

啤酒花脱毒种苗工厂化快繁技术研究

张梅秀, 臧广鹏, 杨振华, 雒淑珍, 魏玉杰

(甘肃省农垦农业研究院 甘肃省啤酒花开发工程技术研究中心, 甘肃 武威 733006)

摘要:对啤酒花脱毒苗木的节本快繁技术进行了研究,应用自来水代替蒸馏水、医用葡萄糖代替葡萄糖、无激素与正常激素交替培养、增加每瓶接种株数等措施,提高了啤酒花脱毒种苗快繁生产效率,降低了成本,达到了种苗工厂化生产要求。

关键词:啤酒花;脱毒种苗;工厂化生产

中图分类号:S 565.9 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2011)03-0156-02

啤酒花(*Humulus lupulus* L.)是我国重要的出口创汇产品。甘肃省是我国啤酒花主要种植地,啤酒花颗粒产量占全国的50%以上。由于病毒病感染,导致啤酒花有效成分 α 酸含量的明显下降,啤酒花的产量和品质严重退化。近年来,啤酒花组织培养研究国内外均有报道^[1-5],但侧重于病毒分离方面,利用脱毒技术解决啤酒花品种退化及 α 酸逐年降低是行之有效的。现对脱毒啤酒花的组培快繁技术及其工厂化生产进行了研究,并取得了阶段性进展。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验所用的脱毒试管苗为国内常规栽培品种:青岛大花(由亚盛博士生流动站提供)。

1.2 试验方法

1.2.1 无菌苗的获得 采取啤酒花的幼嫩茎段,先在加有洗衣粉的洗涤液中漂洗,再在自来水中冲洗1~2 h。然后在超净工作台上用剪刀剪成带有2个侧芽的茎段,进行综合消毒,共设A(70%酒精10 s)、B(升汞5 min)、C(70%酒精10 s+升汞5 min)3个处理。最后用无菌水冲洗3次,接种于不加任何激素的低糖MS培养基中。每处理接种20瓶,每瓶接一茎段,培养温度(25±2)℃,光照16 h/d,光照强度1 500~2 500 lx。

1.2.2 脱毒苗的获得 病毒在植物体内的分布是不均

匀的,在受感染的植物中顶端分生组织通常不含或仅含低浓度的病毒,其它的植物组织离茎尖的距离越远则病毒含量越高。茎尖脱毒后进行热处理,在高于正常温度条件下,植物组织中的很多病毒可被部分或完全钝化,而很少伤害甚至不伤害寄主组织。啤酒花经多次进行茎尖脱毒后,进行一次热处理脱毒,可达到彻底脱毒的目的。对脱毒苗的检测采用分子生物学检测法和电镜检测法2种方法(该技术由亚盛博士生流动站提供)。

1.2.3 无激素与正常激素水平交替培养对啤酒花生长发育的影响 对获得的啤酒花无菌苗,选用A(无激素)、B(正常激素水平,作为对照)2种激素处理进行交替培养。每处理接种20瓶,每瓶接种3个茎段。2种激素处理进行交替培养后,20 d统计平均增殖率及生长状况。

1.2.4 不同水质对啤酒花组培苗生长发育的影响 在筛选出最适激素的基础上,对获得的啤酒花无菌苗,选用A(自来水)、B(凉开水)、C(蒸馏水)3种不同水质培养基进行培养,每处理接种20瓶,每瓶接种3个单芽茎段。

1.2.5 不同碳源对啤酒花组培苗生长的影响 在筛选出最适激素与最适水质的基础上,对获得的啤酒花无菌苗,设A(白糖)、B(蔗糖)、C(医用葡萄糖)、D(葡萄糖)4种处理进行研究,每处理接种20瓶,每瓶接种3个茎段。pH 5.8~6.0,培养温度25~27℃。光照时间12~16 h/d,光照强度2 000 lx左右。

1.2.6 每瓶接种株数对试管苗生长的影响 每瓶接种株数的增减是提高组培过程中设备利用率、培养室单位面积光能利用率、出苗率的关键因素。根据每瓶内接种株数共设A(3株)、B(4株)、C(5株)、D(6株)4个处理,每处理接种20瓶。

2 结果与分析

2.1 无菌苗的获得

由表1可看出,A处理药害比较轻,药害率为11.3%,但由于消毒不彻底,污染率较大为84.9%,大大

第一作者简介:张梅秀(1976-),女,甘肃临洮人,硕士,农艺师,现主要从事组培研究工作。E-mail: gansuzmx@sohu.com。

通讯作者:魏玉杰(1967-),男,甘肃通渭人,在读博士,高级农艺师,现主要从事药用植物研究工作。E-mail: gswwwwyj67@163.com。

基金项目:甘肃省科技厅资助项目(092NKDH005);特色农作物生物技术育种创新团队资助项目(O98TTCH002)。

收稿日期:2010-11-17

降低了试管苗的成活率,成活率仅为 37.7%;C 处理污染率最低,只有 13.2%,说明消毒效果比较好,但同时加大了药害程度,致使其成活率降低;处理 B 无论是污染率还是药害率都居于 A、C 之间,而成活率达 63.6%,远高于 A、C。综合来看,以处理 B 较为适合。

表 1 各处理对啤酒花的消毒效果

处理	接种瓶数/瓶	污染率/%	药害率/%	成活率/%
A	53	84.9	11.3	37.7
B	55	25.5	20	63.6
C	53	13.2	32	49.1

2.2 交替培养对啤酒花脱毒苗生长发育的影响

由表 2 可看出,A、B 2 种培养基交替培养,与 B 培养基单独培养对啤酒花试管苗的根的生长发育没有影响,而 A 培养基单独培养对啤酒花试管苗的根的生长发育影响较大,不利于根的形成及芽的增殖。交替培养的脱毒苗较粗壮,愈伤组织较小。且从成本的角度出发,2 种培养基交替培养较对照节约成本。

表 3 不同水质对啤酒花脱毒苗生长发育的影响

处理	接种茎段数/个	接种芽数/个	生根茎段数/个	生根率/%	相对 CK 百分数	芽数/个	新增芽数/个	增殖倍数	相对 CK 百分数	平均根长/cm	平均茎粗/cm	平均株高/cm
A	60	60	48	80	92.3	190	130	2.17	86.8	2.60	0.15	12.11
B	60	60	57	95	109.6	199	139	2.32	92.8	2.13	0.082	15.02
C	60	60	52	86.7	100	210	150	2.5	100	2.42	0.073	12.9

2.4 不同碳源对啤酒花脱毒苗生长发育的影响

由表 4 可看出,不同碳源对啤酒花脱毒苗的生长发育影响较大,无论是生根率还是增殖倍数均以 D、C 处理较高,B 处理次之,A 处理最差。可见,在啤酒花的组织培养中对不同碳源比较敏感,用医用葡萄糖完全可以取代葡萄糖,且成本也不太高,是啤酒花脱毒苗比较理想的碳源。

表 4 不同碳源对啤酒花脱毒苗生长发育的影响

处理	接种茎段数/个	接种芽数/个	生根茎段数/个	生根率/%	相对 CK 百分数	芽数/个	新增芽数/个	增殖倍数	相对 CK 百分数
A	60	60	42	70	73.4	163	103	1.72	70.2
B	60	60	44	74.4	78.3	164	104	1.73	70.6
C	60	60	57	95	100	207	147	2.45	100
D	60	60	58	96	101.1	211	151	2.52	102.9

2.5 每瓶接种株数对脱毒苗生长发育的影响

由表 5 可看出,每瓶接种株数对啤酒花试管苗的根的生长发育影响较大,相对于对照 A 的生根率都有不同程度的减少,变幅为-1.7%~-19%;增殖倍数以处理 D 最高为 2.87,相对于 CK 为 114.8%,C 处理次之,为 104.8%,B 处理为 1.53,相对于对照 D 为 61.2%,相对减少了 38.8%。

由表 6 可知,20 d 后,根长及株高随着每瓶接种株数的增加而增加,而茎粗随着每瓶接种株数的增加而减小。

表 2 交替培养对啤酒花脱毒苗生长发育的影响

处理	接种茎段数/个	接种芽数/个	生根茎段数/个	生根率/%	相对 CK 百分数	芽数/个	新增芽数/个	增殖倍数	相对 CK 百分数
AB 交替培养	120	120	116	96.7	98.4	336	216	1.8	101.1
B(CK)	120	120	118	98.3	100	334	214	1.78	100
A	120	120	90	75	77.6	296	176	1.47	99

2.3 不同水质对啤酒花脱毒苗生长发育的影响

由表 3 可看出,不同水质对啤酒花脱毒苗的根的生长发育影响较大,生根率以 B 处理最高,相对于对照 C 的生根率增加了 9.6 个百分点,A 相对于对照 C 的生根率减少了 7.7 个百分点。增殖倍数处理 C 最高,为 2.5;B 次之,为 2.32,相对于 CK 为 92.8%,C 处理最差,为 2.17%,相对于对照 C 为 86.8%,相对减少了 13.2 个百分点。20 d 后的平均根长以 A>C>B。平均茎粗:A>B>C。平均株高:B>C>A。综上,在啤酒花的组织培养中用凉开水完全可以取代蒸馏水。

表 5 每瓶接种株数对啤酒花脱毒苗生长发育的影响

处理	接种茎段数/个	接种芽数/个	生根茎段数/个	生根率/%	相对 CK 百分数	芽数/个	新增芽数/个	增殖倍数	相对 CK 百分数
A(CK)	60	60	42	70	100	210	150	2.5	100
B	80	80	55	68.8	98.3	202	122	1.53	61.2
C	100	100	635	63.5	90.7	362	262	2.62	104.8
D	120	120	680	56.7	81	464	344	2.87	114.8

表 6 20 d 每瓶接种株数对啤酒花脱毒苗生长发育的影响

处理	根长	相对 CK 百分数	茎粗	相对 CK 百分数	株高	相对 CK 百分数
A(CK)	2.43	100	0.08	100	14.40	100
B	2.56	105	0.075	93.8	16.34	1.13
C	2.71	112	0.075	93.8	16.60	1.15
D	3.25	133	0.064	80	17.06	1.18

综上所述,从增殖及成本的角度出发,以每瓶接种 6 株为宜,移栽则以每瓶接种 3 株较为理想。

3 小结

试验结果表明,无菌苗的获得以处理 B(升汞 5 min)的消毒效果较佳,成活率较高。处理 C(70%酒精 10 s+升汞 5 min)次之。从成本的角度出发,2 种不同激素水平的培养基交替培养较对照节约成本是较为理想的培养方法。在啤酒花的组织培养中用凉开水完全可以取蒸馏水;用医用葡萄糖是较为理想的碳源,且成本也不高;以增殖及成本的角度出发,以每瓶接种 6 株为宜,移栽则以每瓶接种 3 株为宜,并已成功应用于生产。