

植物茎尖培养与无毒种苗生产

赵军良

(山西农科院蔬菜研究所 太原)

自从 Morel 于 1952 年建立了一整套较为完善的茎尖培养技术程序获得了大丽花无病毒植株以来, 通过植物茎尖培养获得无病毒原种的技术已日臻成熟。特别是 60 年代无病毒兰花的快速繁殖成功, 在国际上掀起了建立试管苗工厂的浪潮。随着植物快速繁殖, 去病毒和病毒鉴定等技术的不断发展和完善, 无病毒优质种苗已广泛地应用于花卉、蔬菜和果树上, 并带来了巨大的社会效益和经济效益。以我国为例, 自从 80 年代初建立了马铃薯脱毒种苗基地以来, 马铃薯产量翻了一番多, 同时块茎的数量、重量、同化产物积累等指标也有了大幅度的提高; 又如, 广东于 1986 年引进了一批香蕉无毒苗, 经过大面积推广繁殖, 果实的产量和质量迅速提高, 目前已开始销往国外为国家赚取外汇。此外, 脱毒草莓、葡萄、甘蔗、苹果等植物也已经或正在我国大规模地推广应用。我们经过三年研究, 也通过了大蒜脱毒苗繁殖的技术鉴定, 结果表明, 各项指标比对照均有不同程度的提高。

一、研究茎尖脱毒的意义

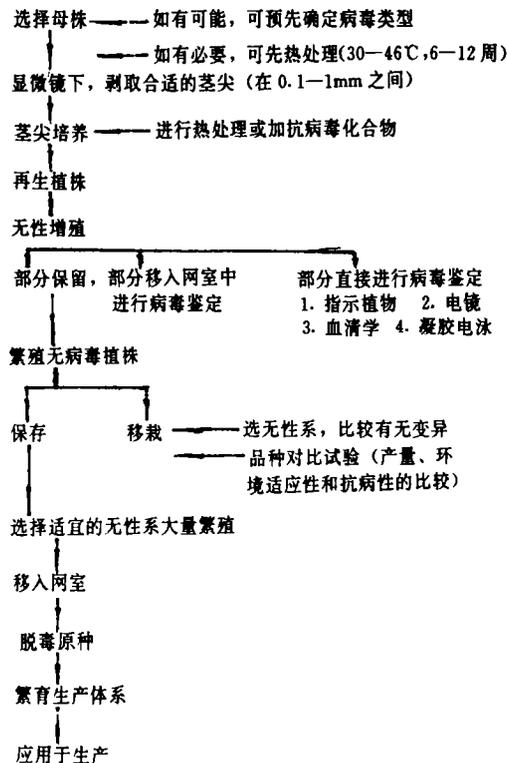
许多研究表明, 大多数植物, 尤其是营养繁殖植物, 体内带有多种病毒, 植物一旦感染上病毒, 就会导致体内激素合成和生理代谢紊乱, 进而引起形态、产量和品质等一系列指标的下降。如草莓受到 62 种病毒和病原体的侵害, 马铃薯受到 30 多种病毒的感染, 大蒜体内也带有多种病毒。因此, 研究茎尖脱毒和脱毒种苗的快速繁殖, 恢复植物应有的形态和生理指标显得越来越迫切和重要。

二、茎尖脱毒的原理及技术程序

1. 原理: 已经知道, 病毒在植物体内的分布是不均匀的。一般地, 顶端分生组织细胞的分裂速度较快, 超过了病毒的繁殖速度, 因此, 顶端分生组织不带病毒或病毒数量极少, 只要在解剖显微镜下, 将一定大小的茎尖分生组织剥取下来, 进行离体培养, 即可获得无病毒植株。

10 (总 105) Northern Horticulture

2. 一般技术程序 (参考陶国清, 1987)



三、茎尖脱毒的技术细节

1. 茎尖的剥取: 将消毒后的材料放置在解剖显微镜下, 用解剖针 (或刀) 将分生组织剥取下来, 迅速放入茎尖培养基中, 如果在空气中暴露时间过长, 就会因失水引起茎尖死亡。剥取茎尖的基本原则是既要脱掉病毒, 又要使茎尖较易成活, 一般以 0.1~1mm 之间为宜。我们的工作也证明, 以 0.2~0.5mm, 带有一个叶原基的茎尖, 脱毒效果最

好,成活率也最高,经在田间用指示植物初步检测得知,脱毒率达到95%以上。

2. 选用合适的培养基和生长因子: 茎尖剥离下来后,只有培养于具有合适生长激素的培养基中才能成活,一般采用低激素浓度的固体培养基。以大蒜为例,茎尖培养可分为两个环节,首先以茎尖成活为目标,培养基为MS+0.5mg/LBA+0.2mg/LNAA,然后再考虑脱毒苗的增殖。当茎尖成活并长到2~3cm后,将其转移到增殖培养基中进行苗的伸长和分蘖,以提高繁殖系数。我们发现,以MS和B₅为基本培养基,当激素浓度为2mg/LBA+0.6mg/LNAA时,增殖系数可达到7.9,而且新的分蘖粗壮、易成活。当苗长到4cm以上时,转入 $\frac{1}{2}$ MS+0.2mg/LNAA+1.5%蔗糖的培养基中生根,其中90%可分化出良好的根系。

3. 脱毒苗的移栽: 在关于脱毒苗移栽的众多报导中,多数只提及栽培基质。有的用珍珠岩,有的用砾石,还有的用壤土和泥沙的混合物,而且对于大多数试管植物而言,确实是只要幼苗生长健壮,并有良好的根系,移栽成活不成问题。但是一般规律不能代表特殊性。在我们的研究中发现,如果按一般方法移栽,成活率很低,原因是大蒜脱毒苗细长而纤弱,不象其它组培苗那样叶宽、茎粗、长势强,因而对生长环境的突然改变不能适应,导致死亡,而与栽培基质关系不大。后来通过改变了移栽季节,即由原来的3~4月份移栽改为11月下旬~12月份移栽,加大了昼夜温差,结果发现,脱毒苗的移栽成活率陡然上升,而且在移栽过程中观察到,只要每个小苗带有1~3条根,并且直接移栽于节能日光温室中,成活率就能由原来的百分之几上升为95%以上。据了解,石刁柏试管苗的移栽也有类似的问题,我们建议,最好改变一下移栽季节。

4. 脱毒苗的田间管理: 脱毒苗移栽于大田后,一定要细心管理,才能成活,特别要严防病毒的再感染,因为脱毒苗一经病毒再感染,前功尽弃,必须再度从剥取茎尖开始,重新脱毒。鉴于这个问题,前人已有经验,首先要选择好种植区,最好选择在地势较高,气候凉爽的地方,例如,山西省的马铃薯脱毒原种繁殖基地选择在五台山,这里虫害少,有利于脱毒苗的生长和繁殖。而且还要求脱毒苗要种植在隔离网室中,以防蚜虫进入,如有必要,栽培床的土壤还要消毒,周围环境也要整洁并及时打药,保证脱毒材料与病毒源严密隔离。还应注意,不要在同一地块连年重作,实践证明,在新种植区或种植规模小的地方,再感染所需的时间较长,在重作区或种植规模大的地方,短期内就可能重新感染。总之要根据当地实际情况采取相应措施,以保证脱毒苗

健康繁殖。

四、茎尖脱毒后的效果

很多试验已经证实,脱毒苗比对照在各个形态和生理指标上均有很大程度的提高,如脱毒水仙花比对照花朵大,色泽更鲜艳,每个茎产生的花也更多(stone 1973);脱毒英国大黄的叶柄产量比对照可增加60~70%;脱毒花椰菜的生长势和种子产量比对照也有明显的提高(wilkey等1972)。此外,在马铃薯、草莓等植物的脱毒试验中也得到了类似的结果。我们在大蒜茎尖脱毒中,详细地调查了脱毒一代的各项指标,结果见下表:

表1 大蒜脱毒产量结果

项 目	鳞 茎			蒜 薹		
	小区产量 (斤)	折合亩产 (斤/亩)	增减百分 率(%)	小区产量 (斤)	折合亩产 (斤/亩)	增减百分 率(%)
脱毒蒜种	31	2384.6	+93.8	8	615.4	+95.1
对 照	16	1230.7	-	4.1	315.4	-

表2 大蒜脱毒产量因素及性状

项 目	株 高 cm	叶 宽 cm	叶 长 cm	茎 粗 cm	叶 片 数	蒜 薹 长 cm	蒜 薹 粗 cm	每 薹 根 蒜重 克
脱 毒	98.9	3.0	71.2	1.5	9.4	47.2	0.47	16.3
未脱毒	70.9	2.0	51.9	0.96	7.9	31.6	0.33	7.8
相差数量	28	1.0	19.3	0.6	1.5	15.6	0.14	8.5

项 目	鳞茎直径				单个鳞茎重量			
	大 cm	中 cm	小 cm	平均 cm	大 K	中 K	小 K	平均 K
脱 毒	5.4	4.7	3.8	4.64	60	42.5	26.5	43
未脱毒	4.19	3.89	3.34	3.8	39.0	30.2	18.0	29
相差数量	1.21	0.81	0.46	0.84	21.0	12.3	8.5	14

五、展望

近年来,在多次有关植物组织培养的国际会议中,各国专家普遍认为,利用植物茎尖培养来生产脱毒种苗,操作简单,经济效益大,特别适合于第三世界国家发展农业生产。一些专家预测,未来的十年对脱毒苗的需求量将以7~8%的速度递增。因此我们要不失时机地瞄准国际市场,制定出符合我国国情的措施,迅速建立具有我国特色的试管苗工厂。