

# 六月红早熟芋茎尖脱毒研究初报

张志勇

(龙岩市农业科学研究所,福建 龙岩 364000)

**摘要:**对福建永定县六月红早熟芋的茎尖脱毒技术进行了初步研究。采用正交设计试验,分析了6-BA与NAA互作对茎尖组培快繁效果的影响,筛选出适宜六月红早熟芋茎尖诱导、增殖的培养基分别为MS+6-BA1.0 mg/L+NAA0.5 mg/L和MS+6-BA1.0 mg/L+NAA0.2 mg/L;芋花叶病毒检测结果表明,获得的茎尖组培苗脱毒率达91.24%。

**关键词:**芋;组培快繁;脱毒;病毒检测

**中图分类号:**S632.3

**文献标识码:**B

**文章编号:**1004-874X(2008)10-0030-03

## Preliminary study on shoot tip for virus-free of Liuyuehong early maturity taro

ZHANG Zhi-yong

(Longyan Institute of Agricultural Sciences, Longyan 364000, China)

**Abstract:**In this paper, the virus-eliminating with shoot-tip culture, rapid propagation and virus detection of taro were studied. The effects of the combination of 6-BA and NAA on differentiation and shoot propagation of taro were studied with orthogonal experiments. The results showed that suitable medium for shoot differentiation of taro was MS+6-BA1.0 mg/L+NAA0.5 mg/L, the optimal medium for rapid propagation was MS+6-BA1.0 mg/L+NAA0.2 mg/L. The plantlets of taro were detected for Dasheen mosaic virus. The results indicated that the rate of virus-free was 91.24%.

**Key words:** taro; culture and rapid propagation; virus-free; virus detection

芋艿[*Colocasia esculenta* (L.)Schott]又称芋头,是天南星科芋属多年生草本植物,原产于中国、印度马来半岛等热带沼泽地区<sup>[1]</sup>。福建省永定县种植的六月红早熟芋属多子芋类型,是该省最早上市的芋子品种,也是闽西特色优良品种,其营养成分中抗衰老因

子 $\alpha$ -vitE含量比国内其他芋品种高,为5.2 mg/kg,深受消费者青睐<sup>[2]</sup>。近年来,六月红早熟芋成为永定县农业主要出口创汇产品,市场开发前景广阔。但是,在长期利用球茎进行营养繁殖的过程中,栽培芋已普遍受病毒侵染,目前芋病毒中分布最广、危害最大的是芋花叶病毒(Dasheen mosaic virus,简称DMV),感染芋花叶病毒的植株生活力降低,球茎大小、数量和品质下降,产量损失约60%<sup>[3]</sup>。2007年,笔者在永定县仙师乡大明村、务田村六月红芋生产基地进行随机抽样调查时发

收稿日期:2008-04-06

基金项目:龙岩市科技局重点科研攻关项目(2006LY11)

作者简介:张志勇(1973-),男,助理研究员,E-mail:zhi

yongz@126.com

率达85.90%;其次是广温7号、初秋1号,生物转化率分别为77.55%和74.28%;产量最低的是高平900,生物转化率仅为62.63%;而其他品种第1潮菇的生物转化率在63.25%~73.28%之间。

### 3 结语

本试验结果表明,供试的9个平菇品种采用PDA培养基培养时,以初秋1号、广温7号、平菇40的综合表现较好,菌丝洁白粗壮、生长快,在不同梯度琼脂量的培养基中生长差异小,说明可以采用PDA培养基培养这3个品种;其余6个品种在PDA培养基上菌丝生长相对较弱,需要重新筛选合适的母种培养基。

本试验结果还表明,供试的9个平菇品种采用木屑培养基培养时,第1潮菇的生物转化率较高,均在60%以上,其中黑丰204、广温7号、初秋1号的菌丝生长速度快、洁白粗壮,且出菇整齐、菇形正、生物转化率相对比其他品种高,初步判断这3个品种比较适宜在海南栽培,但需通过生产栽培进一步验证。

### 参考文献:

- [1] 陈奇波.海南发展平菇生产大有可为[J].食用菌,2001(3):2.
- [2] 常明昌.食用菌栽培学[M].北京:中国农业出版社,2003:114-115.
- [3] 徐文香,郭炳冉,徐承水,等.鸡腿蘑抑菌抗杂的研究[J].食用菌,1997(4):15-16.

现,发病严重田块病毒病显症率达 24%~58%,一般田块显症率为 6%~20%。病毒病对芋的危害是生产上迫切需要解决的问题,有关芋的茎尖脱毒研究及应用也曾有一些报道<sup>[3-7]</sup>。本试验对永定县六月红早熟芋茎尖的诱导分化、增殖快繁以及组培苗的病毒检测等进行了研究,旨在为其产业推广应用脱毒种苗提供依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验材料

供试芋品种为六月红早熟芋,由永定县仙师镇农技站提供。选取顶芽发达、球茎性状良好的种芋作为试验材料。

### 1.2 试验方法

试验以 MS 为基本培养基(每升附加蔗糖 30 g、琼脂粉 6.5 g,pH 值调节至 5.8~6.0),根据试验目的添加不同种类和浓度的激素。将外植体接种于相应的培养基后,置于培养室中培养,培养温度为(25±2)℃,光照强度为 1 500~2 000 lx,每天连续光照 10~12 h。

**1.2.1 诱导培养** 将六月红种芋进行催芽,取长 0.5 cm 左右的顶芽,先用自来水冲洗 0.5 h、表面消毒灭菌后用无菌水漂洗 3 次,然后在超净工作台的解剖镜下,用解剖刀剥取带 1~2 个叶原基、长 0.2~0.5 mm 的茎尖作外植体,最后接种于添加了不同激素组合(NAA0.2 mg/L、6-BA0.5 mg/L+NAA0.2 mg/L、6-BA1.0 mg/L+NAA0.2 mg/L、6-BA2.0 mg/L+NAA0.2 mg/L、NAA0.5 mg/L、6-BA0.5 mg/L+NAA0.5 mg/L、6-BA1.0 mg/L+NAA0.5 mg/L、6-BA2.0 mg/L+NAA0.5 mg/L)的 MS 培养基中进行茎尖诱导分化培养。试验期间观察茎尖的分化情况,接种后 40 d 调查茎尖成活率以及愈伤组织和丛芽的分化率。

**1.2.2 增殖培养** 茎尖外植体分化成苗后,将丛芽切割成单芽,接种于添加了不同激素组合(6-BA0.5 mg/L+NAA0.2 mg/L、6-BA1.0 mg/L+NAA0.2 mg/L、6-BA1.5 mg/L+NAA0.2 mg/L、6-BA2.0 mg/L+NAA0.2 mg/L、6-BA0.5 mg/L+NAA0.5 mg/L、6-BA1.0 mg/L+NAA0.5 mg/L、6-BA1.5 mg/L+NAA0.5 mg/L、6-BA2.0 mg/L+NAA0.5 mg/L)的 MS 培养基上进行芽的增殖培养。试验期间观察芽的增殖情况和组培苗的生长情况,接种后 30 d 统计增殖系数和组培苗高度。

**1.2.3 组培苗的病毒检测** 茎尖组培苗委托福建农林大学植物病毒研究所检测,检测方法采用间接 ELISA 法和 PCR 法,以永定县仙师镇乡大明村、务田村受病毒病侵染的具有典型花叶症状的六月红早熟芋植株作阳性对照,以田间表现健状无花叶症状的六月红早熟

芋植株作阴性对照,每个样品检测 2 次,每次设 2 个重复。按照酶联检测判断原则,间接 ELISA 法以样品 OD<sub>405</sub>≥阴性对照 OD<sub>405</sub> 2 倍时为阳性,PCR 法检测结果以是否出现目的条带为标准。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同激素组合对六月红早熟芋茎尖诱导分化的影响

据调查,将六月红种芋茎尖外植体接种于诱导培养基上 7~8 d 后茎尖开始转绿并逐渐生长,接种后 30 d 茎尖基部内侧长出小突点,然后继续分化形成不定芽。从不同激素组合对六月红早熟芋茎尖诱导分化的影响结果(表 1)可知,不同激素配比对芋茎尖分化有较大影响,接种后 40 d,茎尖组织在 8 种培养基上均能产生愈伤组织。其中,当培养基中没有添加 6-BA 时,茎尖成活率最低(10.0%),且丛芽不分化;在 NAA 浓度为 0.2 mg/L 或 0.5 mg/L 的情况下,茎尖成活率随着 6-BA 浓度在 0~1.0 mg/L 范围内增加而提高、且丛芽分化率也随之提高,但 6-BA 浓度增加至 2.0 mg/L 时茎尖成活率及丛芽分化率反而下降。试验结果(表 1)还表明,MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L 培养基最适宜用于六月红早熟芋的茎尖诱导分化,在该培养基上的茎尖成活率和丛芽分化率最高,分别为 66.7%、54.2%,而产生的愈伤组织较少,既能保证茎尖组织再生植株快速生成,又能降低愈伤组织可能带来的变异。

表 1 不同激素组合对六月红早熟芋茎尖诱导分化的影响

处理	6-BA (mg/L)	NAA (mg/L)	接种外植体数(个)	成活数(个)	成活率(%)	丛芽分化率(%)	愈伤组织分化率(%)
1	0.0	0.2	20	2	10.0	0.0	10.0
2	0.5	0.2	22	8	36.4	13.6	22.7
3	1.0	0.2	18	10	55.6	44.4	11.1
4	2.0	0.2	26	12	46.2	34.5	27.6
5	0.0	0.5	24	5	20.8	0.0	20.8
6	0.5	0.5	31	19	61.3	41.9	19.4
7	1.0	0.5	24	16	66.7	54.2	16.7
8	2.0	0.5	27	14	51.9	48.1	11.1

### 2.2 不同激素组合对六月红早熟芋丛芽增殖效果的影响

据观察,在增殖培养过程中,六月红早熟芋的芽基部均会长出小突点,小突点长成小苗,然后小苗基部又长出小突点,如此反复进行增殖。从表 2 可见,在 NAA 浓度为 0.2 mg/L 或 0.5 mg/L 的情况下,在 6-BA 0.5~1.0 mg/L 范围内,增殖系数随着 6-BA 浓度的提高而明显增加;但当 6-BA 浓度在 1.0~2.0 mg/L 范围内时,有效芽数的增殖效果不明显。试验结果(表 2)还表明,当 NAA 浓度为 0.2 mg/L 或 0.5 mg/L 的情况下,在 6-

表2 不同激素组合对六月红早熟芋丛芽增殖效果的影响

处理	6-BA (mg/L)	NAA (mg/L)	接种芽数 (个)	增殖芽数 (个)	增殖系数 (倍)	苗高 (cm)
I	0.5	0.2	20	82	4.1	3.6
II	1.0	0.2	21	141	6.7	3.4
III	1.5	0.2	23	156	6.8	2.9
IV	2.0	0.2	19	144	7.6	2.3
V	0.5	0.5	21	61	2.9	4.3
VI	1.0	0.5	17	97	5.7	3.7
VII	1.5	0.5	20	125	6.3	3.3
VIII	2.0	0.5	22	147	6.7	2.6

BA 0.5~2.0 mg/L 范围内,六月红早熟芋组培苗的高度有递减的趋势;而在6-BA浓度相同的情况下,组培苗的高度也随着NAA浓度的提高而增加。此外,在试验中还发现,6-BA与NAA的比值越小,越容易产生徒长苗,在添加了6-BA 0.5 mg/L+NAA 0.5 mg/L的培养基上的组培苗较纤细,移栽成活率很低。因此,综合考虑增殖系数和增殖芽苗的生长情况,认为MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L培养基最适宜用于六月红早熟芋丛芽增殖培养,的增殖系数较高,芽苗生长健壮、移栽成活率高。

### 2.3 组培苗病毒检测

在送检的41个六月红茎尖组培株系样品中,呈阳性反应的样品有4个,表明有4个株系携带芋花叶病毒,阳性率为9.76%;其他37个株系样品均呈阴性反应,表明未携带芋花叶病毒。可见,本研究培养的组培苗脱毒率达91.24%。

## 3 结论与讨论

3.1 六月红早熟芋的茎尖诱导分化试验结果显示,在添加一定浓度NAA的情况下,随着6-BA浓度在0~1.0 mg/L范围内的增加,茎尖成活率和丛芽分化均显著提高;而当6-BA浓度增加至2.0 mg/L时,茎尖成活率和丛芽分化率反而下降。本试验结果表明,六月红早熟芋茎尖诱导分化的最适培养基为MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.5 mg/L。

3.2 6-BA与NAA不同浓度对比对六月红芋的增殖快繁影响较大。一般认为,在组培快繁中,细胞分裂素比率高时可提高繁殖系数,但是在实际生产中,衡量组培快繁的效果往往应同时考虑繁殖系数和组培苗质量,既具有一定高度又健壮的芽苗才是有效芽苗。此外,虽然细胞分裂素可促进芽的分化增殖,但是过高的细胞分裂素反而抑制芽苗的生长;而添加适量的生长素也有利于芽苗的生长,但浓度过高也可能导致苗的细弱徒长。综合分析结果表明,六月红早熟芋丛芽增殖快繁的最适培养基为MS+6-BA 1.0 mg/L+NAA 0.2 mg/L。

3.3 目前已鉴定的感染芋的病毒有芋花叶病毒、香蕉束顶病毒、大杆(菌)状病毒、小杆(菌)状病毒、芋瘦小病毒和芋叶脉缺绿病毒等,其中芋花叶病毒分布最广、危害最大,严重影响芋的生产<sup>[9]</sup>。本试验获得的六月红早熟芋茎尖组培苗,经福建农林大学植物病毒研究所进行芋花叶病毒检测,脱毒率达91.24%,证实已成功脱除芋花叶病毒,这为芋脱毒技术的应用奠定了基础。但有关脱毒六月红早熟芋在田间的实际增产效果及如何降低脱毒种芋的生产成本、确保脱毒种芋供应的数量和质量等方面仍有待进一步深入研究。

### 参考文献:

- [1] 杜红梅,黄丹枫.芋脱毒研究进展[J].中国种业,2002(6):19-20.
- [2] 石小琼,杨立明,邓金星,等.闽西多子芋理化性状研究与储藏加工初探[J].江西农业大学学报,2002(1):55-62.
- [3] 柏新富,蒋小满,毕可华,等.芋脱毒苗和组培快繁及田间试验[J].应用与环境生物学报,2002,8(1):52-55.
- [4] 曹欢欢,陈九南,马国华,等.脱毒或少毒芋开发与研究[J].上海农业科技,1990(4):9-12.
- [5] 柏新富,蒋小满,毕可华,等.芋组培脱病毒技术及其增产效益的研究[J].中国农学通报,2002,18(4):48-51.
- [6] 杨俊慧,孟庆军,李建东,等.芋的脱毒快繁及栽培研究[J].山东科学,2004,17(3):32-35.
- [7] 杭玲,罗瑞鸿,苏国秀,等.荔浦芋组培技术及应用[J].中国蔬菜,2003(5):61.
- [8] 刘玉平,柯卫东,叶元英,等.芋脱毒快繁技术研究[J].中国蔬菜,2007(增刊):30-32.
- [9] Willanson G B. Bioassaya for allelopathy: measuring treatment responses with independent control[J]. J. of chem. Ecol.,1988, 14 (1):181-187.
- [10] 郭兰萍,黄璐琦.苍术根茎及根际土水提物生物活性研究及化感物质的鉴定[J].生态学报,2006,26(2):528-535.
- [11] 张爽,潘伟.植物化感作用研究进展[J].现代化农业,2006(8):16-17.
- [12] 宋亮,潘开文,王进闯.化感活性物质影响种子萌发作用机理的研究进展[J].世界科技研究与发展,2006,28(4):52-55.

(上接第27页)

743.

- [6] 张百俊,王广印,陈英照.大蒜浸提液对西葫芦种子活力及幼苗生长的影响[J].河南农业大学学报,2005,39(1):62-64.
- [7] 杨文清,张颖,叶吉松,等.2,4-D包膜处理对黄瓜种子发芽、幼苗生长和生理特性的影响[J].种子,2007,26(1):43-45.
- [8] 毕辛华.种子检验[M].北京:农业出版社,1986:114.
- [9] 李合生,孙群,赵世杰,等.植物生理生化实验原理和技术[M].北京:高等教育出版社,2000:164-168.