

# 芦笋组培快繁技术优化的研究

董 静<sup>1</sup>, 曹君迈<sup>2</sup>, 周根余<sup>3</sup>, 顾巧英<sup>1</sup>, 邵方均<sup>1</sup>

(1. 上海市农工商现代农业园区生物技术中心, 上海 201422; 2. 北方民族大学 生物科学与工程学院, 宁夏 银川 750021; 3. 上海师范大学, 上海 201400)

**摘要:**利用芦笋杂交 F1 代种子获得无菌植株, 取无菌植株的茎尖、茎段作为外植体, 在不同培养基上诱导、增殖和生根, 筛选出适宜的诱导培养基为 MS + 6-BA1.0 mg · mL<sup>-1</sup> + NAA0.1 mg · mL<sup>-1</sup>, 增殖培养基为 MS + 6-BA0.5 mg · mL<sup>-1</sup> + NAA0.1 mg · mL<sup>-1</sup>, 生根培养基为 1/2MS + IBA1.0 mg · mL<sup>-1</sup> + KT0.02 mg · mL<sup>-1</sup>。利用 3~5 mm 长的芽进行生根培养, 生根率最高达到 91.7%, 炼苗成活率达到 90% 以上。

**关键词:**芦笋; 组培; 生根率; 优化

中图分类号: S644.6

文献标识码: A

## 0 前言

芦笋学名 *Asparagus officinalis* L, 英文名 *Asparagus*, 俗称石刁柏、龙须菜, 为百合科天门冬属多年生宿根草本植物, 芦笋的嫩茎既可鲜食也可加工制罐, 芳香鲜美, 质嫩可口, 是一种低热量高营养的保健蔬菜, 被誉为世界十大名菜之一。对高血压、心脏病、心率过速、疲劳、水肿、膀胱炎、排尿困难等症均有一定疗效。此外, 芦笋具有防止癌细胞扩散的功能, 对各种癌症均有疗效<sup>[1]</sup>。

目前, 无论是国外市场还是国内市场, 芦笋均是供不应求的蔬菜品种, 所以扩大芦笋的发展规模及实现周年供应具有意义<sup>[2]</sup>。生产上采用的优良 F1 代芦笋种子一直依靠国外进口, 价格昂贵。利用植物组织培养技术进行芦笋的无性快繁生产, 既可以解决芦笋的种性退化, 又可以培育大量的芦笋优质种苗, 满足生产的需要。自 20 世纪 80 年代以来, 国内学者进行了芦笋组织培养技术研究<sup>[3-9]</sup>, 对芦笋试管苗的工厂化生产和发展起到了积极的作用。

本试验在前人研究的基础上, 对芦笋组织培养技术进行了优化, 在生根培养中利用 3~5 mm 长的芽进行生根培养, 生根率高达 91.7%, 炼苗成活率达到 90% 以上, 降低生产成本, 为芦笋试管苗的工厂化生产提供技术保障。

## 1 材料与方 法

美国杂交种 308F1 代种子。

(1) 外植体的制备。将种子在体积分数 70% 酒精中漂洗 30 s, 蒸馏水冲洗一遍后在质量浓度 0.1% 升汞中消毒 10 min, 用无菌蒸馏水冲洗 5 遍后直接放在蒸馏水中浸种 10 d, 之后将浸泡过的种子送入超净台, 用 70% 酒精消毒 30 s, 无菌水冲洗一遍, 0.1% 升汞消毒 5 min, 无菌水冲洗 3 遍, 接种于 MS 基本培养基上, 待种子发芽, 幼苗高 3~4 cm 时, 取植株茎尖和茎段作为无菌外植体。

(2) 芽诱导培养基配方。本试验基本培养基均采用 MS 培养基, 蔗糖质量浓度 3%, 琼脂质量浓度 0.7%, pH5.8。激素浓度配比设计 3 个处理, 即: ①MS + BA1.0 + NAA0.1; ②MS + BA1.0 + NAA0.2; ③MS + BA1.2 + NAA0.2。

(3) 增殖培养基配方。本试验基本培养基均采用 MS 培养基, 蔗糖质量浓度 3%, 琼脂质量浓度 0.7%, PH5.8。激素浓度配比设计 3 个处理如下: ④MS + BA0.2 + NAA0.05; ⑤MS + BA0.5 + NAA0.1; ⑥MS + BA0.8 + NAA0.2。

基金项目: 教育部西部特色植物资源信息平台资助项目(505016)

作者简介: 董 静(1972-), 女, 陕西扶风人, 农艺师; 曹君迈(1964-), 女, 宁夏银川人, 副教授, 从事细胞工程教学与研究工作。

收稿日期: 2008-02-25

(4) 生根培养基配方。芦笋腋芽诱导成小植株以后, 通过不断的继代增殖, 使其分化出更多的小植株, 获得一定量的小植株以后, 将其转接到生根培养基中使其生根, 生根培养基激素浓度配比设计 9 个处理如下: ⑦1/2MS + IBA0.5 + KT0.01; ⑧1/2MS + IBA0.5 + KT0.02; ⑨1/2MS + IBA0.5 + KT0.05; ⑩1/2MS + IBA1.0 + KT0.01; ⑪1/2MS + IBA1.0 + KT0.02; ⑫1/2MS + IBA1.0 + KT0.05; ⑬1/2MS + IBA1.5 + KT0.01; ⑭1/2MS + IBA1.5 + KT0.02; ⑮1/2MS + IBA1.5 + KT0.05。以上激素浓度均为  $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

(5) 炼苗移栽。当苗高 2.5 ~ 3.0 cm 时, 根长到 1.0 cm 以上并有 4 ~ 5 条根时, 即可炼苗移栽。

## 2 结果与分析

### 2.1 外植体获得

芦笋种子浸种 10 d 后, 播种于无菌 MS 基本培养基上, 20 d 后均可发芽获得无菌芦笋植株, 待苗高 4 ~ 5 cm 时在超净台上从培养基中夹出苗株, 切取其茎尖和茎段 0.5 mm 长作为外植体。

### 2.2 芽诱导培养结果

在三种培养基均能诱导外植体形成愈伤组织, 并分化基部膨大的芽见表 1, 处理代号①, 表现出芦笋茎尖和腋芽伸长, 腋芽处分化出 2 ~ 3 个小芽, 芽长 0.5 cm, 苗体生长正常, 代号②和③处理的茎尖和茎段也有伸长和膨大, 但没有明显的节位并畸形, 基部愈伤组织伴有玻璃化现象。由此得出: ①处理是芽诱导的适宜培养基, 即: MS + BA1.0 + NAA0.1。

表 1 不同激素组合对芽诱导的影响

处理代号	激素浓度/(mg/L)		接种数/个	诱导率/%	生长情况
	6-BA	NAA			
①	1.0	0.1	30	100	第一周茎尖和腋芽伸长, 腋芽处分化出 2 ~ 3 个小芽, 苗体生长正常, 第二周开始基部膨大产生愈伤组织。
②	1.0	0.2	30	100	茎尖和腋芽伸长的同时并膨大, 苗无节位, 基部愈伤组织严重。
③	1.2	0.2	30	100	茎尖和腋芽稍有伸长, 并膨大如球状, 生长不正常, 有愈伤组织产生, 玻璃化严重。

### 2.3 芽的增殖培养

当芽长到 3 ~ 4 cm 时, 分切成茎尖、带一个腋芽的茎段和茎基部, 分别接入不同的增殖培养基上进行继代培养见表 2, 在培养基⑤中芽明显伸长, 分化芽节位明显, 培养基⑥中芽伸长慢, 分化芽膨大, 节位不明显, 培养基④中芽伸长快, 枝条细长, 节位明显。同时不同取材部位对芦笋芽的增殖系数有一定影响, 基部带愈伤组织的苗分化系数最高, 可达 7.3, 但分化的芽较小, 伸长慢, 而茎段上发生的苗分化系数为 2.67, 而且苗节位明显, 芽明显伸长(见表 3)。

表 2 不同激素组合对芽增殖的影响

处理编号	激素浓度/(mg/L)		接种数/个	分化芽数/个	增殖系数	芽生长情况
	6-BA	NAA				
④	0.2	0.05	30	51	1.70	芽伸长快, 枝条细长, 节位明显。
⑤	0.5	0.1	30	77	2.57	芽明显伸长, 分化芽节位明显。
⑥	0.8	0.2	30	75	2.50	芽伸长慢, 分化芽膨大, 节位不明显。

表 3 不同取材部位对增殖系数的影响

取材部位	接种数/个	出芽数/个	增殖系数	芽生长情况
茎尖	30	42	1.4	芽伸长快, 节位明显。
茎段	60	160	2.67	腋芽从节位处抽长, 并分化出 2 ~ 3 个枝条。
茎基部 (带愈伤)	30	220	7.3	基部周围及愈伤组织上分化大量的小芽, 芽伸长较茎尖、茎段慢。

## 2.4 生根培养

表4 不同激素浓度对芦笋生根的影响

处理	激素浓度/(mg/L)		生根率 /%
	IBA	KT	
⑦	0.5	0.01	15
⑧	0.5	0.02	25
⑨	0.5	0.05	30
⑩	1.0	0.01	50
⑪	1.0	0.02	90
⑫	1.0	0.05	65
⑬	1.5	0.01	70
⑭	1.5	0.02	25
⑮	1.5	0.05	30

当苗长到2~3 cm时,取3~5 mm的芽接种于生根培养基进行生根培养。在1/2MS + IBA1.0 + KT0.02的培养基上,芦笋的生根表现最高,平均达90%。而且苗生长比较整齐(见表4),不同取材部位对芦笋的生根也有影响,用茎基部增殖而产生的芽生根,其生根率最高,可达91.7%(见表5)。

表5 不同取材部位的芦笋芽生根率的差别

配方	芽数 /个	来源	芽长度	生根率
			/mm	/%
1/2MS + IBA1.0 + KT0.02	200	茎尖增殖苗	3	75.0
1/2MS + IBA1.0 + KT0.02	173	茎段增殖苗	3	79.2
1/2MS + IBA1.0 + KT0.02	180	茎基部增殖苗	3	91.7

## 2.5 芦笋组培苗的炼苗

炼苗苗床设在温室大棚内,苗床用200倍高锰酸钾消毒后铺上10 cm左右厚的栽培基质。基质配方用珍珠岩(v):泥炭(v) = 1:1的基质,基质在混合时用井冈霉素溶液消毒(500 mL/m<sup>3</sup>)。待到苗高达2~3 cm时,将瓶中的试管苗连同培养基倒入温水(30℃左右)中,洗净根部的琼脂即可,在24 h内移栽于苗床上,移栽第一周需用小拱棚覆膜密封保持空气相对湿度90%以上,7~10 d左右开始掀开一侧薄膜透风,逐渐增加透风量,20 d左右可以全部掀掉薄膜采用一般幼苗的管理方法进行管理。移栽当天喷施500倍多菌灵药液,以后每隔一周左右喷施杀菌剂一次,不同的杀菌剂应交替使用效果更好。

## 3 讨论

芦笋组织培养方面的报道虽然很多<sup>[3-9]</sup>,但组培苗生根率较低是影响芦笋快繁亟待解决的关键问题,有待解决,因此试验从提高芦笋生根率方面入手,成功筛选出芦笋的生根培养基,另外在对不同组织分化出的增殖苗进行生根,在生根率方面也表现不同,取茎尖部位分化的苗,生根率最高达到91.7%。

### 参考文献:

- [1] 张新明,黄少华.芦笋研究开发现状及展望[J].山东食品发酵,2008(2):16-18.
- [2] 谢建华,高惠安,庞杰,等.芦笋皮风味饮料的研制[J].河南科技大学学报:自然科学版,2007,28(5):54-56.
- [3] 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):16-20.
- [4] 王庆云,周良炎,王宝林.芦笋具“鳞茎盘”组织培养苗的培育[J].天津农业科学,1997,3(2):18-21.
- [5] 冯晓棠,邢定一,王为民,等.芦笋组织培养生根技术研究[J].中国蔬菜,1991(2):20-22.
- [6] 郭春慧,马凤桐,张巧容,等.PP333诱导芦笋试管苗生根效果的研究[J].西北农业大学学报,1993,21(3):32-35.
- [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)21-22.
- [8] 张元国,刁家连,李芳.紫芦笋茎尖组培快繁技术研究[J].园林园艺科学,2004,20(3):190-192.
- [9] 李凤玲,刘世琦.芦笋微体快繁试验研究[J].北方园艺,2005(6):81-83.
- [10] 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):470-473.