

# 大蒜茎尖脱毒及快繁研究

于德才<sup>1</sup>, 李学湛<sup>1</sup>, 吕典秋<sup>1</sup>, 白艳菊<sup>1</sup>, 张红骥<sup>2</sup>

(1. 黑龙江省农科院植物脱毒苗木研究所, 哈尔滨 150086; 2. 东北农业大学, 哈尔滨 150030)

**摘要:** 病毒是引起大蒜退化的主要原因, 茎尖脱毒是解决此问题的唯一途径。通过实验, 我们不仅克服了脱毒效果不明显, 增殖倍数不显著的问题。而且对脱毒效果进行了科学的验证; 对炼苗环节进行了大胆的改进, 使移栽苗的成活率大大的提高了。

**关键词:** 大蒜; 培养基; 脱毒; 快繁

**中图分类号:** S633.403.6 **文献标识码:** B **文章编号:** 1001-0009(2005)06-0084-02

大蒜在我国已有 2000 多年的栽培历史。随着大蒜工业的兴起, 我国大蒜种植面积正逐年增加。目前我国大蒜种植面积达 26.6 万  $\text{hm}^2$  (公顷), 占亚洲的 1/2, 占世界的 1/3; 同时中国是世界上大蒜的主要出口贸易国之一, 产品远销东南亚, 日本, 中东, 美国, 俄罗斯等国家及地区, 为我国换取了大量的外汇。大蒜是一种花粉败育型植物, 在生产上通常采用鳞茎繁殖。黑龙江省是我国大蒜的主要产区, 但由于农民常年自留种蒜致使品种退化严重, 主要表现为蒜头小, 产量低, 品质差, 小蒜瓣增加以及花叶褪绿、条斑等, 严重影响其商品性和出口创汇。目前使大蒜脱除病毒唯一方法就是茎尖脱毒培养, 本实验在对如何提高脱毒技术方面进行了探讨。

## 1 脱毒材料的选择

对准备进行脱毒复壮的大蒜品种或材料进行田间株选和鳞茎选择是非常重要的, 它不仅能提高脱毒效果, 而且在工作当中争取了时间。

田间所选的植株必须符合品种的特性, 包括株型、叶型等生物学性状及成熟期等农艺性状; 植株生长健壮, 无明显病害症状, 包括病毒病、真菌、细菌病害; 选取相对单株产量高及鳞茎大的单株; 选择符合品种特性的鳞茎, 如瓣数、皮色、蒜型、无病斑和机械创伤的大鳞茎作为脱毒材料。

## 2 茎尖脱毒

### 2.1 催芽及温度处理

对入选的鳞茎首先置于 5℃~10℃ 温度下 25 d~30 d (天) 以打破休眠, 然后至置于 37℃ 温度下钝化病毒 1~2 个月, 必须度过休眠期或采用理、化处理打破休眠, 便可以及早地进行茎尖剥离培养了。

### 2.2 外殖体消毒

鳞芽用清水浸泡 1 h~2 h (小时), 保湿催芽 24 h~36 h (小时) 至鳞芽萌发出, 然后将已萌发鳞茎置于自来水下冲洗 30 min (分钟), 取出浸蘸 70% 酒精, 在酒精灯上均匀烤干, 备用。

### 2.3 茎尖剥离

灭菌后的鳞茎在超净工作台上用解剖刀在将短缩茎盘的外侧木栓化部分薄切下 0.3 mm~0.5 mm (毫米), 然后由此处向芽端移 2 mm~3 mm (毫米), 横切取下。将切下鳞芽

的茎盘的切面向下, 放在 40 倍显微镜下, 剥去外部鳞片, 剥离带 1~2 个叶原基的分生组织, 接种到试管内的芽分化培养基上。

### 2.4 培养条件

剥离好的材料接种于培养基上, 密封瓶口后, 置于培养箱或组培室的培养架上。培养条件为, 温度为  $23 \pm 2$  °C, 光照 2 500 Lx~3 000 Lx (勒克斯), 13 h/d~16 h/d (小时/天), 黑暗期 8 h/d (小时/天), 培养 2~3 周成苗。苗长至 1 cm~2 cm (厘米) 高转入快繁培养。

## 3 培养基的筛选

### 3.1 诱芽培养基

经过多次实验结果表明, 诱芽培养基对 MS、LS、B<sub>5</sub> 进行了筛选, 其中 B<sub>5</sub> 与 NAA、BA 的不同配比进行了单因素与多因素实验, 结果表明: 诱芽培养基以 MS+BA0.1 mg/L~1 mg/L+NAA0.1 mg/L~0.2 mg/L (毫克/升) 为好。

表 1 不同培养基对茎尖成苗的影响

参试 品种	培养基								
	MS		B <sub>5</sub>			LS			
	接茎尖数 (个)	成苗数 (株)	成苗率 (%)	接茎尖数 (个)	成苗数 (株)	成苗率 (%)	接茎尖数 (个)	成苗数 (株)	
紫皮蒜	30	25	83.3	30	26	86.7	28	22	78.6
白皮蒜	30	28	93.3	42	36	85.7	34	31	91.2
平均	30	26.5	88.3	36	31	86.2	31	26.5	85.5

表 2 不同浓度激素对茎尖增殖的影响

激素种类	培养基							
	1	2	3	4	5	6	7	8
BA(mg/L)	2	—	2	—	0.5	2	2	2
KT(mg/L)	0.5	—	—	2	—	—	0.5	—
NAA(mg/L)	—	0.2	0.05	0.05	0.02	0.5	0.05	—
IAA(mg/L)	—	0.1	—	—	—	—	0.1	0.2
单株平均增殖系数	2.0	0.8	7.4	2.5	5.8	7.3	6.5	4.2

### 3.2 增殖培养基的筛选

初代培养 2~3 个星期后, 将其转移到增殖培养基上, 经过实验表明以 MS+BA0.1 mg/L~3.0 mg/L (毫克/升)+NAA0.01 mg/L~0.05 mg/L (毫克/升) 上进行增殖效果为好, 增殖倍数可达 5 倍以上。

### 3.3 生根培养基的筛选

试管苗经过快繁培养后, 由于移栽的需要, 只有生产出强壮的根系, 才能有利于培育壮苗。经过实验筛选表明 MS+

NAA0.01+BA0.2+IBA1.5 生根效果较好。

表3 脱毒试管苗的生根状态对驯化成活的影响

激素及浓度 mg/L			试管苗株数	生根株数	生根百分率%	驯化株数	驯化成活株数	成活百分率%	壮苗指数
NAA	IBA	BA							
0.01	1.5	0.2	40	29	73	26	26	100	0.04
0.01	2.0	0.2	40	16	40	26	23	89	0.03
0.01	1.5	0.1	40	14	35	25	22	88	0.02
0.01	1.0	0.1	39	13	33	26	19	73	0.02
0.01	1.0	0.3	39	20	51	25	23	92	0.04
0.01	2.0	0.3	40	12	30	26	17	65	0.01

#### 4 脱毒效果的观察

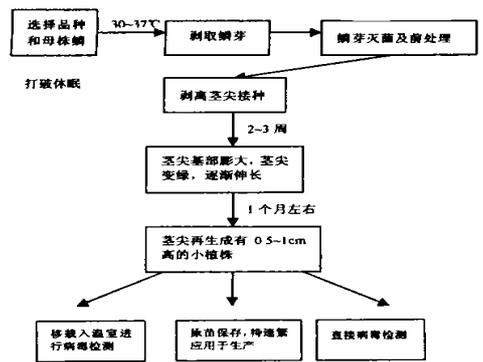
脱毒效果是检验脱毒水平的指标,本实验应用了指示植物鉴定、电子显微镜、DAS-ELISA,检测方法按脱毒苗木质量标准 and 病毒检测技术规程进行病毒检测,检测无毒的为脱毒苗,方可进行扩繁。经检测表明,经过37度的恒温干热处理,剥取带2个叶原基的生长点,脱毒率可达85%以上。同时检测出黑龙江省大蒜的主要病毒为洋葱黄矮病毒、大蒜潜隐病毒。此外经马铃薯试剂盒检测发现还有马铃薯Y病毒、以及马铃薯X病毒影响黑龙江省的大蒜质量,与其它报道相一致。

#### 5 操作流程图

见下图。

#### 6 试管苗的移栽

大蒜试管苗移栽成活率较低,因此在移栽时要加强试管苗的炼苗工作,延长闭口炼苗的时间,以增强试管苗的适应能力,同时要注意在移栽打开瓶口时,向容器中加入一定量的自



来水,让试管苗充分吸收水分,开口炼苗时间缩短到1d(天),可直接移栽到日光温室中,栽后浇足水,成活率达90%以上。

#### 参考文献:

- [1] 陈世儒. 大蒜离体快繁及脱毒[J]. 园艺学报, 1991, 18(3): 245.
- [2] 李昌华. 园艺植物组织培养[J]. 上海: 上海科学技术出版社, 1995.
- [3] 崔德才. 植物组织培养与工厂化育苗[J]. 北京: 化学工业出版社, 2003.
- [4] 丁辛顺. 脱毒大蒜苗的生产与检测技术[J]. 上海农业学报, 4(1): 23~28.
- [5] shin-ichiro sumi et al. 1993. Novel rod-shaped virus isolated from garlic, *Allium mtivum*, possessing a unique genome organization. *Journal of General Virology*, 74: 1879~1885.
- [6] 魏宁生, 吴云峰. 大蒜病毒病原的鉴定及组培脱毒研究[J]. 西北农业大学学报, 1992.

水果型黄瓜清香脆甜、风味浓、口感极佳。一般商品瓜12cm~15cm(厘米),表皮翠绿,光滑无刺,商品性极好,是高档鲜食果蔬品种。双鸭山市农科所在2003年利用日光温室进行栽培试验,平均每667m<sup>2</sup>(平方米)产量可达5200kg(公斤),生产效益显著,具有很高推广价值,主要栽培技术如下。

- 1 品种选择 选丰产抗病、品质和商品性佳佳的品种,最好是雌型单性结瓜品种,如京研迷你1、2号香冠王、甜绿脆等品种。
- 2 适期播种育苗 东北地区,温室保温性好的日光温室可在1月中旬播种,将种子撒播在育苗盘内,等苗出齐后待小苗刚要吐真叶时将小苗移到营养钵中,小苗缓苗后,对温度要加以控制,及时浇缓苗水,浇水时必须用温水不易冷水浇。
- 3 重施优质有机肥,整地起垄 每667m<sup>2</sup>施腐熟鸡粪、腐熟牛粪各5000~8000kg(公斤),复合肥50kg(公斤)(其中复合肥一半是撒施,另一半集中施于垄底做底肥),深翻30cm(厘米),垄距50cm(厘米),垄高15cm~20cm(厘米)。
- 4 定植 苗龄在30d~50d(天),植株4~5片叶时定植,苗龄不宜过长。定植株距35cm(厘米)。
- 5 轻蹲苗,勤水肥,以促为主 定植时要浇足底水,心叶见长再浇一次缓苗水,之后中耕1次。水果黄瓜瓜码密,座瓜率高,不宜过分蹲苗,植株稍显早就

应及早浇小水,座住瓜后应大水大肥,防止瓜多坠秧,每次每667m<sup>2</sup>随水适施钾宝10kg~15kg(公斤)或尿素20kg(公斤),一般每7d~10d(天)浇一次,每月需追施一次腐熟鸡粪1000kg(公斤)左右,防止植株早衰,结瓜盛期每10d(天)左右叶面喷施一次宝力丰300倍液。

- 6 植株调整和吊蔓 一般实行单蔓整枝,分枝能力强的品种,每一侧蔓留一瓜,瓜前留2叶摘心。植株5、6叶时及时吊蔓,用尼龙绳将蔓吊于架上,每株保留功能叶15片~20片左右,下部老叶及时摘除,以利通风透光。
- 7 温度调控 3月下旬起温度逐渐升高,一般白天要保持20℃~25℃左右,夜间要保持10℃以上,随着外界温度降低,应注意加强温室增温和保温措施,增加草苫子,促进升温。
- 8 适时采收 瓜长10cm~13cm(厘米),直径2cm~3cm(厘米)时可采收,一般于5月下旬~6月上旬采收完后拉秧。
- 9 病虫害防治 据试验,影响产量的主要病害是霜霉病,其次角斑病,主要是控制温、湿度,及时打药,一般用72.2%普力克400倍液防治,每周喷一次即可。

(黑龙江省双鸭山市农业科研所, 155100)

温室早春无公害栽培水果黄瓜丰产技术

刘景占, 白胜林