

香蕉组培苗的生产技术

单芹丽¹, 赵 辉¹, 张付斗²

(1. 云南省农业科学院 粮食作物研究所, 云南 昆明 650205; 2. 云南省农业科学院 农业环境资源研究所, 云南 昆明 650205)

摘 要: 对香蕉组培苗生产的技术及流程作系统介绍; 分析和探讨了香蕉工厂化育苗中常见的一些问题和解决方法; 为进一步降低生产成本, 优化生产流程, 提高香蕉种苗的质量与生产效率, 提供了一套工厂化生产技术方案。

关键词: 香蕉; 组培; 生产; 技术

中图分类号: S 668. 103. 6 文献标识码: A 文章编号: 1001-0009(2009)06-0079-03

香蕉是我国南方四大佳果之一。其为草本果树, 速生快长, 投产年限短, 产量高, 经济效益好, 深受各香蕉生产国及蕉农的重视。香蕉组织快繁与传统吸芽繁殖相比, 具有无病毒、变异率小、生长一致、果实商品性好、种苗便于运输等优点, 自推广以来, 需求日益增大, 生产香蕉组培苗的厂家也与日俱增^[1]。而在香蕉工厂化育苗过程中, 由于变异的发生、污染严重等问题, 致使其成本增高, 商品率降低, 制约了香蕉规模化生产的发展。为了向蕉农提供优质、价廉的种苗, 云南省农业科学院粮食作物研究所组培中心经过近 10 年的研究实践, 针对香蕉工厂化育苗中常见的一些问题, 改进技术, 不断的尝试和探索, 在提高生产技术、降低生产成本、优化生产流程方面进行研究, 建成了一套培育优质、高效、低耗快速繁育香蕉苗的技术体系, 旨在推动优质香蕉种苗的生产及其产业化进程。

1 香蕉组培苗的生产流程

1.1 培养基的配方

根据云南省农科院粮食作物研究所组织培养中心多年生产香蕉组培苗的试验结果, 筛选出 3 组培养阶段必需培养基: (I) 诱导分生组织培养基: MS+BA 3.5~4.5 mg/L+NAA 0.1~0.2 mg/L; (II) 增殖培养基: MS+BA 2~3 mg/L+NAA 0.05~0.15 mg/L; (III) 生根培养基: 1/2MS+NAA 0.1~0.2 mg/L+活性炭 0.5%。

1.2 培养条件

以上培养基均加入 2%~3% 的食用白糖, 6%~7% 的琼脂, 灭菌前 pH 值调至 5.5~5.8, 培养基配好后, 充

分搅拌, 定量分装入洁净的玻璃瓶中封口, 于 1.1 kg/cm² 压力和 121℃ 下灭菌 20 min, 冷却后备用。香蕉组培苗最适宜生长的温度是 25~28℃, 可根据生产需要进行必要的调节, 不能低于 14℃, 不能高于 32℃。培养初期, 需弱光诱导不定芽的生产; 培养后期, 光照调至 2 000~3 000 lx, 光照时间为 12 h/d。

1.3 诱导培养

起始培养的目的是获得无菌苗, 建立无菌繁殖体系。晴天, 在无传统病害的香蕉区, 选用长势健壮、挂果整齐、产量高的母株, 挖取其刚露出地面的完整吸芽, 洗去外表泥土, 剥除芽外面的叶鞘及不定根, 先用洗衣粉水洗涤, 再用自来水冲洗干净, 最后用刀将吸芽修成 (4~5) cm×(6~7) cm (直径×高) 大小。带入接种室, 用酒精棉球擦拭后, 在超菌工作台上, 层层剥去假茎叶鞘, 修剪成约 3 cm×3.5 cm (直径×高) 大小带生长点的吸芽, 用 75% 酒精浸泡 1 min, 无菌水冲洗 1 次, 再用 0.1% 的升汞溶液消毒杀菌 15 min, 并不断摇动处理液, 然后用无菌水冲洗 4~5 次, 以茎尖为中心纵切成 2~4 块, 接入培养基 (I), 每瓶接种 1 块, 置于培养室中, 培养 35~50 d 后, 可长出新芽。

1.4 继代培养

把上述获得新芽转接在培养基 (II) 上, 弱光条件下培养。如条件适宜, 20~30 d 即可继代 1 次。不定芽通过不断转接、分割, 使芽的数量不断增加, 达到增殖目的。

1.5 壮苗与生根

当芽增殖到预定数量后, 在保持一定的基数条件下, 小于 2.5 cm 的不定芽转接在培养基 (II) 上继续增殖培养, 高于 2.5 cm 的不定芽单个切开, 转入生根培养基 (III), 在光照条件下培养。约 14 d 后, 便开始长根, 当小植株长有 2 片以上的绿叶; 25~35 d 后, 苗高约 4 cm 时, 即可出瓶炼苗。

2 生产中常见的问题及解决措施

2.1 变异

第一作者简介: 单芹丽 (1973-), 女, 云南祥云人, 硕士, 助理研究员, 现从事植物资源利用和保护研究工作。E-mail: shqli2008@126.com。

通讯作者: 张付斗 (1971-), 男, 云南祥云人, 硕士, 副研究员, 现从事农田杂草防治技术研究工作。E-mail: fdzh@vip.sina.com。

收稿日期: 2008-12-27

香蕉组培苗在继代培养过程中, 容易发生遗传变异^[2,3], 其变异率通常比吸芽苗高^[4], 异常芽形态多样(如芽细小、矮化、白色、扁平、基部褐色或呈圆球状, 叶鞘散开或肥大等)。随着培养代数的增高, 变异率逐渐增大^[5], 因此, 继代培养的代数一般不能超过 10 代。在起始培养阶段, 一定要选好取芽的季节、天气及外植体材料, 并满足较好的培养条件; 在整个生产过程中, 激素的种类都不宜用得过多, 繁殖阶段以单纯使用 6-BA + 低浓度 NAA 效果最好, 生根阶段以单纯使用 NAA 或 IBA 效果最好, 激素浓度尽量遵照“能低就绝不用高”的原则; 蔗糖浓度 2%~3%, 培育后期以 2% 为宜; 在接种过程中, 及时剔除变异苗, 变异率控制在 5% 以内。尽可能的减少对材料的机械损伤及灼伤。

2.2 污染

污染是植物组织培养中普遍存在的问题, 也是影响香蕉试管苗生产成本最重要的因素之一, 它在很大程度上决定着试管苗的生产和经济效益。理论上做过统计, 污染率每上升 5%, 生产成本将递增 10% 以上, 污染率越高, 再此基础上的递增率越大, 更易造成交叉感染, 严重时, 使整个生产流程都难以正常运转。因此, 必须采取有利措施, 最大限度的降低污染率。主要做好以下几方面的工作来减少污染源: 接种室、缓冲间、培养室及培养基贮藏室每 2 个月至少要用甲醛和高锰酸钾(5~10):1 熏蒸 1 次, 定期用新吉尔灭菌水溶液拖地板及门、窗、培养架等设备, 雨季还应经常启动空调机的干燥功能降低空气湿度; 严格要求接种制度, 所用的各种接种工具需经常消毒杀菌, 所有接种人员需技术培训后上岗, 接种时都应穿戴消毒过的衣服和帽子; 管理人员要经常检查、监督和纠正不规范操作, 强化接种人员的“无菌操作”概念, 改进接种方法; 基芽转接培养前, 必须认真挑选, 确定是无菌苗后, 才可以进一步继代培养, 带菌轻的细菌性污染苗可继续留用, 作为生根苗培养。

2.3 褐变

香蕉材料体内含有单宁等物质, 在培养初期, 由于被切割时溢出的一些酚类物质接触到空气中的氧气, 组织中的多酚氧化酶被激活, 香蕉材料自动氧化或由酚类催化氧化为相应的醌类, 扩散到培养基中, 呈现棕褐色, 这些物质会抑制其它酶的活性, 毒害培养物, 影响不定芽的增殖效果, 严重时, 使培养的材料生长停顿, 失去分化能力, 最终变褐死亡^[6]。生产上可根据不同的实际情况, 选择不同的方法减少褐变。主要有如下措施: 选用抗酚类氧化药剂(常见的有半胱氨酸、抗坏血酸、二硫苏糖醇、谷胱甘肽、硫乙醇、二乙基二硫氨基甲酸酯等), 配制成适当的浓度, 过滤灭菌后洗涤刚切割的外植体伤口表面; 选择最佳培养条件, 适当降低培养基中的无机盐、糖和激素的浓度, 加入适量活性炭(0.5~2.0 mg/L),

降低培养室的温度; 采取连续转接的方法, 及时转接到新鲜培养基上; 接种时, 严格选择外植体的部位, 且动作迅速, 避免外植体在空气中暴露的时间过长, 尽可能的减少对外植体的机械损伤。

3 讨论

香蕉组培苗的生产成本主要由材料费、水电费和劳务费 3 个部分组成, 其中材料费、水电费大约各占 30%, 劳务费约占 40%^[7]。为了降低无毒种苗的生产成本, 针对香蕉的生产特点和问题, 经过多年的探索, 对生产流程中的 2 个关键环节进行了改进。

3.1 优化培养基配方

适宜的培养基配方有利于提高香蕉种苗质量并降低生产成本^[8]。在培养基配制过程中, 以自来水代替蒸馏水, 以白糖代替蔗糖, 以农用型 6-BA 代替化学试剂 6-BA。对 MS 培养基作了一些改良, 除去原培养基中肌醇, 降低 MS 中的微量元素至原用量的 1/2, 生根阶段降低糖的用量至 3%, 增殖阶段, 琼脂的用量可降至 5%, 结果发现不会对组培苗的质量有显著影响。

3.2 提高技术及管理水平

影响香蕉组培苗的工厂化生产质量和生产效益的因素很多, 也很复杂^[9]。但技术是基础, 管理是关键。必须不断完善生产设施, 提供最佳的温、光控制条件, 减少生产车间的病菌种类及数量; 加强科研技术, 不断进行技术创新, 提高技术水平; 同时进行科学的管理, 通过经济效益与生产过程挂钩, 提高工作积极性, 进行劳动力资源的优化分配。目前对培养基配方的研究较多, 而在其综合管理方面的研究却很少, 还需进一步的加强, 只有技术与管理都不断的改进和提高, 相互协调, 才能优化其生产流程、降低其生产成本, 不断提高工厂化快速繁殖优质香蕉种苗的经济效益。

参考文献

- [1] 许智宏. 植物生物技术[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1998.
- [2] Smith M K, Drew R A. Growth and yield characteristics of dwarf off-types recovered from tissue cultured banana[J]. Australian Journal of Experimental Agriculture 1990, 30: 575-578.
- [3] Vuylsteke D, Swennen R, De Langhe E. Soma clonal variation in plantains (Musa spp. AAB group) derived from shoot tip culture[J]. Fruits 1991, 46: 429-439.
- [4] Lsrati Y, Reuveni O, Lahav E. Quantitative aspects of somaclonal variation in banana propagated by in vitro techniques[J]. Scientia Horticulturae 1991, 48(1): 71-88.
- [5] 朱靖杰. 香蕉组织培养中变异的发生与控制途径[J]. 果树科学 1995, 12(2): 120-122.
- [6] 陈豫梅, 陈厚彬. 香蕉快速繁殖技术研究进展[J]. 广东农业科学 2001(5): 22-24.
- [7] 田郎, 张茹莲, 罗秀娥. 香蕉组培苗生产及其问题探讨[J]. 云南热作科技, 1997, 20(2): 17-19.
- [8] 王昌虎, 马镇荣, 刘卫, 等. 应用正交设计优化香蕉外植体直接出芽的条件[J]. 热带亚热带植物学报, 2001, 9(1): 69-71.

楔叶茶藨组织培养研究

李金英¹, 张志东¹, 李亚东¹, 吴林¹, 宋宏伟²

(1. 吉林农业大学园艺学院 吉林 长春 130118; 2. 吉林省农业科学院 吉林 长春 130033)

摘要: 试验采用楔叶茶藨水培新梢为外植体, 进行了组织培养研究, 成功的建立了无性繁殖体系, 即初代培养基: MS+BA 1.0 mg/L+IBA 0.1 mg/L; 增殖培养基: MS+BA 1.0 mg/L+IBA 0.1~0.2 mg/L+GA₃ 0.25~0.5 mg/L。

关键词: 楔叶茶藨 组织培养

中图分类号: S 793.04 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2009)06-0081-03

楔叶茶藨(*Ribes diacantha* Pall)是茶藨子属(*Ribes* L.)虎耳草科(Saxifragaceae)植物, 全世界约150种, 资源非常丰富^[1]。茶藨子属植物主产于北半球寒带至温带, 少数种延伸到亚洲的亚热带和南美洲的安第斯山, 非洲仅2种, 分布于阿特拉斯山, 我国约50种, 主产西南、西北至东北, 其中有些供观赏用, 有些种的浆果可食^[2]。楔叶茶藨高1~2 m, 中生灌木, 叶片有光泽, 叶基楔形, 花绿黄色, 浆果球形, 红色, 具有观赏性, 果实可食, 雌雄异株。产量低, 抗寒性好, 可作育种原始材料, 主要生长于内蒙古东部及朝鲜、蒙古、原苏联(西伯利亚远东)地区^[3,4]。茶藨属植物虽然资源十分丰富, 但除对黑穗醋栗

(*Ribes nigrum* L.)等少数栽培品种有组培研究^[5-8]外, 对一些野生种基本没有相关研究报道。该试验以楔叶茶藨为试材, 对其初代培养物建立、继代增殖培养进行了研究, 旨在探讨楔叶茶藨组培过程中的主要影响因素, 建立离体无性系, 为楔叶茶藨快速繁殖技术体系的建立提供依据。该研究结果将对茶藨属植物新野生种的组培技术研究提供重要的参考价值和借鉴意义, 也为利用楔叶茶藨组培苗进行转基因技术的应用研究提供了科学参考。

1 材料与方法

1.1 材料

楔叶茶藨外植体采自吉林农业大学小浆果园。

1.2 方法

除特殊处理外, 外植体均来自越冬枝条在室内水培后萌发出的新梢, 外植体长度为1.0~2.0 cm, 试验中外植体材料表面消毒方法均为: 用适量洗涤剂浸洗数分钟后, 在流水下冲洗30 min, 在超净工作台上用消毒药剂进行表面消毒后, 用无菌水冲洗3~4次, 每次至少3 min。除消毒时间试验处理所接种的外植体数不同外,

第一作者简介: 李金英(1978-), 女, 吉林舒兰人, 硕士, 研究方向为果树生物技术。E-mail: yuxinlijinying@yahoo.com.cn。
通讯作者: 张志东(1962-), 男, 黑龙江省肇源县人, 硕士, 教授, 研究方向为果树生物技术。E-mail: curant1985@163.com。
基金项目: 吉林省科技厅资助项目(20040701-1); 农业部948重点资助项目(2006-G25); 科技部资助项目(2005DKA21002-25)。
收稿日期: 2008-12-27

[9] 郑晓英, 连雯. 提高香蕉试管苗的质量和经济效益的研究[J]. 福建农业大学学报 1995, 24(4): 405-409.

The Study of Mass-produced Techonology Tissue Culture on Banana

SHAN Qin-li¹, ZHAO Hui¹, ZHANG Fu-dou²

(1. Research of Food Crops Institute, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming, Yunnan 650205, China; 2. Agricultural Environment and Resource Research Institute, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming, Yunnan 650205, China)

Abstract: The technology and flow of production on tissue culture of young banana plant was introduced systematically in this article, and some common problem and how to resolve it in the young banana plant mass-produced procedure was analysed and discussed. Aim to reduce the cost of production and optimize the flow of production, the authors did provide a set of technical project so as to further improve the quality of young banana plant and the production efficiency.

Key words: Banana; Tissue culture; Produce; Technology