 mg/L 为母本生根培养基,1/2MS+NAA 0.1 mg/L+6-BA 1.5 mg/L+KT 1.0 mg/L+IBA 2.0 mg/L 为父本生根培养基,父、母本在适宜的生根培养基上,均生出 8 条以上的第 I 类型根,生根率达 95% 以上,并建立了适宜的过渡移栽技术规程,过渡移栽成活率达 95% 以上。

关键词:芦笋;“冠军”;茎尖组培;过渡移栽

中图分类号:S 644.603.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)07-0098-06

芦笋(*Asparagus officinalis*)属百合科天冬门属,学名石刁柏,是雌雄异株宿根性多年生植物。芦笋有“蔬菜之王”和“世界十大名菜之一”之称。嫩茎是其食用部分,其质嫩味鲜,营养价值全面且丰富,风味独特,深受世人的喜爱^[1-2]。

芦笋品种“冠军”是潍坊市农业科学院育成的优良新品种,高产、优质、抗病性强,是目前国内栽培的主要国产品种,2008 年 9 月通过山东省农作物品种审定委员会审定并定名^[3]。芦笋雌雄异株,亲本繁殖困难,靠分株法繁殖速度太慢。而组织培养快速繁殖方法,能较好地保持良种的优良性状,繁殖系数高,20 世纪 80 年代以来,国内不少学者开始对芦笋组织培养进行了研究,并取得了较大进展^[4]。现在前人研究的基础上,结合多年芦笋组培

经验,对“冠军”的父、母本组培快繁和过渡移栽技术进行了系统研究,以期为该品种的快速繁育推广打下坚实的基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为芦笋“冠军”父、母本的嫩茎。

1.2 试验方法

试验于 2005—2008 年在中国芦笋研究中心多年研究的基础上进行。

1.2.1 表面灭菌 供试材料幼茎的表面携带着各种微生物,在把茎尖接种到培养基之前必须进行彻底的表面消毒^[5]。前人经验表明,出土嫩茎的绿色部分是最佳的外植体材料,不仅污染率低,而且腋芽萌发率高,外植体建立的成功率也较高^[6]。因此课题组从田间取回幼茎,先用自来水流水冲洗 5 min,然后用中性洗涤液逐条清洗,但不能损伤顶芽和侧芽,再用自来水流水冲洗 15 min,

第一作者简介:包艳存(1979-),女,硕士,农艺师,研究方向为芦笋栽培育种。E-mail:bycnky@163.com.

收稿日期:2015-12-16

Abstract: With the tissue cultured seedling of *Anoetochilus roxburghii* (Wall.) Lindl. as test material, using crude extract method, the effect of exogenous ABA on activities of antioxidant enzymes (SOD, POD, APX, and CAT) and isozymes was studied. The results showed that long time high concentration of ABA treatment on the activity of SOD and POD was significant; APX activity under low concentration of ABA treatment change was bigger, and APX enzyme activity reached the maximum under high concentration of ABA treatment for 24 hours; and CAT showed ‘M’ shifting trend under different concentration of ABA. By the analysis of isozymes, different concentration of ABA could induce new bands of POD and APX in specific time, but no new expression of SOD and CAT.

Keywords: *Anoetochilus roxburghii* (Wall.) Lindl.; ABA; antioxidant enzymes; isozyme

去掉笋尖和下部的白色部位,再将其分成带 1~2 个腋芽的茎段。75%酒精浸泡时间设 1/6、1/2 和 1 min 3 个水平,0.1%升汞浸泡时间设 10、20、30 min 3 个水平,组成 9 个处理,即:①1/6~10 min,②1/2~10 min,③1~10 min,④1/6~20 min,⑤1/2~20 min,⑥1~20 min,⑦1/6~30 min,⑧1/2~30 min,⑨1~30 min 对茎段进行灭菌。操作程序如下:在无菌条件下用不同灭菌剂、不同时间处理后,吸干水分。切去材料与药液接触的伤口,切分为带 1~2 个腋芽的茎段,接种于无菌培养基上,每处理接种 50 瓶,每瓶接 1 个茎段。以 MS 为基本培养基,添加 NAA、6-BA、KT,琼脂粉 5 g/L 和蔗糖 25 g/L, pH 5.8,即 MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L+KT 0.1 mg/L 培养基,培养基按常规制备。培养室温度 22℃,光照时间 12 h/d,光照强度 3 000 lx。初代培养 30 d,统计不同处理下的污染率、褐化率和存活率,进一步根据结果分析不同处理对灭菌效果的影响,确定适宜的灭菌方法。外植体成活率(%)=成活个数/处理总数×100;外植体污染率(%)=污染个数/处理总数×100;外植体褐化率(%)=褐化个数/处理总数×100。

1.2.2 父、母本启动培养 芦笋芽培养中,促进休眠芽萌发和芽伸长主要依赖于植物激素种类和浓度的调节,芽的萌发数量、芽长和芽粗都与培养基中的激素种类和浓度配比有着密切关系。根据历年芦笋组培经验,以 MS 为基本培养基,NAA 分别添加 0.05、0.10 mg/L,6-BA 分别添加 0.5、1.0 mg/L,KT 分别添加 0.1、0.2 mg/L 组成 8 个不同激素组合的培养基(表 1),琼脂粉 5 g/L 和蔗糖 25 g/L,pH 5.8,分装后高压灭菌 20 min,冷却待用。将带芽的茎段接种在启动培养基上,每处理接种 50 瓶,每瓶 1 个茎段。培养条件为 22℃恒温,3 000 lx 左右的光照强度(白色日光灯),每天照明 12 h,1 周后,观察外植体的变化及芽的萌发情况,30 d 后调查芽生长情况。出芽率(%)=试验后成苗数/处理总数×100。

表 1 启动培养基配方

培养基代号	NAA 浓度	6-BA 浓度	KT 浓度
Medium code	NAA concentration	6-BA concentration	KT concentration
I	0.05	0.5	0.1
II	0.05	1.0	0.1
III	0.05	0.5	0.2
IV	0.05	1.0	0.2
V	0.10	0.5	0.1
VI	0.10	1.0	0.1
VII	0.10	0.5	0.2
VIII	0.10	1.0	0.2

1.2.3 父、母本继代增殖培养 取上述成苗芽,在超净工作台上切成带芽切段,接种在继代增殖培养基上进行繁殖。继代增殖以 MS 为基本培养基,通过添加不同浓度的 6-BA、NAA、KT 组成 8 种培养基(表 2),其中琼脂

5 g/L,蔗糖 30 g/L,pH 值调至 5.8,分装后高压灭菌 20 min,冷却待用。每处理的茎段数为 40 个,每瓶装 4 个,共 10 瓶。培养条件为 22℃恒温,3 000 lx 左右的光照强度(白色日光灯),每天照明 10 h,30 d 后调查芽增殖与生长情况。

表 2 继代增殖培养基配方

培养基代号	NAA 浓度	6-BA 浓度	KT 浓度
Medium code	NAA concentration	6-BA concentration	KT concentration
1	0.1	1.0	0.05
2	0.1	1.5	0.05
3	0.1	1.0	0.10
4	0.1	1.5	0.10
5	0.2	1.0	0.05
6	0.2	1.5	0.05
7	0.2	1.0	0.10
8	0.2	1.5	0.10

1.2.4 父、母本生根培养 芦笋雌雄异株,长期异花受精结实,造成自然群体中不同植株间生物学性状和生产性能有较大差异。因此,从遗传角度可以认为 1 个单株即 1 个基因型,1 个品种可视为 1 个基因集团。与田间自然性状类似,不同基因型对培养基组成成分要求不尽相同。特定品种为供试材料筛选的培养基并不完全适用于其它品种,根系诱导品种间植株都存在差异^[7]。因此芦笋一直被定义为组培生根难的植物。该试验以经继代增殖培养形成的正常嫩芽茎尖为生根材料,茎尖以 5 mm 大小为宜。生根以 1/2MS 为基本培养基,通过添加不同浓度的 NAA、IBA、6-BA、KT 组成 12 种培养基(表 3),代号为 A1~A12。上述培养基含蔗糖 3.5%、琼脂粉 0.5%,pH 调至 5.8,分装后高压灭菌 20 min,冷却待用。生根培养以自然光为主,辅以日光灯,27℃恒温,每天照明 12 h,接种后 3 周统计其生根率,筛选最优激素组合。生根率(%)=生根株数/试验株数×100。

表 3 生根培养基配方

培养基代号	NAA 浓度	6-BA 浓度	KT 浓度	IBA 浓度
Medium code	NAA concentration	6-BA concentration	KT concentration	IBA concentration
A1	0.00	0.5	0.05	2.0
A2	0.00	1.0	0.05	1.5
A3	0.00	1.5	1.00	1.0
A4	0.00	0.5	1.00	0.5
A5	0.05	1.0	1.50	2.0
A6	0.05	1.5	1.50	1.5
A7	0.05	0.5	0.05	1.0
A8	0.05	1.0	0.05	0.5
A9	0.10	1.5	1.00	2.0
A10	0.10	0.5	1.00	1.5
A11	0.10	1.0	1.50	1.0
A12	0.10	1.5	1.50	0.5

1.2.5 试验苗过渡培养 与种子苗相比,组培条件下的再生植株生长细弱,根的吸水机能低下、茎叶表面角质层不发达,对外界环境条件适应能力不强,故移栽成活率低。过渡培养包括过渡培养基转接、移栽前温度、光照、通风状况的过渡。前人研究发现,芦笋茎尖生根的最佳激素浓度与适宜根生长的最佳浓度不同。茎尖培养后一直处于在原生根培养基中,由于高浓度生长调节剂的影响,不利于根的进一步生长,而将其转移到没有生长素和细胞分裂素的过渡培养基上培养1个月,根的生长得到加强,缩短了从生根培养基到移栽基质的距离^[8],在过渡同时锻炼了幼苗。因此,在茎尖形成根后不久(0.5 cm左右),应把其移接到没有激素的培养基上过渡培养。该试验对根长约0.5 cm左右的正常试管苗转移到过渡培养基上继续培养一段时间,再在大棚内进行练苗。逐渐揭开封口膜,直到试管苗把封口膜顶起,温度保持25℃左右,湿度100%,当试管苗茎叶由浅绿变为深绿、叶逐渐形成蜡质时方移栽^[9]。将用此过渡方法练苗的试管苗与不进行练苗处理,直接移栽的试管苗进行移栽成活比较试验。2个处理各移栽长势相同的苗50株,30 d后统计成活率。成活率(%)=成活苗数/试验株数×100。

1.2.6 移栽基质对试管苗移栽成活率的影响 在覆膜、遮荫的条件下,取长势一致的生根苗,设置4种不同基质:A,土:蛭石为2:1;B,土:蛭石为5:3;C,土:蛭石:沙为7:2:1;D,土拌多菌灵消毒。每个处理100株生根苗,50 d后统计成活率。

1.2.7 组培苗根质对移栽成活率的影响 马秀兰等^[10]研究表明,芦笋试管苗的根系分为3种类型,第I种类型的根粗细适宜,是直接从基部增生出来的,与茎部维管束相通,根系吸收的水分和养分可直接提供地上部生长,移栽成活率高;第II种类型的根多是从愈伤组织增生出来的非正常的肥大贮藏根,与茎部的维管束脱离,输导功能不畅通,移栽成活率很低;第III种类型的根也是从基部增生出来的,但根系较细弱,吸收能力差,移栽不易成活。在此基础上,又进行了试管苗根条数及其二次吸收根的有无对移栽成活率的影响试验。以土壤:蛭石

为2:1的基质为移栽基质,在覆膜、适当遮荫的条件下,选取根质为第I类型的试管苗进行试验。根条数分为3条以下,4~5条,6~7条和8条以上4个级别。每个重复30株试管苗,30 d后调查其成活率情况。

1.2.8 环境条件对试管苗移栽成活率的影响 针对试管苗移栽环境条件,设计了移栽试验。以土壤:蛭石为2:1的基质为移栽基质,于日光温室内设置4个湿度水平、2个温度水平,共8个处理,每个处理移栽30株试管苗,3次重复,4周后统计成活率。湿度1:前4周始终保持100%;湿度2:始终保持80%;湿度3:始终保持60%;湿度4:第1周相对湿度100%,第2周80%,第3周60%,第4周50%。温度1:保持恒定温度25℃左右;温度2:采用昼夜温差,白天25℃左右,夜晚18℃左右。

2 结果与分析

2.1 材料灭菌试验

由表4可知,茎段接种在培养基上5 d左右,发现有些培养瓶内陆续开始出现菌斑,证明灭菌时间不够。还有些材料虽然没有出现菌斑,但材料慢慢失绿,随着培养时间延长,逐渐褐化死亡,证明灭菌过度,材料褐化。

表4 不同灭菌方法处理结果

Table 4 Results of different sterilization methods

处理 Treatment	接种数 Number of vaccination	污染 Contamination rate		褐化 Browning rate		成活 Survival	
		个数 Number	比率 Rate/%	个数 Number	比率 Rate/%	个数 Number	比率 Rate/%
		Number	Rate/%	Number	Rate/%	Number	Rate/%
①	50	30	60	2	4	18	36
②	50	28	56	3	6	19	38
③	50	27	54	4	8	19	38
④	50	4	10	2	4	44	88
⑤	50	3	6	4	8	43	86
⑥	50	3	6	6	12	41	82
⑦	50	4	8	11	22	35	70
⑧	50	3	6	11	22	36	72
⑨	50	3	6	10	20	37	74

由表5可知,用75%酒精灭菌处理时间的长短对材料污染、褐化影响不明显,但污染率略有下降,褐化率有所增加,其中以用75%酒精处理1/2 min的效果较好,成活率最高。

表5 75%酒精灭菌效果

Table 5 Results of 75% alcohol sterilization

灭菌方法 Sterilization methods	接种数 Number of vaccination	污染 Contamination rate		褐化 Browning rate		成活 Survival	
		个数 Number	比率 Rate/%	个数 Number	比率 Rate/%	个数 Number	比率 Rate/%
75%酒精 75% alcohol 1/6 min	150	38	25.3	15	10	97	64.7
75%酒精 75% alcohol 1/2 min	150	34	22.7	18	12	98	65.3
75%酒精 75% alcohol 1 min	150	33	22	20	13.3	97	64.7

由表6可知,用0.1%升汞灭菌,随着升汞消毒时间的延长,初代培养物的污染率下降,消毒20 min时,污染率已经较低,说明当消毒时间达到20 min时,绝大多数污染病菌已被杀死。但是褐化死亡率随消毒时

间的延长呈现上升趋势,当消毒时间达到30 min时褐化率明显上升,原因是在灭菌时,升汞游离出汞离子,外植体茎段受到汞离子的毒害而死亡。因此,在考虑降低污染率的措施时,不宜采用延长时间的办法,以选

择处理 20 min 即可达到理想的效果。表明芦笋的外植体灭菌的适宜方法应选择以 75%酒精浸 1/2 min, 用无菌水冲洗 3 遍,再用 0.1%升汞浸泡 20 min,用无菌水冲洗 6 遍为宜。

表 6 0.1%升汞灭菌效果

Table 6 Results of 0.1% mercuric chloride sterilization

灭菌方法 Sterilization methods	接种数 Number of vaccination	污染 Contamination rate		褐化 Browning rate		成活 Survival	
		个数 Number	比率 Rate/%	个数 Number	比率 Rate/%	个数 Number	比率 Rate/%
0.1%升汞 0.1% mercuric chloride 10 min	150	85	56.7	9	6	56	37.3
0.1%升汞 0.1% mercuric chloride 20 min	150	10	6.7	12	8.0	128	85.3
0.1%升汞 0.1% mercuric chloride 30 min	150	10	6.7	32	21.3	108	72.0

2.2 不同组合培养基对父、母本的启动效果

茎段接种在培养基上,约 1 周开始变绿、膨大,2 周左右芽开始萌动、伸长,并形成芽丛,1 个月后进行结果调查。由表 7 可知,I 号和Ⅶ号培养基与其它培养基相比,芽生长快,成苗率高。I 号培养基适宜母本启动成苗,Ⅶ号培养基适宜父本启动成苗,成苗率都达 90%以上。

2.3 不同组合培养基对继代增殖的影响

由表 8 可知,8 种培养基的嫩芽形成率均在 100%,

表 7 不同培养基配方对“冠军”父母本茎尖启动效果

Table 7 The effect of the different start medium formula on the parents of the ‘Champion’

培养基代号	NAA 浓度	6-BA 浓度	KT 浓度	处理总数		成苗数		出芽率	
Medium	NAA concentration	6-BA concentration	KT concentration	Total of processing		Seedling number		Budding rate/%	
code	/(mg · L ⁻¹)	/(mg · L ⁻¹)	/(mg · L ⁻¹)	♀	♂	♀	♂	♀	♂
I	0.05	0.5	0.1	50	50	45	32	90	64
II	0.05	1.0	0.1	50	50	42	38	84	76
III	0.05	0.5	0.2	50	50	30	32	60	64
IV	0.05	1.0	0.2	50	50	38	40	76	80
V	0.1	0.5	0.1	50	50	32	36	62	72
VI	0.1	1.0	0.1	50	50	40	34	80	68
VII	0.1	0.5	0.2	50	50	38	45	76	90
VIII	0.1	1.0	0.2	50	50	24	36	48	72

表 8 不同培养基配方对“冠军”父母本带芽芽尖切片的增殖效果

Table 8 The effect of the different subculture medium formula on the parents of the ‘Champion’

培养基代号 Medium code	供试切片数 The number of slices for the test		成芽率 Budding rate/%		芽发生数 Buds occurred		每切片平均发生数 The average number of occurrences per slice		嫩芽长度 Bud length		嫩芽粗度 Bud roughness	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
1	40	40	100	100	97	102	2.4	2.5	+++	++	+	++
2	40	40	100	100	105	120	2.6	3.0	+++	+	++	+++
3	40	40	100	100	113	122	2.8	3.1	++	+++	+	++
4	40	40	100	100	126	132	3.2	3.3	+++	++	++	++
5	40	40	100	100	101	88	2.5	2.2	++	++	+	+++
6	40	40	100	100	142	113	3.6	2.8	+++	+	++	++
7	40	40	100	100	105	94	2.6	2.4	++	+++	+	++
8	40	40	100	100	76	80	1.9	2.0	+++	++	++	++

注:嫩芽长度,+,1 cm 以下;++,1~3 cm;+++,3 cm 以上;嫩芽粗度,+,1 mm 以下;++,1~2 mm;+++,2 mm 以上。

Note;Bud length,+,1 cm or less;++,1-3 cm;+++,3 cm or more;buds roughness,+,1 mm or less;++,1-2 mm;+++,2 mm or more.

2.4 不同组合培养基对生根的影响研究

试验发现,在生根培养基上诱导培养 3 周,就开始生根。根据生根率、生根条数及生根类型,将调查结果统计见表 9。A9 是“冠军”父本生根的适宜培养基,生根率达 95%,在此培养基上父本能生出 10 根以上的第 I 类型根;A6 是“冠军”母本生根的适宜培养基,生根率达

96%,在此培养基上母本也能生出 8 根以上的第 I 类型根;父本适宜的生根培养基为 1/2MS+NAA 0.1 mg/L+6-BA 1.5 mg/L+KT 1.0 mg/L+IBA 2.0 mg/L,母本适宜培养基为 1/2MS+NAA 0.05 mg/L+6-BA 1.5 mg/L+KT 1.5 mg/L+IBA 1.5 mg/L,适宜培养条件为(25~27)±1℃,每天光照 16 h,光照强度为 6 000 lx。

表 9 不同培养基配方对“冠军”父、母本茎尖的生根效果

Table 9 The effect of the different rooting medium formula on the parents of the ‘Champion’

培养基编号 Medium code	接种茎尖数 Inoculated stem tip number		生根率 Rooting rate/ %			根质及根条数 Root mass and root number		
	♂	♀	♂	♀		♂	♀	
A1	100	100	21	41	Ⅲ	++	Ⅲ	++
A2	100	100	30	45	Ⅲ	++	Ⅲ	++
A3	100	100	52	56	Ⅲ	++	Ⅲ	++
A4	100	100	42	62	Ⅱ	+	Ⅱ	+
A5	100	100	62	75	Ⅱ	+	Ⅱ	+
A6	100	100	78	96	Ⅱ	+	I	+++
A7	100	100	52	62	Ⅲ	++	Ⅱ	+
A8	100	100	67	82	Ⅱ	+	I	++
A9	100	100	95	78	I	+++	Ⅱ	+
A10	100	100	90	81	Ⅱ	+	Ⅱ	+
A11	100	100	75	70	Ⅱ	+	Ⅱ	+
A12	100	100	81	62	I	++	Ⅱ	+

注: +表示少; ++表示一般; +++表示多。
Note: + represents less; ++ represents general; +++ represents much.

2.5 过渡练苗对试管苗移栽成活率的影响

通过对练苗处理的试管苗移栽成活试验,发现同样都经过无激素的培养基过渡培养,但经过练苗处理的试管苗,移栽成活率达到 80%,直接移栽的成活率仅为 50%(表 10)。经过练苗处理,大大提高了再生植株对外环境条件的适应能力,提高了其光合作用能力,缩短了半自养时间,从而最终提高了移栽成活率。

表 10 练苗对试管苗移栽成活率的影响

Table 10 The effect of hardening seedling on the transplanting survival rate

处理 Treatment	移栽苗数 Transplant seedlings	成活苗数 The number of seedlings survived	成活率 Survival rate/ %
练苗 Hardening seedling	50	40	80
不练苗 Not hardening seedling	50	25	50

2.6 移栽基质对试管苗移栽成活率的影响

移栽基质的不同,其水分供给和通气状态不同,移栽成活率差异较大,从供给的 4 种基质看(表 11),以土:蛭石为 2:1 的基质成活率最高,达到 95%。土:蛭石为 5:3 的基质成活率也比较高,为 87%,纯土的成活率最

表 12 根数量及二次吸收根对移栽成活率的影响

Table 12 The effect of root quantity and secondary absorbing roots on the transplanting survival rate

第 I 类根数量 Root number of class I	3 条以下 Three or less		4~5 条 Four to five		6~7 条 Six to seven		8 条以上 Eight or more	
	无	有	无	有	无	有	无	有
有无二次吸收根 Having secondary absorbing roots or no								
移栽苗数 Transplant seedlings	30	30	30	30	30	30	30	30
成活苗数 The number of seedlings survived	12	15	20	24	26	28	27	29
成活率 Survival rate/ %	40.0	50.0	66.7	80.0	86.7	93.3	90.0	96.7

2.8 环境条件对试管苗移栽成活率的影响

由表 13 可知,移栽后,采用逐渐降低湿度的移栽方式比保持恒定湿度,移栽成活率显著提高。实行昼

低,仅为 50%。由此看出,基质的通透性和保水性都直接影响到成活率的高低,只有二者达到合适比例,即土:蛭石为 2:1 时,通气性好,保水天数长,才最有利于根系生长。

表 11 根质对试管苗移栽成活率的影响

Table 11 The effect of root mass on the transplanting survival rate

基质配比 Matrix ratio			移栽苗数 Transplant seedlings	成活苗数 The number of seedlings survived	成活率 Survival rate / %
土 Soil	蛭石 Vermiculite	沙 Sand			
2	1	0	100	95	95
5	3	0	100	87	87
7	2	1	100	60	60
10	0	0	100	50	50

2.7 根质对试管苗移栽成活率的影响

由表 12 可知,对于第 I 类型根试管苗,根条数对移栽成活率影响很大,6 条根以上的试管苗成活率较高,当根达 8 条以上时,其成活率达 95%以上。在过渡培养过程中,当试管苗的主根上生出许多白色纤细的二级吸收根后再移栽,移栽成活率也会有所提高。

夜温差,日温保持 26~30℃,夜温保持 16~20℃时,生长的苗子比较健壮,成活率也比采用恒温有所提高。

表 13 环境条件对试管苗移栽成活率的影响

Table 13 The effect of environmental conditions on the transplanting survival rate

湿度 Humidity/%	100		80		60		50	
	恒温 Constant temperature	变温 Variable temperature	恒温 Constant temperature	变温 Variable temperature	恒温 Constant temperature	变温 Variable temperature	恒温 Constant temperature	变温 Variable temperature
移栽苗数 Transplant seedlings	30	30	30	30	30	30	30	30
成活苗数 The number of seedlings survived	14	16	21	23	12	14	24	29
成活率 Survival rate/%	46.7	53.3	70.0	76.7	40.0	46.7	80.0	96.7

3 结论

外植体灭菌以 75%酒精浸 1/2 min 迅速倒出,用无菌水冲洗 3 遍,再用 0.1%升汞浸泡 20 min 后倒出,无菌水冲洗 6 遍,效果较好。

选定 MS+NAA 0.05 mg/L+6-BA 0.5 mg/L+KT 0.1 mg/L 为母本启动培养基,MS+NAA 0.1 mg/L+6-BA 0.5 mg/L+KT 0.2 mg/L 为父本启动培养基;MS+NAA 0.1 mg/L+6-BA 1.5 mg/L+KT 0.1 mg/L 为母本继代增殖培养基,MS+NAA 0.2 mg/L+6-BA 1.5 mg/L+KT 0.05 mg/L 为父本继代增殖培养基;1/2MS+NAA 0.05 mg/L+6-BA 1.5 mg/L+KT 1.5 mg/L+IBA 1.5 mg/L 为母本生根培养基,1/2MS+NAA 0.1 mg/L+6-BA 1.5 mg/L+KT 1.0 mg/L+IBA 2.0 mg/L 为父本生根培养基,父母本在适宜的生根培养基上,均生出 8 根以上的第 I 类型根,生根率达 95%以上。

总结出“冠军”试管苗过渡移栽技术规程:培养具有 6 条以上第 I 类型根的试管苗→过渡培养到生出二次吸收根→练苗至茎叶有蜡质,叶呈深绿色→移栽至土:蛭石为 2:1 的基质中→覆盖保湿、保温,保持昼夜温差,第 1 周空气保持相对湿度 100%以上,第 2 周保持在 80%

以上,第 3 周保持在 60%以上,以后逐渐降低湿度→25 d 出新笋后揭膜练苗,移栽至制种田中。运用此技术芦笋试管苗移栽成活率达 95%以上。

参考文献

[1] 李书华.芦笋标准化栽培技术[M].北京:中国农业出版社,2004:8-14,67-69.
[2] 叶劲松.芦笋的食疗与食谱[M].北京:台海出版社,2005:15-41.
[3] 李书华,李霞,郑红霞,等.芦笋新品种“冠军”[J].园艺学报,2011,38(5):1013-1014.
[4] 陈振东.芦笋组织培养及快繁技术体系的研究[J].西南农业学报,2007,20(3):470.
[5] 李浚明.植物组织培养教程[M].北京:中国农业大学出版社,2000:19-20.
[6] 林宗铿,蔡坤秀,罗金水,等.芦笋嫩茎节间无菌外植体建立及其影响因素的研究[J].福建热作科技,2005,30(1):8.
[7] 张慧军,岳建雄,王永杰,等.芦笋离体培养快速繁殖技术研究[J].北京农业科学,2001(1):22.
[8] 于继庆,马秀兰,陈桂英,等.芦笋茎尖组织培养技术的研究[J].山东农业科学,1991(4):16.
[9] 李芳,张元国,包艳存,等.芦笋试管苗移栽新技术[J].中国蔬菜,2006(1):55.
[10] 马秀兰,于继庆,李芳,等.提高芦笋试管苗移栽成活率的途径[J].山东农业科学,1993(5):26.

Study on Tissue Culture and Rapid Propagation Technique of Parental *Asparagus officinalis* L. of ‘Champion’

BAO Yancun, LI Shuhua, LI Baohua, ZHENG Hongxia, MU Meng, LI Guanghui
(Biotechnology Institute, Weifang Agricultural Science Institute, Weifang, Shandong 261041)

Abstract: Taking parental *Asparagus officinalis* of ‘Champion’ as materials, using different hormone combination of NAA, 6-BA, KT, IBA, the start, proliferation, rooting, transition culture experiments were conducted and the suitable shoot-tip propagation medium for the parents were selected. The results showed that MS+NAA 0.05 mg/L+6-BA 0.5 mg/L+KT 0.1 mg/L as the start medium for the female parent; MS+NAA 0.10 mg/L+6-BA 0.5 mg/L+KT 0.2 mg/L as the start medium for the male parent; MS+NAA 0.1 mg/L+6-BA 1.5 mg/L+KT 0.1 mg/L as the subculture medium for the female parent; MS+NAA 0.2 mg/L+6-BA 1.5 mg/L+KT 0.05 mg/L as the subculture medium for the male parent; 1/2MS+NAA 0.05 mg/L+6-BA 1.5 mg/L+KT 1.5 mg/L+IBA 1.5 mg/L as the rooting medium for the female parent; 1/2 MS+NAA 0.1 mg/L+6-BA 1.5 mg/L+KT 1.0 mg/L+IBA 2.0 mg/L as the rooting medium for the male parent. In the appropriate rooting medium, the parents gave birth to eight or more roots of type I. Rooting rate and transplant survival rate were over 95%.

Keywords: *Asparagus officinalis* L.; ‘Champion’; shoot tip tissue; transplant