

# 河南省脱毒甘薯茎尖培养与快繁技术

朱红彩 王玲燕 董彦琪

(河南省新乡市农业科学院 新乡 453000)

**摘要:**阐述了脱毒甘薯试管苗及原原种苗繁殖过程中的关键技术,茎尖分生组织培养、以薯育苗、以苗育苗的扩繁过程以及在这些过程中所采取的一系列措施。

**关键词:**甘薯;脱毒;茎尖分生组织培养;快繁;试管苗;原原种

我国是世界上最大的甘薯生产国,常年甘薯种植面积为7 500万~8 000万亩,仅次于水稻、小麦、玉米,占我国耕地总面积的4.2%,我国甘薯产业一直以占世界60%左右的种植面积,收获了占世界总产80%左右的产量。近年来随着农村产业结构的调整和农村经济的快速发展,甘薯由原来单一的粮食作物发展成为食品、保健和药用等汇于一身的经济作物,人们对甘薯营养和保健的认识不断的加深和提高。甘薯生产成为广大农民脱贫致富的重要措施。但甘薯是无性繁殖作物,主要通过秧苗、薯块和茎蔓进行繁殖。在生产栽培过程中易受病毒感染,一旦被侵染就很难去除。病毒病是影响甘薯品质和产量的主要因素之一。目前,采用茎尖脱毒方法是恢复品种特性,防止或减少因病毒感染造成损失的最有效途径。我们通过对当前河南省主栽甘薯品种进行甘薯茎尖脱毒、快速扩繁试验研究,为甘薯的规模化生产提供了依据。

## 1 甘薯脱毒技术原理

病毒病不同于真菌和细菌病害,无法用杀菌剂和抗生素予以防治。因此要从根本上克服病毒病对

甘薯的危害,关键是要获得无病毒种苗。经研究发现,在感病植株中,病毒主要是通过维管输导组织传播,而茎尖分生组织未形成维管束,病毒只能通过细胞间连丝扩散,传播速度很慢。因此利用茎尖存在无病毒区的现象,在无菌条件下切取甘薯茎尖进行离体培养,可得到不带病毒的植株。研究表明,茎尖离体培养是甘薯脱毒的首选方法。

## 2 甘薯茎尖脱毒技术

### 2.1 外植体的获取

甘薯为无性繁殖作物,获取外植体的方法比较简单,常用的有两种,一是选用无病、无破损、表面光滑的薯块,将薯块种植在25℃~30℃条件下进行催芽生长,当薯苗长到30 cm左右时,取顶端2 cm左右的顶端茎尖;二是在甘薯生长季节,从大田中选取生长健壮、无病虫害的植株茎尖,每段带一个腋芽,含顶芽的2~3节,将茎尖放在冰箱或浸泡水中备用。

### 2.2 外植体消毒

将试验材料修剪去掉完全展叶的茎段,消毒前材料先用自来水冲10 min,在无菌条件下,用75%酒精消毒30 s,迅速倒出75%酒精,将材料倒入0.1 氯

作者简介:朱红彩,女,本科,助理研究员,从事农作物示范推广和甘薯组培试验研究工作。

[4]张俊灵,孙美荣,张东旭,等.山西省农科院谷子研究所小麦品种改良及系谱分析[J].山西农业科学,2011,39(3):217-220,224.

[5]温辉芹,张立生,等.国审小麦新品种晋太170的选育实践与体会[J].山西农业科学,2008,36(9):15-20.

[6]李世平,张哲夫,安林利,等.品种稳定性参数和高稳系数在小

麦区试中的应用及其分析[J].华北农学报,2000,15(3):10-15.

[7]李玉发,李淑芳,何中国,等.小麦区试品种丰产性和稳产性的分析方法[J].吉林农业科学,2006,29(4):19-22.

[8]孙美荣,李岩华,张俊灵,等.水旱交叉选育抗旱高产小麦新品种的研究[J].华北农学报,1999,12(2):439-442.

化汞灭菌 5~10 min,最后用无菌水漂洗 3~5 次。消毒过程中轻轻摇动消毒杯,保证材料全部浸没在消毒液中,使材料和灭菌剂有良好的接触。无菌水冲洗后,仅留少量水分使材料保持湿润状态。避免因较长时间的剥离与接种操作使外植体失水而失去活力。

### 2.3 茎尖的剥离和培养

在材料消毒前,将超净操作台上的物品进行灭菌,打开鼓风机并开启紫外灯 20 min。关闭紫外灯 20 min 后进行操作。工作人员应穿好工作服,戴上帽子和口罩,并用 75%酒精棉球擦拭双手和工作台面,待手上酒精吹干后点燃酒精灯,首先对镊子和解剖刀在 75%酒精中浸泡,然后在火焰上反复灼烧灭菌,放凉后接种。按照无菌操作技术要求,在双目体视镜下切取带有 2 个叶原茎尖外植体,长 0.3~0.5 mm 的茎尖分生组织,接种到 MS 培养基上,置于培养室培养,温度控制在 25℃~28℃,每天光照时间为 14 h。

试验表明:甘薯茎尖脱毒成功率的高低,除受茎尖大小影响之外,还受人员操作因素的影响。一般来讲,剥离的茎尖越小,所带病毒越少,获得无病毒植株的机会就越高,培养越困难;离体茎尖越大,成活率越高,但脱毒效果降低。

### 2.4 脱毒苗的病毒检测

甘薯茎尖在培养基生长到 20~30 d,叶片数达到 5~7 片叶左右,进行病毒检测。茎尖培养产生的试管苗,经严格检测后,才能确认为脱毒苗。待初级快繁到一定数量后,将同一株号的试管苗分成三部分:一部分保存;一部分直接用于病毒鉴定;一部分移入防虫网室内的无菌基质中培养。

### 2.5 甘薯脱毒苗的快繁技术

在 MS 培养基上扩繁,获得足够的脱毒苗。待获得的甘薯脱毒试管苗长至 6~8 cm 时,在无菌操作室内,切成 1 叶 1 节的短枝段转接于继代增殖培养基上再放回培养室内培养。固体培养基一般 4 周转接一次,繁殖系数在 3~5 倍。经试验,培养最适温度为 25℃±1℃,光照时间每天在 14 h 以上,光照强度在 2 000~3 000 LX。

## 3 外植体培养中常见菌类污染和预防

### 3.1 细菌污染及预防

一般在接种后 1~2 d,培养基中出现黏液状物体、浑浊的水泽状痕迹、云雾状痕迹或出现泡沫的发酵状情况,这些现象多数是细菌污染。主要由于外植体、培养基灭菌不彻底和操作者不当引起。

预防措施:为避免外植体带菌,从选择外植体到外植体清洗、灭菌和接种都要认真对待所有环节。培养基和器具要求在 121℃下保持 20~30 min,同时在接种过程中,每使用一次器具要求蘸酒精灯火焰上彻底灼烧灭菌。操作人员用肥皂洗手,并用 70%酒精消毒,接种过程戴口罩等,禁止讲话、咳嗽,做到熟练规范接种,降低污染率。

### 3.2 真菌污染及预防

一般在接种后 3~10 d,培养基上长霉,呈白色、黄色、黑色,多为真菌污染。主要由于周围环境、空气污染;培养瓶口过大或打开瓶塞、封口膜时掉入真菌孢子。

预防措施:接种室和培养室要用高锰酸钾和福尔马林定期熏蒸消毒;定期对超净工作台过滤器进行清洗和更换。严格操作,接种时,培养瓶要拿成斜角,打开瓶塞或封口膜动作轻缓,避免空气的真菌孢子落入培养瓶中。

操作技术人员的熟练程度,对试验成功也影响很大,要牢记“轻拿轻放,不许说话;瓶口倾斜,不离火焰;揭膜盖膜,顺其自然”的无菌操作要点。

## 4 脱毒苗的驯化和移栽

脱毒后的甘薯试管苗经多次继代繁殖,待达到足够数量后,除少量留作种资保存外,其余大部分则用于生产微型薯(原原种)。首先将试管苗分批拿出培养室炼苗,保持温度在 20℃左右,加多菌灵杀菌,湿度 85%~90%。2 d 后打开瓶口封膜,5~7 d 后洗去试管苗根部培养基,移栽到防虫网棚内。在防虫网室内将小苗移栽入消毒处理的营养土与珍珠岩(2:1)混合基质中,基质疏松透气,且消毒处理,移栽一周内用薄膜等保温保湿,适时遮阳,以后逐渐降低湿度,2 周后,转入常规管理,但要定期喷药,预防蚜虫等危害传播病毒。

### 参考文献

- [1]邱运亮,赵华.植物组织快繁技术[M].北京:化学工业出版社,2010:82-95.
- [2]黄远新,王晓雯,林响.植物茎尖培养实验的教学实践[J].生物学通报,2013,48(9):56-58
- [3]郑跃进,王其法,徐春娥,等.脱毒甘薯的扩繁与快繁[J].种子,2005,24(9):105-106.
- [4]王玲甘.薯脱毒苗的快繁及优质高产栽培技术[J].农业生物技术学报,2007(15).
- [5]陈益华,钟志凌,贺正金.甘薯脱毒苗的快速繁殖与生产技术[J].长江蔬菜,2009(14):9-11.