文章编号:1001-4829(2008)03-0882-03

植物组培脱毒技术在甘薯上的应用研究

唐丽, 邹永祥, 涂雅珍, 肖瑛, 赵阳礼

(自贡市农业科学研究所, 四川 自贡 643000)

摘要:针对川南地区甘薯生产现状,选用适宜本地区推广种植的甘薯品种茎尖为材料,在添加不同激素的MS基本培养基上诱导分化芽苗、脱毒鉴定、增殖培养生根、驯化移栽及脱毒薯应用效果试验研究。结果表明:在一定培养条件下,取茎尖生长点0.3~0.5 mm在MS+6-BA 1.0~1.5 mg/L培养基中诱导分化培养,90 d诱导分化率50%以上,脱毒率为70%;脱毒苗在MS或1/2MS培养基中快繁周期为30~32 d,繁殖系数6.8~7.0,驯化移栽成活率为95%,生产应用每公顷增产38.4%以上,脱毒增产效果显著。

关键词:甘薯脱毒;组织培养;应用研究

中图分类号:S531 **文献标识码:**A

Application study of technology of plant detoxic cultivation on sweet potato

TANG Li, ZOU Yong-xiang, TU Ya-zhen, XIAO Ying, ZHAO Yang-li

(Zigong Agricultural Science Research Institute, Sichuan Zigong 643000, China)

Abstract: Based on the production situation of sweet potato in south Sichuan, the stem tip of sweet potato that is suitable for the local climate was used as material, and tissue culture was studied in MS basic culture medium with different hormones. The results showed that, in MS medium with 6-BA 1.0~1.5 mg/L, the induction rate could be above 50% and virus elimination rate was 70%. The reproductive cycle of sweet potato was 30~32 d in MS or 1/2 MS medium, with a propagation coefficient of 6.8~7.0. The survival rate after transplanting reached 95%.

Key words: sweet potato detoxication; culture medium cultivation; application

甘薯为无性繁殖作物,多年种植后,病毒逐代积累,造成品种退化,产量显著降低,品质及商品性变差。中国为世界甘薯主产国,其面积和产量居世界第一,四川为甘薯主产区,川南地区甘薯种植面积大,品种杂乱,退化严重。近年来随着川南地区生猪产业、(食用)酒精加工产业、三粉加工业发展壮大,甘薯已成为重要的饲料及工业原料,但生产远不能满足需求。针对这些情况,从20世纪90年代末以来,笔者开始引进筛选适应本地区生长及生产发展需要的不同用途品种进行脱毒及组培技术研究,研究出了甘薯脱毒及组培繁殖技术,培育出了脱毒种

苗,为工厂化繁殖优良脱毒种苗提供了技术支持,为生产应用打下了基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

选取自贡市农业科学研究所试验地种植多年的甘薯茎尖作试验材料,并经过无菌消毒处理。

1.2 方法

1.2.1 诱导分化 试验设5个处理:A处理MS+6-BA 2.0 mg/L;B处理MS+6-BA 1.5 mg/L;C处理MS+6-BA 1.0 mg/L;D处理MS+6-BA 0.5 mg/L;E处理MS。各处理培养基中均附加蔗糖30.0 g/L,琼脂粉5.8 g/L,pH 5.8,121℃下高压灭菌15 min。在解剖镜下剥取经消毒处理的甘薯茎尖生长点0.3~0.5 mm(带1~2个叶原基)接种在各培养基上,每处理20只试管,每管一个茎尖,30 d后更换为MS

收稿日期:2007-10-10

基金项目:四川省发改委|川发改投资[2005]18号|项目;农业部|农科(推)函[2006]第101号,川农业函[2006]443号|的项目资金

作者简介:唐丽,女,高级农艺师;主要从事农作物栽培与组培技术应用研究, E-mail: tangli-999@163.com。

培养基,60 d再更换1次MS培养基。培养温度 26 ± 2 °C,光照强度500~2000 lx,光照时数8~12 h/d,处理90 d统计结果。

1.2.2 脱毒与鉴定 ①脱毒试验。在解剖镜下剥取生长点小于0.3 mm、0.3~0.5 mm、大于0.6 mm的茎尖组织各20个样,分别接种在MS+6-BA 1.0 mg/L培养基上培养,30 d后更换为MS培养基,90 d统计结果。并对分化芽苗分株系编号,繁殖一定数量进行脱毒鉴定。②脱毒鉴定。在防虫网室内,先用目测法淘汰弱苗、显症苗,4月中旬将甘薯小苗与巴西牵牛嫁接,进行脱毒鉴定。

1.2.3 快繁与生根 试验设5个处理:F处理MS+KT 1.0 mg/L+NAA 0.1 mg/L;G处理MS+KT 0.8 mg/L+NAA 0.05 mg/L;H处理MS+KT 0.5 mg/L+IBA 0.2 mg/L;I处理MS,J处理1/2 MS。各处理均附加蔗糖20.0 g/L,琼脂粉6.0 g/L,pH 5.8。脱毒小苗5~8 cm高时单叶节切段培养,培养温度 (28 ± 2) °C,光照强度1000~3000 lx,光照时数12~16 h/d。30~32 d统计结果。

1.2.4 驯化与移栽 3月中下旬将生根的脱毒小苗移出培养室,散射光炼苗4~5 d后,清洗掉老叶和琼脂,在防虫网室内将小苗移栽入消毒处理的营养土与珍珠岩(2:1)混合基质中,调基质pH 6.3~6.6,前一周用薄膜等保温保湿,适时遮阳,以后逐渐降低湿度,20~25 d后假植到种苗繁殖苗圃。

1.2.5 脱毒增产效果试验与生产示范 供试品种北京553、甘薯3号,分别作大区对比试验和生产示范。同田大区对比试验选用脱毒一代种薯,设在沿滩区王井镇王井村等地,紫色土,前作小麦,薯净作,面积0.3 hm²,对照为同品种未脱毒薯。生产示范选用脱毒一代、二代、三代种薯,主要在富顺县、沿滩区、荣县区域内连续实施3年。于6月中旬前栽插,套作密度45 000株/hm²左右,净作67 500株/hm²左右。起垄前将有机肥和磷肥(750~1200 kg/hm²)作底肥施入,7月中下旬用钾肥375~450 kg/hm²、尿素30~75 kg/hm、粪水等追1次促薯肥;对生长旺盛的地块,脱毒薯主蔓长60~80 cm时用缩节安80~100 mg/L叶面喷施1~2次,用量750 kg/hm²。次稀释液,提藤不翻藤,其余管理相同,11月初挖薯。

2 结果与分析

2.1 不同激素浓度对甘薯茎尖生长点诱导分化的影响

结果表明:在无激素的MS培养基(E处理)中,茎尖组织变成褐色,未见组织膨大和分化芽苗;A处理茎尖组织膨大快,形成绿色愈伤组织,未见分化芽苗;B、C处理茎尖组织膨大形成绿色小点,部分诱导分化出芽苗,分别为10和12苗;D处理茎尖组织膨大缓慢、芽苗分化较少,为3苗。说明离体的甘薯茎尖生长点诱导分化过程中需添加一定浓度的细胞分裂素6-BA,以促进离体组织细胞分裂和器官分化形成再生植株,浓度过高细胞分裂过快,对诱导芽分化有抑制作用,浓度过低作用效果不明显,适宜浓度在1.0~1.5 mg/L之间,90 d诱导分化率在50%~60%,芽苗生长正常。

2.2 组培苗的脱毒与鉴定

病毒在体内传播主要通过维管输导组织传播,茎尖生长点未形成维管束,很少或不带病毒,利用茎尖生长点在适宜的培养基和培养条件下离体培养即可获得无毒苗。但是培养出的甘薯小苗须经过脱毒鉴定无毒才能用于生产,而巴西牵牛对病毒敏感,一旦感染病毒就会表现出花斑、卷叶皱缩等症状,因此将甘薯组培小苗与巴西牵牛嫁接,从而鉴定出脱毒苗。试验结果表明:剥取生长点小于0.3 mm的甘薯茎尖培养,脱毒率100%,但诱导分化芽苗时间长,培养难度大,诱导分化率低,为5%;取生长点大于0.6 mm以上的甘薯茎尖培养,诱导分化率较高,为65%,但脱毒率较低,为30.8%;取茎尖生长点0.3~0.5 mm的茎尖,诱导分化率50.0%,脱毒率达70.0%(表1)。

2.3 脱毒苗快繁与生根

试验结果表明:单叶节茎段在F、G、H培养基中,30 d平均展开叶节数在5.2~6.6节,平均株高在5.2~6.3 cm之间,繁殖系数4.8~5.6,茎伸长较缓慢,茎基部伴有愈伤组织出现,后期有根长出,未见丛生芽出现;在I、J培养基(即MS和1/2MS)中,30 d平均展开叶节数分别为7.3和7.2节,平均株高7.7和7.5 cm,繁殖系数6.8~7.0,生长较快,茎

表1 甘薯茎尖大小对诱导分化芽苗和脱除病毒的影响

Table 1 The impact of sweet potato stem tip size on inducing sprouting and detoxication

处理 Treatments	样品数 Sample No. (个)	分化苗数 No. of sprouting (苗)	分化率(%) Sprouting rate	脱毒苗数 No. of detoxic-cation (株系)	脱毒率(%) Detoxication rate
小于0.3 mm	20	1	5	1	100
0.3~0.5 mm	20	10	50	7	70.0
大于0.6 mm	20	13	65	4	30.8

表 2 不同培养基对脱毒苗快繁与生根的影响

Table 2 The impact of different cultivating mediums on quick proliferation of the detoxicated seedling and rooting

处理 Treatments	样品数 No. of sample (节)	平均展开叶节数 Average uncovering section(节)	平均株高 Average height of stems(节)	生根数 Rooting No. (条)	繁殖系数 Proliferation coefficient
F	30	6.4	5.2	0~4	4.8
G	30	6.6	6.3	2~4	5.6
H	30	5.2	5.8	2~4	5.1
I	30	7.3	7.7	4~7	7.0
J	30	7.2	7.5	4~7	6.8

叶生长正常,并伴随4~7条根长出。表明以单叶节茎段增殖的甘薯脱毒苗,繁殖系数主要取决于叶片数和株高2个指标,添加一定的激素对节间伸长和生根有影响,不利于快繁和生根;大量试验还表明:脱毒甘薯单叶节增殖快繁的适宜培养温度为26~28℃、光照强度2000~3000 lx,光照时数12~14 h/d,培养基以不添加激素的MS或1/2MS较适宜,繁殖系数较高为6.8~7.0,只是1/2MS中小苗生长不及MS中生长健壮,但仍能达到快繁要求,不过在出瓶移栽前的最后一次繁殖宜选MS培养基,以利于培养出健壮苗,以提高移栽成活率。另外笔者在大量繁殖阶段,用白糖代替蔗糖,小苗生长正常,大大降低了生产成本(表2)。

2.4 脱毒苗驯化移栽

组培小苗在恒定的温度、湿度等环境移栽到变温、变湿的自然环境中生长,有个驯化适应过程,这是组培苗是否成功应用于生产的一个关键技术环节。试验结果表明组培苗移栽驯化须把握好4个关键技术:①炼苗,即移栽前将瓶苗移出培养室散射光炼苗4~5 d;②清洗掉小苗老叶和琼脂;③基质疏松透气,且消毒处理;④移栽后1周内要求温度在18~24℃,空气湿度在80%~90%,以后逐渐降低湿度和炼苗,移栽成活率达95%,且小苗生长良好。

2.5 脱毒薯生产应用效果

甘薯茎尖生长点培养脱除病毒,同时亦去除了其他病原菌,对品种提纯复壮,恢复种性有重要意义。试验、示范结果表明,同品种脱毒与未脱毒比较主要表现在3个方面:一是脱毒薯出苗早,苗多苗壮,出苗整齐,田间根系发育好,生长势旺盛,叶大肥厚,提高了光合效率,增强了抗逆能力;二是脱毒薯结薯早,大、中薯率高,薯块均匀,果形端正,商品性好;三是脱毒薯增产效果显著,同田大区对比试验,食用薯北京553脱毒后比对照增产119.8%,甘薯3号脱毒后比对照增产38.4%。生产示范多点调查甘薯3号脱毒后连续3年种植增产均在30%以

上,增产效果显著,而北京553脱毒后连续种植产量下降快,到第3年增产已不明显。两品种脱毒后增产水平差异大,反映品种不同,感病毒程度不同,退化程度不同。

3 讨论与结论

研究表明:生长激素在植物离体组织诱导分化繁殖过程中起着重要作用,不同培养阶段,诱导培养方向不同,激素种类和浓度有差异,适宜诱导分化培养基为MS+6-BA 1.0~1.5 mg/L,适宜快繁生根培养基为MS或1/2MS;甘薯脱毒取茎尖生长点0.3~0.5 mm脱毒效果好;组培苗驯化移栽,抓好4个关键技术环节,小苗成活率高达95%;脱毒种苗(薯)繁殖须在防虫网室内进行,生产用种进行隔离繁殖,并做好蚜虫的防治。

脱毒甘薯增产效果显著。脱毒甘薯根、茎、叶生长旺盛,叶片肥大,提高了光合效率,增强了抗逆能力,改善了品质及商品性,增产38.4%以上,增产效果显著。不同品种,退化程度不同,增产水平有差异。

选择甘薯品种脱毒应有针对性。本研究选用了两个有代表性的品种北京553、甘薯3号作研究介绍。北京553脱毒后增产幅度大,脱毒效果非常显著,但在生产中种植2~3年后,已不再体现脱毒的优势,笔者认为对这类易感病、退化快的品种脱毒意义不大;甘薯3号脱毒后增产幅度较大,产量较稳定,对类似这种生产性能较好的品种,种植多年退化后进行脱毒是有价值的,不过其脱毒后在连续种植多少年能保持较高的产量水平,还有待进一步试验研究。

参考文献:

- [1]李俊明.植物组织培养教程[M].中国农业大学出版社,2000.
- [2]杨家训,丁习武.组培快繁技术及其应用[M].北京:中国农业出版社,2003.152-188.
- [3]袁继超,范巧佳.作物生产新理论与新技术[M].成都:四川大学出版社,2001.

(责任编辑 李洁)