

文章编号: 1003-8701(2007)01-0055-02

# 马铃薯茎尖组织培养脱毒的研究

石晓华<sup>1</sup>, 孙 凯<sup>2</sup>

(1. 吉林省农科院甜菜糖业研究所, 吉林 公主岭 136105; 2. 吉林省食品工业产品质量监督检测站)

**摘要:** 以 MS 为基本培养基, 附加不同水平的生长素, 利用茎尖组织培养, 脱除马铃薯绝大多数的病毒, 获得脱毒苗, 同时将脱毒试管苗进行大规模种薯生产, 可产生巨大的经济效益。

**关键词:** 马铃薯茎尖; 组织培养; 脱毒

中图分类号: S532.035.3

文献标识码: A

过去许多学者认为病毒在马铃薯植株中分布不均匀, 即在代谢活跃的分生组织中没有病毒。大多数病毒在植株内是通过韧皮部进行迁移, 或通过胞间连丝在细胞与细胞间转移的。由于病毒在细胞间的移动速率很慢, 因此, 病毒在快速分裂的芽尖分生组织中难以存在或浓度很低。

利用马铃薯茎尖组织培养获得脱毒试管苗, 脱毒试管苗的正常生长和快速繁殖, 成为马铃薯原种生产的基础环节, 保证试管苗在相对短的时间内得到较高的繁殖倍数, 同时获得高质量的试管苗, 对马铃薯生产具有重大意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

选择生育正常的植株块茎作为茎尖脱毒的基础材料, 以提高脱毒效果。材料有郑薯 5 号、布尔班克、中薯 2 号、花 525、白头翁、克新 2 号、尤金、夏波地和克新 13 等品种。

### 1.2 方法与步骤

#### 1.2.1 消毒处理

将入选的材料放在温室催芽(最好是经过休眠后的种薯), 待芽长到 4~5 cm 未充分展开叶时, 将芽剪下, 剥去外面多层的叶片, 放于烧杯中, 用纱布封扎杯口, 在自来水下漂洗 30 min, 然后在无菌室内消毒。消毒的方法是将漂洗好的茎尖用镊子夹住, 先在浓度为 95% 的酒精中迅速浸蘸一下, 消除叶片表面张力, 然后放到浓度为 5% 的漂白粉溶液中浸泡 5~10 min(或者放入浓度为 0.1% 的升汞液中消毒 10 min)。取出后用无菌水冲洗 3~5 次, 再用消毒滤纸吸去水分, 然后剥离茎尖, 接种。

#### 1.2.2 接种方式

在无菌条件下, 将消毒过的芽尖置于 40 倍的解剖镜下, 用尖镊子和解剖针剥取带有 1 个叶原基的茎尖, 随即接种于试管(或三角瓶)的培养基上, 试管盛有 MS 培养基(MS+30 g/L 蔗糖 +8 g/L 琼脂, pH5.5~6.5)10 mL, 在 1 kg/cm<sup>2</sup> 高压灭菌 20 min, 每个试管接种带有 1 个叶原基的茎尖 1 个, 接完后用棉塞封好试管口; 每 50 mL 培养三角瓶盛有 MS 培养基 10~15 mL, 接种带有 1 个叶原基的茎尖 3~5 个, 接完后用锡箔纸封好三角瓶的瓶口, 贴上标签, 送到培养箱中培养。

#### 1.2.3 培养条件

培养温度为 25℃, 在茎尖诱导培养阶段, 培养材料置于散射光或黑暗的条件下进行培养; 分化阶段用日光灯每日照明 16 h(约 3 000 lx)。

收稿日期: 2006-05-19

作者简介: 石晓华(1962-)女, 高级农艺师, 主要从事蔬菜育种研究。

基本培养基为 MS, 附加成分有 2, 4-D、6BA、KT、NAA、IAA、玉米素、肌醇、赤霉素、谷氨酰胺等。

30~40 d 后即可看到试管中明显伸长的小茎, 叶原基形成可见的小叶, 此时可将小苗转到无生长调节剂的培养基中, 小苗继续生长并形成根系。

当试管苗长有 5~6 片叶时, 每个品种各取 1 株将其按单节切段, 将茎切成带有 1 片叶的小段, 扦插到盛有壮苗培养基的三角瓶中, 置于适当温度下培养, 以促进其生根发芽。一般扦插后 1 周左右, 即有新根产生, 两周左右就可以看到 2~4 条小根, 1~2 个侧芽, 而后长成一个新的植株。

#### 1.2.4 病毒鉴定

将新的植株按单节切段, 每节带有 1 个叶片, 分别接种于 3 个三角瓶中, 成苗后其中 1 瓶保留, 另外 2 瓶用于病毒检测, 常用于病毒鉴定的方法有 ELISA 血清法和指示植物鉴定法, 结果全为阴性时, 保留的一瓶用于扩繁, 如反应为阳性时, 则将保留的那瓶苗淘汰。

## 2 结果与讨论

### 2.1 茎尖愈伤组织的遗传特性

不同品种愈伤组织其生长速度、质地、颜色、生长周期是不同的, 因品种不同其表现不同, 且绿苗的分化, 与其自身的遗传特性也有着密切的关系。

通过茎切段试管扦插繁殖, 可以大量繁殖试管苗和试管微型薯。试管微型薯不仅对马铃薯单倍体育种及杂种优势利用具有应用价值, 而对马铃薯脱毒种薯的生产、贮藏、推广等有重要的意义。试管苗和试管微型薯为生产上大量推广应用脱毒种薯提供了非常好的前景。

### 2.2 培养基成分

马铃薯茎尖组织生长与钾盐和铵盐离子浓度有密切关系, 适当提高两种盐的浓度, 有利于茎尖组织成活。植物生长调节剂的种类和浓度对茎尖生长和发育有重要作用, 尤以生长素更为突出, 常用的为萘乙酸, 可促进根的形成, 少量的细胞分裂素有利于茎尖成活。

### 2.3 茎尖的大小

剥离的茎尖大小是影响脱毒率和成苗率的重要因素。离体茎尖愈大, 愈易成活, 但不易脱除病毒; 茎尖愈小, 脱毒率愈高, 但成苗较难。

### 2.4 病毒种类

病毒种类不同, 茎尖组织培养脱毒的难易有很大差别, F.Quak(1977)发现, 由只带 1 个叶原基的茎尖所产生的植株, 全部脱除 PYRV, 其中 80%植株脱除了 PVY 和 PVA, 但从茎尖获得的 500 个植株中, 只有 1 株脱除 PVX。茎尖脱毒的难易还受病毒复合侵染的影响, 当 PVX 单独存在于植株体内时, 茎尖组织培养产生无 PVX 脱毒苗率远远高于 PVX 与其它病毒复合侵染的茎尖脱毒率。因此, 影响脱毒效果的因素是错综复杂的。

参考文献:

- [1] 孙慧生. 马铃薯育种学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2003, 365-370.
- [2] 陶自荣, 刘敏颂, 祝仲纯. 马铃薯未传粉子房离体培养诱导双单倍体植株[J]. 遗传学报, 1988, 15(5): 329-333.