

文章编号:1001-4829(2007)03-0470-04

芦笋组织培养及快繁技术体系的研究

陈振东

(福建省热带作物科学研究所,福建 漳州 363001)

摘要:对芦笋的启动培养、试管繁殖及其移栽技术进行了研究,建立了组培快繁技术体系。结果如下:以出土嫩茎绿色部份为外植体,MS + NAA 0.1 mg/L + BA 0.1 mg/L 为启动培养基,萌芽率可达 53.7%;以 MS 培养基附加 NAA 0.1 mg/L + KT 0.1 mg/L + BA 0.3~0.4 mg/L,茎基和茎中段为材料的增殖系数分别达 5.40~6.41、3.41~5.19;茎尖在 1/2MS + KT 0.1 mg/L + IAA 0.5 mg/L + NAA 0.1 mg/L + IBA 2.0 mg/L 生根培养 24 d 之后,在不加任何激素的 MS 培养基上培养 26 d,根长达 4.63~5.05 cm,根数 10.9~12.1 条。移栽时以椰糠作为基质,成活率达 95.20%。

关键词:芦笋;组织培养;快速繁殖;移栽

中图分类号:S644.6 **文献标识码:**A

Studies of technology systems for tissue culture and rapid proagation of *Asparagus officinalis*

CHEN Zhen-dong

(Fujian Institute of Tropical Crops, Fujian Zhangzhou 363001, China)

Abstract: The technological systems of tissue culture for *Asparagus* rapid propagation was established through the study about its bud initiation and rapid propagation and transplantation. MS medium supplemented with 0.1 mg/L NAA + 0.1 mg/L BA was the initiative medium, with a survival rate of 53.7% for green shoots. MS supplemented with 0.1 mg/L NAA + 0.1 mg/L KT + 0.3~0.4 mg/L BA, the multiplication coefficient being 5.40~6.41 and 3.41~5.19 for stem-base and middle stem. 1/2MS supplemented with 0.1 mg/L KT + 0.5 mg/L IAA + 0.1 mg/L NAA + 2.0 mg/L IBA was the rooting medium of shoot tips for 15 days, and the average root length of 4.63~5.05 cm, root number of 10.9~12.1 after 20 days culture with MS medium without any plant hormones. The transplantation survival rate was 95.20% with medium of coir dust.

Key words: *Asparagus officinalis* L.; tissue culture; rapid propagation; transplantation

芦笋(*Asparagus officinalis* L.)属百合科(Liliaceae)天门冬属植物,雌雄异株。其嫩茎质细肉嫩、清爽可口,营养丰富,还具有很高的药用价值^[1],是我国目前主要创汇作物之一。芦笋在传统栽培方法中均采用种子繁殖,但由于它的遗传性属杂合型,株间差异大,种子繁殖难于保持种性的稳定,常导致减产、品质变劣。而组织培养快速繁殖,能较好地保持良种的优良性状,繁殖系数高,可以培育出全雄植株(雄株的产量比同期生长条件相同的雌株高出 20

%~30%),从而大幅度提高产量。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,并取得了很大的发展^[2-6]。本试验在前人研究的基础上,对芦笋组培、快繁技术及移栽中的一些影响因子进行了较为系统和全面的研究,为芦笋试管苗的工厂化生产和福建省芦笋产业发展提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本试验采用福建省东山县康美镇良种圃提供的优良品种“津宁”雄性植株为材料。

1.2 试验方法

1.2.1 外植体处理 从良种圃选取健康、综合性状好的雄性植株,切取露出地面但茎尖尚未分枝的

收稿日期:2006-10-12

基金项目:福建省科技攻关项目“芦笋新品种引进及全雄系工厂化育苗技术的开发与应用”(2002N033)

作者简介:陈振东(1966-),男,高级农艺师,主要从事植物引种与组织培养。

绿色嫩茎或未出土的嫩茎。肥皂水刷洗枝条2遍,自来水冲洗60 min移至超净工作台,将外植体切成2cm左右的带节小段,纱布包扎,用75 %酒精4 min + HgCl₂ 溶液(内加3~4滴吐温-20)浸泡25 min,无菌水冲洗5~6遍,剪除与药液接触过的伤口部位,接种于启动培养基上。

1.2.2 培养条件 培养室温度为25~30℃,空气相对湿度为40%~60%,光照强度为2000 lx,辅助光照时间10 h/d,培养基含糖量为30 g/L、pH值为5.8~6.0。

1.2.3 启动培养 ①BA、KT不同浓度 以已出土的绿色嫩茎为外植体,MS培养基+NAA 0.1 mg/L,附加不同浓度的BA或KT激素,BA设三种浓度:0.1、0.5、1.0 mg/L;KT设三种浓度:0.10、0.5、1.0 mg/L。三角瓶分装,每个三角瓶接种1个外植体。②不同类型外植体:以MS+NAA 0.1 mg/L+BA 0.1 mg/L为启动培养基,外植体设有五种,分别为:①已出土嫩茎绿色部份;②已出土嫩茎白色部份;③未出土嫩茎顶部;④未出土嫩茎中部;⑤未出土嫩茎下部。

1.2.4 增殖培养 切取外植体茎尖(长约0.3 cm)、茎中段(含1~2节、长约1.5 cm)、茎基(长约1.5 cm)分别接种在MS+NAA 0.1 mg/L+KT 0.1 mg/L,附加6-BA设0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8、0.9、1.0 mg/L十种浓度。每处理50瓶,每瓶接种1个外植体,随机区组设计,3次重复。30d后,观察记录茎尖、嫩芽生长情况,统计增殖系数。

1.2.5 生根培养 采用增殖培养丛生芽的茎尖,长度3 mm,接种在生根培养基为1/2MS+KT 0.1 mg/L+IAA 0.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L,附加IBA。IBA设0.5、1.0、2.0、3.0 mg/L四种浓度,每处理接种75个材料,3次重复。

1.2.6 过渡培养 过渡培养指生根试管苗在生根培养基中培养了一段时间后,转瓶到不加任何激素的MS培养基中培养;直接培养指生根试管苗没有转瓶,一直在含激素培养基中培养。试验设二个处理,分别为:①生根培养24 d+过渡培养26 d;②直接培养50 d。6次重复,随机排列。

1.2.7 移栽 试验在温室(温度21±2℃、湿度80%~90%)内进行,移栽基质的种类(或不同组合)设6个处理,分别为:①椰糠;②椰糠:砂=3:1;③椰糠:砂=2:1;④椰糠:砂=1:1;⑤椰糠:蛭石=3:1;⑥椰糠:谷壳=3:1。每处理小区135株,3个区组,随机区组排列。

表1 不同浓度BA、KT对芦笋启动萌芽率的影响
Table 1 The effects of different level BA and KT on sprouting rate of *Asparagus*

培养基附加物 Additives	接种个数 No. of inoculation	萌芽率(%) Ratio of survival
BA 0.1	34	53.7
BA 0.5	35	29.3
BA 1.0	34	32.9
KT 0.1	32	40.6
KT 0.5	35	37.2
KT 1.0	33	29.7

2 结果与分析

2.1 启动培养

2.1.1 BA、KT不同浓度对启动培养的影响 接种5 d后,茎节萌发腋芽,20~30 d生长达5 cm,其萌芽率高低与培养基中的BA、KT浓度有关。表1表明,BA 0.1 mg/L的萌芽率最高,达53.7%。因此,启动培养基宜采用MS+NAA 0.1 mg/L+BA 0.1 mg/L。

2.1.2 不同类型外植体的诱导培养效果 萌发率高低与不同类型外植体有关。从表2可知,处理1,即已出土嫩茎绿色部份最高,达58.8%;处理3次之;处理2居第三;处理4、5较难诱导出腋芽。

2.2 增殖培养

茎基的茎节较密集,接种5d后开始从茎节处萌发,20 d萌芽率达最高;茎中段接种5 d后开始萌发,一个节处可萌发1~3个嫩芽,30 d萌芽率达最高;茎尖接种后,生长点不断向上生长,接种7 d左右,生长1~2 cm高。

不同浓度BA,其增殖系数不同(表3)。以茎基为外植体,处理3~8及10的7个处理的增殖系数最高,达5.40~6.41,各处理差异不显著。但当BA≥0.5 mg/L时,部份腋芽出现肿胀,当BA为1.0 mg/L时,部份茎基会长出愈伤组织,并从愈伤组织

表2 不同类型外植体的诱导培养
Table 2 Induction of different explants

处理 Treatments	外植体类型 Different explants	接种个数 No. of inoculation	萌发率(%) Ratio of survival
1	已出土嫩茎绿色部份	34	58.8
2	已出土嫩茎白色部份	21	9.5
3	未出土嫩茎顶部	48	37.5
4	未出土嫩茎中部	40	0
5	未出土嫩茎下部	43	0

表3 BA不同浓度对芦笋增殖系数的影响

Table 3 The effects of different level BA on multiplication coefficient of *Asparagus*

处理 Treatments	6-BA	增殖系数 Multiplication coefficient		
		茎尖 Stem-tip	茎中段 Middle stem	茎基 Stem-base
1	0.1	3.77A	3.66AB	4.83bc
2	0.2	2.80ABCD	4.27AB	5.40bc
3	0.3	2.83ABC	5.19A	6.14ab
4	0.4	2.87ABC	4.37AB	6.41a
5	0.5	3.06AB	4.51AB	5.90ab
6	0.6	2.07BCD	3.61AB	5.84ab
7	0.7	2.16BCD	3.41AB	5.99ab
8	0.8	2.07BCD	2.84B	5.57ab
9	0.9	1.69D	2.91B	4.04c
10	1.0	1.87CD	3.26B	5.73ab

注:表中数据后不同小写、大写字母,分别表示差异在5%、1%水平差异显著,下同。

Notes: Each value in the table followed by a different small and capital letter indicate significantly different at 5% and 1% probability levels, respectively. The same as below.

上分化出大量的不定芽。以茎中段为外植体,处理1~7的7个处理增殖系数最高,达3.41~5.19,各处理间差异不显著。但当BA≤0.2 mg/L,芽较细长,当BA≥0.5 mg/L时,芽变肿胀,茎尖变小。所以,以茎基、茎中段为外植体时,培养基以MS+NAA 0.1 mg/L+KT 0.1 mg/L+BA 0.3~0.4 mg/L最为适宜,因为这种培养基上生长的试管苗既能较快伸长生长,又能适量分化。以茎尖为外植体,处理1~5的增殖系数仅为2.80~3.77,处理间差异不显著,

处理6~10的增殖系数较低。故茎尖不宜作为增殖材料,但在以后的研究发现,茎尖最适宜于生根培养。

2.3 生根培养

生根培养15~20 d后,生根株中有的根数7~10条,有的只有1~2条根,有的虽多于3条,但根生长畸形,移栽难于成活,可见生根率和可栽率之间还存在一部份不可利用的比率。从表4可以看出,处理1~3的3个处理生根率最高,达74.8%~83.5%,各处理间差异不显著,但与处理4差异显著;处理3的可栽率最高,达70.5%,与处理1、2及处理4的差异显著。所以,生根培养以1/2MS+KT 0.1 mg/L+IAA 0.5 mg/L+NAA 0.1 mg/L+IBA 2.0 mg/L为宜。

2.4 过渡培养

从表5可以看出,处理1(过渡培养)对试管苗的根长、侧根率、侧芽萌发率、侧芽数等起到明显的促进作用,分别为4.63 cm、96.8%、65.2%、3.0支,与处理2间差异达到了显著或极显著的水平。但过渡培养不会改变试管苗的生根率、根数。

2.5 移栽

由表6可以看出,供试各种基质(或不同组合)的移栽成活率在84.89%~95.20%,其中处理1(椰糠)的移栽成活率最高,达95.20%,其次是处理5(椰糠:蛭石=3:1)为94.09%,二者均极显著高于处理2、处理3、处理6,显著高于处理4,基于降低成本和简化使用程序考虑,宜选用椰糠(处理1)作为移栽基质。

表4 IBA不同浓度对芦笋生根的影响

Table 4 The effects of different level IBA on roots situation of *Asparagus*

处理 Treatments	IBA	生根率 Rooting rate(%)	可栽率 Ratio of transplantation(%)	根数(条) Num. of taking	根长 Length of root(cm)	主茎高 Stem height(cm)
1	0.5	75.4ab	57.2bc	7.4a	2.2a	2.8a
2	1.0	74.8ab	52.7bc	7.8a	1.8a	2.9a
3	2.0	83.5a	70.5a	8.8a	1.6a	2.3a
4	3.0	67.7bc	51.6bc	9.5a	1.6a	2.7a

表5 过渡培养对芦笋试管苗的影响

Table 5 Effects of transition culture of test-tube seedling

处理 Treatments	培养方式 Culture	生根率 Rooting rate(%)	根数(条) Num. of taking root	根长 Length of root(cm)	侧根率 Ratio of lateral roots(%)	侧芽率 Ratio of lateral buds(%)	侧芽数(支) Num. of lateral buds	主茎高 Stem height(cm)
1	过渡培养	90.4a	11.4a	4.63A	96.8A	65.2a	3.0A	9.76a
2	直接培养	88.7a	12.1a	1.88B	24.4B	53.6b	2.0B	8.49a

表 6 基质种类对组培苗移栽成活率的影响

Table 6 Effects of different medium on the transplantation survival rate

处理 Treatments	基质组合 Medium	移栽成活率(%) Ratio of transplantation
1	椰糠	95.20 a A
2	椰糠:砂=3:1	85.51 bc C
3	椰糠:砂=2:1	87.90 bc BC
4	椰糠:砂=1:1	88.64 b ABC
5	椰糠:蛭石=3:1	94.09a AB
6	椰糠:谷壳=3:1	84.89c C

3 结 论

(1) 试验证明, 芦笋启动培养宜采用已出土的嫩茎绿色部份作为外植体, 培养基为 MS + NAA 0.5 mg/L + 6-BA 0.1 mg/L, 萌芽率可达 53.7%。增殖培养时, 以茎基、茎中段为外植体, 培养基以 MS + NAA 0.1 mg/L + KT 0.1 mg/L + BA 0.3 ~ 0.4 mg/L 最为适宜, 增殖系数分别达 5.40 ~ 6.41、3.41 ~ 5.19。以茎尖为外植体, 培养基为 1/2MS + KT 0.1 mg/L + IAA 0.5 mg/L + NAA 0.1 mg/L + IBA 2.0 mg/L, 培养 24 d 后, 在不加任何激素的 MS 培养基上培养 26d, 根长达 4.63 ~ 5.05 cm, 根数 10.9 ~ 12.1 条。

(2) 试管苗的移栽是组培快繁中最后、最关键的一步。在南方, 温度 $21 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 、湿度 80% ~ 90%

的条件下, 采用过度培养的生根试管苗, 以椰糠作为移栽基质, 移栽成活率可达 95.20%。

(3) 芦笋工厂化育苗全过程在人工控制条件下可周年进行, 其程序为: 芦笋嫩茎绿色部份表面灭菌和接种→外植体启动培养, 20 ~ 30 d 后→嫩茎 4 ~ 6 cm, 20 ~ 25 d 后→切取茎中段(含 1 ~ 2 节、长约 1.5 cm)或茎基(长约 1.5 cm), 转入增殖培养基, 20 ~ 30 d 后→长成高约 5 cm 嫩茎→切取茎尖 2 ~ 3 mm, 接种到生根培养基, 20 ~ 25 d 后→过渡培养(没有添加激素的 MS 培养基)25 d 左右→长成小植株, 高约 8 ~ 10 cm, 根数 ≥ 10 条、根长 4 cm 以上时→炼苗 10 d→温室移栽, 45 d 后→大田苗圃移栽, 45 d 后→成品苗。

参考文献:

- [1] 卜克强, 刘敬斌, 马德华. 芦笋栽培新技术[J]. 江苏: 江苏科学技术出版社, 2003.
- [2] 李素珍, 林孟勇. 石刁柏外植体组织培育成苗[J]. 植物生理学报, 1981(5): 34.
- [3] 于继庆, 马秀兰, 陈桂英, 等. 芦笋茎尖组织培养育苗技术的研究[J]. 山东农业科学, 1991(4): 16 ~ 20.
- [4] 冯晓棠, 彭明生, 徐耀泉, 等. 石刁柏组织培养快繁及其在育种上的应用[J]. 中国蔬菜, 1994(5): 9 ~ 12.
- [5] 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.
- [6] 颜昌敬. 植物组织培养手册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1990.

(责任编辑 雷 波)