

慈姑茎尖组织培养与快速繁殖

朱红莲 柯卫东 汪李平

摘 要 以慈姑茎尖为外植体,用不同培养基进行组织培养,以所获得的试管苗为材料进行快速繁殖技术研究。结果表明,慈姑茎尖培养的最适启动培养基为 MS+6-BA 1.0 mg·L⁻¹+NAA 0.3 mg·L⁻¹;继代增殖的最适培养基为 -S+6-BA 3.0 mg·L⁻¹+NAA 0.1 mg·L⁻¹,增殖系数为 4.35。

关键词 慈姑 茎尖 组织培养 快速繁殖

慈姑(*Sagittaria trifolia* L.)属泽泻科慈姑属多年生水生草本植物,以其球茎供食用,营养丰富,为低脂肪、高碳水化合物蔬菜。慈姑生产上多采用无性繁殖,以可食的商品慈姑或顶芽作种进行繁殖,繁殖系数低(1:10),用种量大。慈姑组织培养仅有初步的研究报道^[1],本试验就其茎尖培养和快速繁殖作了研究,以期解决生产上用种量大、繁殖系数低等问题。

1 材料与方法

1.1 材料

供试慈姑品种为刮老乌,采自国家种质水生蔬菜资源圃。

1.2 方法

1.2.1 外植体的采集与消毒 切取生长健壮的球茎顶芽,清洗干净后在自来水下冲洗 30 min,在超净工作台上分别用 6 种方法进行表面消毒(表 1),再用无菌水冲洗 4~5 次,用解剖刀剥去 2~3 层鳞片,切取约 0.5 cm 长的茎尖用于接种。

1.2.2 诱导茎尖的分化培养 将用消毒效果较好的方法处理后的茎尖接种在 -S+6-BA 1.0、2.0 mg·L⁻¹+NAA 0.1、0.3、0.5 mg·L⁻¹的启动培养基中。观察不同培养基配方对茎尖分化的影响。

朱红莲,女,硕士研究生,华中农业大学园艺林学学院,430070;武汉市蔬菜科学研究所,430065, E-mail: KOYO.ZHL@sohu.com

柯卫东(通讯作者),武汉市蔬菜科学研究所,430065,电话:027-88116313

汪李平,华中农业大学

收稿日期:2005-06-17;修回日期:2005-08-09

表 1 外植体消毒处理方法

处理	0.01 % 高锰酸钾/min	72 % 农用硫酸链霉素/min	70 % 乙醇/s	0.1 % 升汞/min
1	0	0	30	2
2	0	0	30	5
3	10	0	30	2
4	10	0	30	5
5	0	20	30	2
6	0	20	30	5

1.2.3 增殖培养 将茎尖诱导的小植株接种到 MS+6-BA 1.0、2.0、3.0 mg·L⁻¹+NAA 0.1、0.3 mg·L⁻¹的增殖培养基中,培养 4 周后观察植株的增殖情况。

上述启动与增殖培养基中蔗糖浓度均为 30 g·L⁻¹,琼脂 6.0 g·L⁻¹,pH 5.8。培养温度 25~28℃,每天光照 10 h,光照强度 1 000~1 500 lx。

1.2.4 移栽定植 在增殖培养基中培养出的试管苗一般都能直接长出发达的根系,不需再接种生根培养基诱导生根。慈姑试管苗移栽,不需炼苗,将长有 4~5 叶、高约 10 cm 的试管苗取出,洗净根部培养基,直接栽入具有 2~3 cm 水层的苗床中,此间控制水层 3 cm 左右、温度 25℃左右和散射光照。1 个月后,当秧苗 6~7 叶、株高 20 cm 左右时,即可移栽至大田。

2 结果与分析

2.1 不同消毒处理方法对茎尖成活率及污染率的影响

慈姑茎尖无菌材料的获得比较困难,这是因为其外在结构比较特殊。虽然慈姑茎尖被多层鳞片包

裹,但并不是完全包被,属半包结构,微生物极易滋生,甚至污泥也被裹在其中。本试验采取了6种不同的消毒处理方法,结果表明(表2),在慈姑茎尖组织培养中,将外植体在自来水下冲洗30 min,用72%农用硫酸链霉素处理20 min,再用70%乙醇表面消毒30 s,最后用0.1%升汞处理5 min(处理6),可使污染率控制在43.9%。

表2 不同消毒处理方法对茎尖成活率及污染率的影响

处理	接种数/个	成活数/个	成活率/%	污染数/个	污染率/%
1	38	3	7.9	35	92.1
2	37	4	10.8	33	89.2
3	40	5	12.5	34	85.0
4	40	7	17.5	32	80.0
5	42	14	33.3	27	64.3
6	41	22	53.7	18	43.9

2.2 不同培养基配方对茎尖分化的影响

6种培养基配方的慈姑茎尖都可以转绿和分化,但以处理B的分化率最高,达到88.1%;其次为处理E,分化率为87.2%(表3)。据观察,处理B培养基所诱导的小植株不仅株高、叶片数强于处理E,而且长有10余条根,生长健壮,说明慈姑茎尖培养的最适启动培养基为MS+6-BA 1.0 mg·L⁻¹+NAA 0.3 mg·L⁻¹+30 g·L⁻¹蔗糖。当6-BA浓度不变时,NAA由0.1 mg·L⁻¹增加至0.3 mg·L⁻¹,茎尖分化率上升,但增加至0.5 mg·L⁻¹时分化率反而下降,说明较高浓度的NAA对慈姑茎尖的启动诱导和成株不利。试验中被污染的慈姑茎尖仍能很好地分化,进而长成小植株,所得植株虽不能继代增殖培养,但可以进行试管苗大田移栽试验。

表3 不同培养基配方对茎尖分化的影响

处理	培养基配比/mg·L ⁻¹	接种茎尖数/个	分化数/个	分化率/%
A	6-BA 1.0+NAA 0.1	41	30	73.2
B	6-BA 1.0+NAA 0.3	42	37	88.1
C	6-BA 1.0+NAA 0.5	41	31	75.6
D	6-BA 2.0+NAA 0.1	39	33	84.6
E	6-BA 2.0+NAA 0.3	39	34	87.2
F	6-BA 2.0+NAA 0.5	37	29	78.4

茎尖接种5 d左右,外植体转绿,10 d左右外植体长出第1片新叶,15 d左右长出第2片叶,1个月左右即可长成具有4~7片叶的再生植株。期间密切观察外植体的叶形变化,多数外植体首先长出1~2片线形叶,接着长出3~4片带形叶,然后长出2~4片锁状叶,最后才长出典型的箭形叶。

2.3 不同培养基配方对试管苗增殖系数的影响

将茎尖诱导的小植株转接到增殖培养基中,1周后可见根状茎抽生出来,3周后根状茎顶端向上长成小植株。一般1个再生植株抽生2~4条根状茎,多至5条。根状茎又可分枝,形成二、三级根状茎,所以繁殖速度快,增殖系数达4.35,即在1个继代增殖周期的25~30 d内,最多可平均1株苗增殖4.35株苗。

由表4可知,当NAA浓度一定时,随着6-BA浓度的增加,增殖系数呈上升趋势;当6-BA浓度一定时,随着NAA浓度的增加,增殖系数略有降低。当NAA浓度为0.3 mg·L⁻¹时,增殖苗细弱,叶细长;降至0.1 mg·L⁻¹,增殖苗生长健壮,叶片浓绿。表明慈姑增殖的最适培养基为-S+6-BA 3.0 mg·L⁻¹+NAA 0.1 mg·L⁻¹+30 g·L⁻¹蔗糖。

表4 不同培养基配方对试管苗增殖系数的影响(培养4周)

处理	培养基配比/mg·L ⁻¹	接种苗数/株	4周后增殖苗数/株	增殖系数
A	6-BA 1.0+NAA 0.1	20	25	1.25
B	6-BA 1.0+NAA 0.3	20	23	1.15
C	6-BA 2.0+NAA 0.1	20	32	1.60
D	6-BA 2.0+NAA 0.3	20	28	1.40
E	6-BA 3.0+NAA 0.1	20	87	4.35
F	6-BA 3.0+NAA 0.3	20	71	3.55

注:增殖系数=增殖苗数/接种苗数

2.4 试管苗的移栽定植

试管苗移栽至苗床成活率较高,达90%左右。定植大田后,初期生长缓慢,生长势远不及种球繁殖苗,而在后期,生长速度加快,叶片宽大,叶色浓绿,生长势明显强于种球繁殖苗。

3 小结与讨论

对于慈姑的组织培养,外植体消毒是比较难而且重要的一个环节。选用72%农用硫酸链霉素、70%乙醇和0.1%升汞配合消毒可使污染率控制在43.9%,但效果仍不理想,能否找到更好的消毒处理方法有待进一步研究。而且慈姑的内生菌污染特别严重,继代培养2~3次仍可见污染,这对慈姑的快速繁殖很不利,是一个亟待解决的难题。

慈姑茎尖的组织培养增殖方式有3种:第1种是从小植株的基部诱发丛生苗;第2种是从基部抽生根状茎,继而伸长向上形成分株;第3种则是根状茎顶端逐渐膨大,形成试管球茎。这与田间生长情况相对应,根状茎在生长前期气温高时,顶芽长出泥面,发根生叶,形成分株;生长后期气温下降,便向泥

25 % 啉菌恶唑乳油及其复配制剂 对灰霉病的防治效果

石延霞 李宝聚 李慧丽

摘 要 对 25 % 啉菌恶唑 EC 及其与乙霉威、福美双复配后的制剂 30 % 啉菌恶唑·乙霉威 SC、40 % 啉菌恶唑·福美双 SE 防治灰霉病的效果进行了评价,两年的试验结果均表明,25 % 啉菌恶唑 EC 防治灰霉病效果明显,最高防效达 80.80 %,且复配后的两种制剂均具有明显增效作用,是蔬菜上防治灰霉病的优良杀菌剂。

关键词 灰霉病 25 % 啉菌恶唑 EC 复配制剂

在农作物病害防治中,目前所使用的杀菌剂还是以传统的二硫代氨基甲酸酯类、苯并咪唑类及三唑类为主,这类杀菌剂已经使用了十几年甚至几十年,有些品种的施用量已经达到原有用量的数倍,抗药性问题严重,这不仅提高了农业生产成本,而且由于过量用药导致环境污染严重,危害生物安全。因

此,开发不同作用机理、结构新颖的杀菌剂是我国杀菌剂研究开发的重点。国外已经有一些新型杀菌剂相继问世,如先正达的嘧菌酯(Azoxystrobin)在蔬菜、果树真菌病害的防治中效果明显。我国南北方农药创制中心在农药创制中做了大量工作,相继有新型结构的农药产品问世。25 % 啉菌恶唑乳油即是其中在蔬菜病害防治上应用的重要新型杀菌剂。它是由沈阳化工研究院自主创制的,目前已经在蔬菜病害上登记使用。由于其结构新,目前没有抗药性问题,是苯并咪唑类、三唑类杀菌剂的重要替代产品,将其合理应用于蔬菜生产,对缓解抗药性问题至关重要。2001~2005 年笔者对 25 % 啉菌恶唑乳油

石延霞,女,硕士,助理研究员,中国农业科学院蔬菜花卉研究所,北京市海淀区中关村南大街 12 号,100081,电话:010-62197975

李宝聚(通讯作者),李慧丽,通讯地址同第 1 作者

收稿日期:2005-12-07

基金项目:科研院所社会公益研究专项(2004DIB4J153),国家重点基础研究发展计划(2003CB114400)

深处生长,顶端膨大形成球茎。本试验以第 2 种增殖方式为主。丛生苗出现的几率很低,有待进一步调整激素浓度配比,找出最佳的配比组合。另外在试验中没有诱导出试管球茎,试管球茎的诱导是一个值得研究的课题。

在慈姑茎尖诱导成苗过程中,出现了线形叶、带

形叶、锁状叶、箭形叶等多种叶形,而在大田生长,通常只长出 2~3 片不规则箭形叶后就长出正常的箭形叶。此叶形的变化原因有待探讨。

参考文献

- 1 刘玉平,柯卫东.慈姑的组织培养.植物生理学通讯,2002,38(3):244

Tissue Culture and Mass Propagation of Chinese Arrowhead

Zhu Honglian^{1,2}, Ke Weidong², Wang Liping¹ (¹Huazhong Agriculture University, Wuhan 430070; ²Wuhan Vegetables Research Institute, Wuhan 430065)

Abstract The shoot tip of Chinese arrowhead was used as explant, the explants were cultured on the media with different hormones. An effective mass propagation technique had been developed for Chinese arrowhead from shoot tips in vitro. The results showed that the favorable medium for induction was MS + 6-BA 1.0 mg · L⁻¹ + NAA 0.3 mg · L⁻¹; the best medium for regeneration was MS + 6-BA 3.0 mg · L⁻¹ + NAA 0.1 mg · L⁻¹, the propagation coefficient could up to 4.35.

Key words *Sagittaria trifolia* L., Shoot tip, Tissue culture, Mass propagation