

## 韭菜组培脱毒繁殖研究

饶月辉,游党呈,周仙祥

(江西省抚州职业技术学院,江西 抚州 344106)

**摘要:**采用抚州市临川主栽的791韭菜品种进行茎尖离体培养研究,经病毒指示植物千日红检测,其脱毒率达78%以上。结果表明:茎尖大小最佳为0.4~0.8mm,最佳培养基为MS+NAA 1.0mg/L+6-BA 1.0mg/L,其组培繁殖效果最好。

**关键词:**韭菜;茎尖培养;脱毒繁殖;组织培养;快速繁殖;外植体

**中图分类号:**S633.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-8581(2007)05-0064-02

韭菜(*Allium tuberosum* Roott Lerex spreng L)又称起阳草,属百合科葱属多年生宿根性蔬菜,主要食用其叶、花茎,味道特别,深受人们喜爱。为此,韭菜得到了广泛的栽培和生产,价钱高、效益好。但在扩大生产栽培过程中,菜农大多采用成年菹分菹扩繁,这样收获时间短、当年见效,且产量高。而采用种子进行播种繁殖生产的时间长(从播种到收割需2~3年),开始收获时产量较低。但是,在韭菜利用成年菹扩大生产过程中,采用成年菹扩繁的韭菜会退化,收割的韭菜产量显著降低,且抗性也降低,易发生病虫害,相关人员从栽培、施肥、品种改良等方面进行了研究,都没有从根本上解决,为此,我们对韭菜的组培脱毒繁殖进行试验,现将结果报道如下。

## 1 材料与方 法

1.1 供试材料 江西省抚州市临川区主栽的韭菜品种791。

1.2 试验方法 3月份当韭菜长出新叶时,就可将其连根带菹全部挖出。带回来用自来水冲洗干净,并将老叶及鳞苞叶皮全部撕去,再剪去绿叶部分,放入实验室,用45℃温水处理1~1.5h,然后捞出待进一步处理。

1.2.1 茎尖培养基选择 将初处理的鳞茎在无菌条件下用70%酒精液浸泡30s,取出用无菌水冲洗2~3次,再用2%的次氯酸钠浸泡10min,捞起用无菌水冲洗3~5次,并用无菌滤纸吸干,放在体视显微镜下(40×)剥去剩余鳞包及幼叶,露出发亮的生长锥,切取1.5mm左右的茎尖作为外植体,接种到不含激素的MS、WH、LS、N6、SH等培养基上(均添加0.7%琼脂和3%蔗糖)。pH调节至5.8~6.2,培养温度25±2℃,光照强度2000lx左右,光照时间为16h左右,培养时间12个月,通过对培养结果进行比较,以选取最佳培养基,以便于进一步的试验。

1.2.2 茎尖脱毒组培试验方法 将初处理的鳞茎在无菌条件的环境中用70%酒精液浸泡处理30s,取出用无菌水冲洗2~3次,再用2%次氯化钠浸泡10min,捞起用

无菌水冲洗3~5次,然后用无菌滤纸吸干,放在体视显微镜下(40×)剥掉剩余鳞包皮及幼叶,露出发亮的生长锥,用锋利刀片分别切取0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.5mm的微芽,并分别接种上面试验选择的培养基,再加上不同浓度的NAA和6-BA处理,每个处理接种10个长度一致微芽(茎尖)进行培养,培养条件同上。

不同浓度的激素分别选定为NAA:0.1、0.5、1.0、2.0;6-BA:0.1、0.5、1.0、2.0。随机处理,具体组合见表1。

表1 不同浓度处理组合

NAA 浓度 (mg/L)	6-BA 浓度(mg/L)			
	0.1	0.5	1.0	2.0
0.1	T <sub>1</sub>	T <sub>2</sub>	T <sub>3</sub>	T <sub>4</sub>
0.5	T <sub>5</sub>	T <sub>6</sub>	T <sub>7</sub>	T <sub>8</sub>
1.0	T <sub>9</sub>	T <sub>10</sub>	T <sub>11</sub>	T <sub>12</sub>
2.0	T <sub>13</sub>	T <sub>14</sub>	T <sub>15</sub>	T <sub>16</sub>

1.2.3 病毒检测试验方法 据调查,韭菜的病毒病在江西抚州的危害较大,病毒主要通过蚜虫、土壤、线虫以及收割时伤口感染,一旦感染,就无法治好。其主要症状表现为:染病后植株生长缓慢,植株叶片变窄或披散,叶色褪绿,沿中脉形成变色黄带呈条状,后叶尖黄枯,发病重的植株矮小或萎缩,最后甚至枯死。

为了选择适宜此病毒的指示植物,分别对苋色藜、千日红、昆诺阿藜、巴西牵牛以及葱属其他作物如野蒜等进行病毒感染发病试验。具体方法为:取被检韭菜病叶在少许浓度为0.1%磷酸钠缓冲液中研磨,研碎后用双层纱布过滤,并在滤液中放入少量500~600目金刚砂分别蘸取适量滤液轻轻涂抹于上面那些植物叶片上,重复进行2~3次,并适当用力摩擦,然后用清水冲洗叶面。在防虫温室中生长2周左右观察植株发病情况。如果不明显,可接种试验循环2~3次,以决定选择最佳病毒指示植物。

茎尖脱毒效果的检测:通过茎尖脱毒培养而成的植株,用其叶片在前面选择的最佳指示植物上来检测是否

含有病毒,以确定其脱毒效果。其检测方法同上。

## 2 结果与分析

**2.1 不同培养基对茎尖培养的影响** 通过试验,将韭菜 1.5mm 左右的茎尖接种于 MS、WH、LS、N6、SH 等培养基上,不加激素培养基。从表 2 中可以看出,将韭菜茎接种到培养基上,均能成活,大部分成活率都在 50% 以上,其中 MS 培养基成活率最高,达 78%,而且较其他 4 种培养基的成苗时间短,茎叶粗壮,生长旺,平均长有 1~3 个芽,与 WH、LS、N6、SH 培养基相比,优势明显,故选取 MS 培养基作为茎尖组培脱毒试验的最适基本培养基。

表 2 不同培养基对韭菜茎尖培养的影响

基本培养基	接种茎尖数 (个)	成苗数 (个)	成苗率 (%)
MS	50	39	78
WH	50	28	56
LS	50	35	70
N6	50	24	48
SH	50	33	66

**2.2 茎尖大小对脱毒培养基的影响** 在 MS 培养基上接种 0.1、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0、1.5mm 长度不等的茎尖,含叶原基数分别为 0、1、2、3 个。结果表明:茎尖越小(0.4~0.1mm),愈伤化程度越高。同时成苗所需时间相对就越长,甚至难成苗,而脱毒率几乎可达 100%;稍大的茎尖(0.4~0.8mm),茎尖培养 5~7d 就已变绿,2 周后可抽生叶片,成株后脱毒效果达到 78%;1.0~1.5mm 长的茎尖其培养 3d 就变绿,7~10d 后能生叶片,但脱毒效果非常低。因此,在保证一定脱毒效果的前提下,选取经过前处理的稍大茎尖,有利后期进行繁殖。

**2.3 激素浓度对茎尖不定芽增殖影响** 在 MS 培养基添加激素 NAA、6-BA 不同浓度组合,每个处理接种 10 个较为一致的茎尖,培养 35d 后,统计不定芽数(见表 3)。

表 3 NAA 和 6-BA 对韭菜不定芽的影响

处理	接种数(个)	芽增殖数(个)
P <sub>1</sub>	10	20
P <sub>2</sub>	10	23
P <sub>3</sub>	10	29
P <sub>4</sub>	10	28
P <sub>5</sub>	10	17
P <sub>6</sub>	10	32
P <sub>7</sub>	10	30
P <sub>8</sub>	10	21
P <sub>9</sub>	10	23
P <sub>10</sub>	10	28
P <sub>11</sub>	10	36
P <sub>12</sub>	10	26
P <sub>13</sub>	10	21
P <sub>14</sub>	10	19
P <sub>15</sub>	10	18
P <sub>16</sub>	10	15

由表 3 可见,在 NAA 浓度相同情况下,6-BA 从 0.1mg/L 上升到 1.0mg/L,芽的增殖数量呈增加趋势,但到 2.0mg/L 时,6-BA 有抑制作用,这说明 6-BA 在一定浓度范围内具有促进芽的分化作用,超过一定浓度则起抑制作用。同样说明与 6-BA 组合的 NAA 浓度在一定范围内(0.1~1.0mg/L)的升高对芽的诱导有促进作用。其中 NAA 和 6-BA 的浓度达到 1.0mg/L 时,处理组合芽诱导数达到最高,并且有少量根生成现象。

**2.4 诱导生根及炼苗移栽** 将试管苗转入添加 NAA 0.1mg/L + 活性炭 0.5g/L 的生根培养基中诱导生根,1 周后根开始形成,2 周后 80% 以上苗能形成 3 条健壮根。随后半开封口、全开封口 5~7d,然后取出小苗用无菌水冲洗干净,移栽至灭菌基质中,注意周围环境消毒,如此炼苗 1 周左右,即可移栽网室中。

**2.5 病毒病指示植物检测** 指示植物试验表明,千日红在苗期生长快,感染病毒显症时间短,故选取千日红进行检测试验,在其长至 3~5 片真叶接种,2 周后观察有无症状出现。带毒汁液接种后,千日红叶片出现中脉变黄成条带状。阳性对照则生长健康。

## 3 小结与讨论

利用经热处理的韭菜茎尖进行脱毒组培繁殖,基本培养基添加激素诱导可获得大量再生植株,经病毒检测效果较好,其最优培养基配方:MS + NAA 1.0mg/L + 6-BA 1.0mg/L。培养基筛选试验得出 MS 基本培养基比较适合韭菜茎尖的再生培养,切取茎尖大小以 0.4~0.8mm 较适宜,脱毒效果也较理想。茎尖在 0.4mm 以下的脱毒效果虽好,但组培时愈伤组成形成过多,不利成苗,故需时很长,或不易形成组培苗。

致谢:感谢南昌大学董瑞斌博士对韭菜病毒检测的指导。

## 参考文献:

- [1] 张耀钢,陈国元. 蔬菜栽培(南方本)[M]. 中国农业出版社, 2001. 119~122.
- [2] 徐道东,赵障忠,王统正,等. 葱蒜类蔬菜栽培技术[M]. 上海: 上海科学技术出版社,1996. 124~131.
- [3] 李俊明. 植物组织培养教程[M]. 北京:北京农业大学出版社, 1991. 305~326.
- [4] 王蒂. 植物组织培养[M]. 北京:中国农业出版社,2004. 183~191.
- [5] 李勇,杨桦,龙蔚. 韭菜组织培养及快速繁殖技术研究[J]. 江西农业学报,2006,18(4):37~38.
- [6] 彭星光. 植物组织培养技术[M]. 北京:高等教育出版社, 2005. 71~77.