

# 低温处理对大蒜茎尖离体培养芽形成及生长的影响

曲英华<sup>1</sup> 高树英明<sup>2</sup>

(1. 中国农业大学 水利与土木工程学院,北京 100083; 2. 日本山形大学 农学部,鹤岗 997)

**摘要** 为克服大蒜茎尖离体培养增殖率低的问题,对准备切取茎尖组织进行离体培养的大蒜种球以及切取的带有1,2片叶原基的大蒜茎尖组织(外植体)进行了低温处理,结果表明,低温处理促进了大蒜茎尖离体培养时芽的形成及生长。对外植体的低温处理比对种球的低温处理效果好,60 d低温处理后,外植体低温处理区的新芽形成数是种球低温处理区的10倍,平均每个茎尖形成新芽22.2个;种球低温处理和外植体低温处理并用时,没有产生累加效应,相反,外植体低温处理的效果,被种球低温处理削弱。

**关键词** 大蒜; 离体培养; 外植体; 低温处理

中图分类号 S 633.4

文章编号 1007-4333(2003)04-0024-03

文献标识码 A

## Effects of low temperature on shoot proliferation and shoot grow in garlic shoot-tip culture

Qu Yinghua<sup>1</sup>, Takagi Hiteaki<sup>2</sup>

(1. Water Conservancy and Civil Engineering College, China Agricultural University, Beijing 100083, China;

2. Japan Yamagata University, Turuoka 997, Japan)

**Abstract** In order to overcome the problem of the low frequency of proliferation of garlic shoot-tips culture, the garlic bulbs and the shoot-tips (explants) with 1, 2 leaf primordia need to be treated under low temperature. The forming and growing of the shoot of garlic shoot-tip cultures were promoted under low temperature. The effect of the treatment on explants was better than that of on bulb. During the same period of 60 days under low temperature, the number of shoots was 10 times as much as that of bulbs. In average, each shoot form 22.2 new shoots. Accumulative effects were not observed as the shoot-tips and bulbs were treated under the same low temperature. On the contrary, the effect on bulbs was weakened than that of on explants.

**Key words** garlic; shoot-tip culture; explant; low temperature disposing

利用茎尖培养进行大蒜脱毒快繁的报道很多<sup>[1~3]</sup>,增殖率低一直是一个难以解决的问题。多年来研究人员采用经由愈伤组织形成不定芽,苗条原基和诱导胚状体等方法<sup>[4~6]</sup>,在提高增殖率方面取得了一定的成效,但存在着重复性差,易产生变异,再分化率低等缺点。

本研究采用茎尖培养法,对准备切取茎尖组织的大蒜种球及切取后植床在培养基上的茎尖组织(外植体)进行低温处理,观察其对芽形成及生长的影响。

## 1 材料与方法

大蒜(*Allium sativum* L.)品种‘白六片’,收获后置于室内贮存,室温降至20℃以下后,移至20℃恒温箱内,待休眠打破后分别进行3种不同的低温处理试验。

**试验1** 将准备切取茎尖组织的大蒜种球放入5℃低温贮藏箱,分别进行30,60,90,120 d的低温处理,然后切取带有1~2片叶原基的茎尖组织,植入培养基B5 + IBA 0.3 mg L<sup>-1</sup> + 2ip30 mg L<sup>-1</sup> +

收稿日期:2002-09-24

作者简介:曲英华,博士,副教授,主要从事设施园艺、生物环境工程的研究

琼脂 0.8% (质量分数,下同) + 蔗糖 6%, 在 21 ℃, 12 h 光照条件下培养。60 d 后移入相同培养基继续培养,待主芽(由切除茎尖伸长的芽)变黄,绿叶减少至 0.5 片之后进行调查。

**试验 2** 从打破休眠未遭遇低温的大蒜种球中,切取带有 1~2 片叶原基的茎尖组织,植入培养基,分别在 5 ℃ 和 9 ℃ 低温培养箱内进行 30, 60, 90 d 的低温培养(低温处理),低温培养期间光照 8 h。低温培养后移至 21 ℃, 12 h 光照条件下培养。

**试验 3** 大蒜种球低温处理方法同试验 1。将低温处理后切取的茎尖组织植入培养基后,在 5 ℃ 低温培养箱内分别进行 30 和 60 d 的低温培养,然后移至 21 ℃, 12 h 光照条件下培养,分为 30 和 60 d 处理区。

对照区大蒜种球和茎尖组织无低温处理,茎尖组织植入培养基后在 21 ℃, 12 h 光照条件下培养。

## 2 结果与分析

**试验 1** 对大蒜种球的低温处理促进了其茎尖外植体芽苗的生长(表 1), 30, 60, 90 和 120 d 低温处理区的最长芽苗的株高均大于对照区,其中低温处理 90 d 的最高;另一方面,低温处理促进了主芽基部新芽的形成。

30 d 处理区平均每株新芽数与对照区差别不大;60 d 以上的低温处理区新芽数增加,有低温处理时间越长新芽形成越多的倾向;120 d 处理区,平均每个茎尖外植体形成了新芽 5.1 个。

表 1 大蒜种球 5 ℃ 低温处理对其茎尖离体培养芽的形成及生长的影响

Table 1 Effects of low temperatures (bulbs 5 ℃) on shoot proliferation and shoot grow in garlic shoot-tip culture

低温处理 时间/d	调查培养 植株数	最大芽苗长 /mm	新芽形成 植株率/%	平均每株 新芽数	21 ℃ 培养 时间/d
0	14	52.1 ±16.2	36	1.2 ±3.2	168
30	14	75.3 ±42.7	71	1.1 ±1.1	168
60	20	66.6 ±21.1	90	2.5 ±3.6	146
90	18	96.6 ±35.0	94	2.6 ±3.1	144
120	18	73.0 ±24.6	89	5.1 ±5.4	92

注: 平均值 ±标准差; (新芽形成植株数/调查植株数) ×100%。下表同。

**试验 2** 试验 1 对种球进行的低温处理虽然促进了新芽的形成,但除 120 d 处理区外,效果都不是很明显。本试验中将切取的茎尖组织植床在培养基上,然后立刻分别放在 5 ℃ 和 9 ℃ 下进行低温处理。在 5 ℃、60 d 以上的处理区,外植体大部分停止了生长,即使低温处理结束后,移至 21 ℃ 培养,也没有恢复生长;而 9 ℃ 处理区,低温处理后外植体生长迅速,赶上或超过了对照区(表 2)。在 9 ℃ 低温处理 30, 60 和 90 d 的各区中,处理时间越长,新芽形成得越多。30 d 处理区,平均每个茎尖外植体形成了 4.1 个新芽;60 和 90 d 处理区新芽明显增多,平均每个茎尖外植体分别形成 22.2 和 23.3 个新芽(图 1)。90 d 处理区比 60 d 处理区新芽形成得早,但最后这 2 个处理区新芽数没有太大的差别。9 ℃ 低温处理各区,形成新芽的植株比率都在 90% 以上,其中有 2 个区达到了 100%。对照区只有约 50% 的植

株形成了新芽,其他都是只有切除的茎尖伸长。

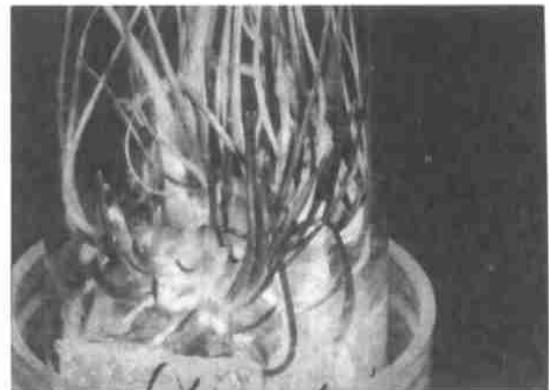


图 1 茎尖外植体 9 ℃ 90 d 处理后,21 ℃ 下培养 93 d 新芽的形成状况

Fig. 1 Culture of shoot under temperature of 21 ℃ at period of 93 days after disposing explants under temperature of 9 ℃ at period of 90 days

表 2 茎尖外植体低温处理对茎尖离体培养芽的形成及生长的影响

Table 2 Effects of low temperatures (explants) on shoot proliferation and shoot grow in garlic shoot-tip culture

低温处理		调查培养 植株数	21 培养 60 d			21 培养 93~153 d			培养时间 /d
温度 /	时间 /d		最大芽苗 长/mm	新芽形成 植株率/%	平均每株 新芽数	最大芽苗 长/mm	新芽形成 植株率/%	平均每株 新芽数	
21	60	19	45.1 ±16.4	47	1.0 ±1.6	71.4 ±22.2	53	2.1 ±4.0	123
9	30	18	46.3 ±18.0	100	3.6 ±2.2	67.7 ±24.2	100	4.1 ±3.5	153
9	60	14	50.6 ±18.4	93	11.2 ±8.7	91.9 ±40.3	93	22.2 ±21.2	123
9	90	15	58.7 ±25.7	100	21.0 ±11.6	77.7 ±30.2	100	23.3 ±18.0	93
5	30	17	48.3 ±15.3	82	2.6 ±2.5	83.2 ±32.8	93	6.2 ±6.0	153
5	60	5	49.8 ±18.8	20	0.6 ±1.3	81.5 ±75.5	50	6.5 ±12.3	123
5	90	0	—	—	—	—	—	—	—

注：低温处理后大部分茎尖停止了生长,使调查植株数减少; 低温处理后所有茎尖都停止了生长。

试验 3 种球和外植体 5 低温处理合计 90 d 之内的,处理时间越长新芽形成的植株比率越高(表 3)。在只进行种球低温处理的处理区中,每个茎尖外植体形成的新芽数,30 d 处理区的没有增加,60 d 和 90 d 处理区的也不明显。种球 5 处理 30 d 后,

对外植体进行 5,30 d 低温处理的处理区(合计 5 处理 60 d),新芽形成数明显增加;对外植体进行相同温度下,60 d 低温处理的处理区(合计 5 处理 90 d),新芽形成数进一步增加,但移至 21 后,有 2/3 的外植体停止了生长。

表 3 种球和茎尖外植体 5 低温处理对茎尖离体培养芽的形成及生长的影响

Table 3 Effects of low temperatures (bulbs and explants 5) on shoot proliferation and shoot grow in garlic shoot-tip culture

低温处理时间/d		调查培养 植株数	最大芽苗长/ mm	新芽形成 植株率/%	平均每株 新芽数	21 培养 时间/d
种球	茎尖组织					
0	0	14	52.1 ±16.2	36	1.2 ±3.2 *	168
30	0	14	75.3 ±42.7	71	1.1 ±1.1	168
60	0	20	66.6 ±21.1	90	2.5 ±3.6	146
30	30	17	62.3 ±30.5	82	5.0 ±6.4 *	189
90	0	18	96.6 ±35.0	94	2.6 ±3.1	144
30	60	5	49.0 ±22.0	100	8.8 ±8.9	176
120	0	18	73.0 ±24.6	89	5.1 ±5.4 *	92

注：\*这 3 个处理区共有 4 株新芽苗异常多发的多芽体(每株新芽数为 62,28,52,39),计算平均值时将其除去。

### 3 结 论

低温处理促进了大蒜茎尖外植体新芽的形成,且对外植体的低温处理比对种球低温处理的效果好。同样是 60 d 低温处理,外植体低温处理区的新芽形成数是种球低温处理区的 10 倍。在种球和外植体低温处理并用的情况下,外植体低温处理时间越长,新芽的形成数越多,但不如相同处理时间只进行外植体低温处理的新芽形成多;这说明,外植体低

温处理的效果被种球的低温处理削弱了,其原因可能是由于种球低温处理使试管内小球形成加快,缩短了芽的形成期,使芽的形成数量减少。

栽培大蒜低温诱导形态形成是在 2~5 条件下,但本研究中外植体的低温处理温度,9 比 5 对芽苗形成更有效,外植体在 5 下处理 60 d 以上,茎尖组织受冷害,很多外植体停止了生长。

本文中茎尖离体培养低温处理效果是寒地型大  
(下转第 40 页)

够的,还必须结合其他平衡方式共同使用。而在实际的 HT120 点焊机器人结构中,为了确保动平衡的实现,也确实采用了平衡缸(内装压缩弹簧)等装置来保证点焊机器人在工作过程中的动平衡。

### 3 结 论

点焊机器人中,平行四杆机构的采用使得两根臂杆的驱动电机和减速机构可以安装在机座上,减轻了臂杆质量,从而使臂杆的尺寸和质量较同样性能的关节机器人小很多;同时,平行四杆机构的采用能减小甚至完全消除点焊机器人结构的非线性成分和消除不同坐标间的耦合作用,从而大大提高机器人系统的动态特性和使用性能。但是由于受机器人本身质量的限制,以及由于点焊机器人末端负荷太大,在点焊机器人工作过程中,如果仅使用平行四杆机构来保持机器人的动平衡是远远不够的,还必须结合其他平衡方式来进一步改善机器人的动平衡。

(上接第 26 页)

蒜的试验结果,暖地型大蒜的有效温度区域可能更高些。另外,低温处理对茎尖外植体新芽形成的促进,也可能是打破了茎顶芽优势的结果。低温处理在促进芽苗形成的同时,还促进了芽的伸长。试验结果证明,低温处理对大蒜形态形成和生长的促进效果在大蒜的离体培养中也存在,利用大蒜的这一特性,可提高脱毒大蒜的繁殖率。

### 参 考 文 献

- [1] 小川 勉,松原德行,森 昭. ニンニクのウイルスフリー株育成[J]. 农业 および园艺,1976,51(4):551

### 参 考 文 献

- [1] 蔡自兴. 机器人学[M]. 北京:清华大学出版社,2000. 89~96,115~117,335~337
- [2] 马香峰,余达泰. 工业机器人的操作机设计[M]. 北京:冶金工业出版社,1999. 71~85
- [3] 梁爱清. 机器人平衡机构的设计[J]. 机械开发,1999(2):37~39
- [4] 曹惟庆. 连杆机构的分析与综合[M]. 北京:科学出版社,2002. 145~156,190~209
- [5] 姜 虹,贾苏海,王小椿. 6 自由度并联机器人的结构参数对活动空间的影响[J]. 机械科学与技术,1999(2):259~261
- [6] 王国强,张进平,马若丁. 虚拟样机技术及其在 ADAMS 上的实践[M]. 西安:西北工业大学出版社,2002. 9~16,51~107
- [7] 朱照宣,周起钊,殷金生. 理论力学[M]. 北京:北京大学出版社,1997. 315~325
- [8] 费学博. 高等动力学[M]. 杭州:浙江大学出版社,1993. 27~42
- [9] 徐培文,孙慧生,孙瑞杰,等. 脱毒大蒜速繁途径探讨和良繁体系的建立[J]. 中国蔬菜,1993(5):9~13
- [10] Bhojwani S S, Cohen D, Fry P R. Production of virus-free garlic and field performance of micropropagated plants[J]. Scientia Hort, 1982,13:47~52
- [11] Abo EL-NIL M M. Organogenesis and embryogenesis in callus of garlic[J]. Plant Sci Lett, 1977,9:259~264
- [12] 绫部昌则. 苗条原基 と大量増殖 ニンニクの誘導法[J]. 农业 および园艺,1990,11 月号别册:28~29
- [13] 薛惠民,荒木 肇,作锹秋郎. ニンニクにおける embryogenic callus 形成 と植物体再生 の品种间差异[J]. 植物组织培养,1991,8(3):166~170