



赵海锋¹ 张晓翔² 宿在荣³
(1.吉林农业科技学院 132000) (2.吉林市农业科学院) (3.四平市辽河农垦管理区)

马铃薯(*Solanum tuberosum*),茄科、茄属作物,作为一种蔬菜,深受人们的喜爱。目前在我国的栽培面积大约有300多万公顷,已经成为世界上栽培最多的国家之一,但在其繁殖过程中退化问题比较严重,症状是叶片卷缩,产量降低,实验研究表明,病毒浸染是其退化的根源。因此生产无毒基础种成了在马铃薯生产过程中的关键环节,常用的马铃薯脱毒技术是茎尖组织培养,下面详细介绍给大家介绍一下马铃薯的茎尖组培脱毒技术。

1 取材

进行脱毒培养的材料,可以直接从大田取。一般当芽长到约15厘米高时,将顶端切下6~8厘米,去掉下面2片叶,在切口处涂上生根激素后,把切条植入一个口径为10厘米、内装有消毒营养土的花盆中,然后用玻璃烧杯罩上,保持10天。然后将其转入生长箱中,光照3000~4000Lx,每天光照16小时。两周后去掉顶芽,以促使腋芽的生长。当腋芽长出约1~2厘米时,折下腋生枝,用于消毒,接种。

2 消毒及接种

一般来说,茎尖分生组织由于彼此重叠的叶原基的严密保护,只要仔细解剖,不进行表面消毒也能得到无菌的外植体,但分生组织不带菌,并不等于包在它外面的叶片及其下部的茎段不带菌,将外植体从超净台外面的空间拿进去可能会带进一些菌。

因此,在切取外植体之前仍需对茎芽进行表面消毒。常用的消毒方法是,先剥去大叶片,用自来水冲洗干净,在75%酒精中浸泡30秒钟左右,用1%~3%次氯酸钠或5%~7%的漂白粉溶液消毒10~20分钟(或用0.1% $HgCl_2$ 消毒数分钟),最后用无菌水冲洗材料4~5次。

接种时,先把解剖显微镜置于超净工作台,然后把茎芽置于解剖镜下,左手用一把镊子将它按住,右手用解剖针将叶片和叶原基剥掉。当形似一个闪亮半圆球的顶端分生组织充分暴露出来后,用锋利的长颈刀片将分生组织切下来,一般以0.2~0.3毫米,带1~2个叶原基为好,然后再用刀片将其接种到培养基上。

3 培养

能否培养成功,关键之一是培养基。经过多次实践表明,MS基本培养基不论在成苗率还是脱毒率上都是最好的。除了MS基本培养基外,“More”、“Kassanis”作为基本培养基的效果也比较好,总之,提高培养基中铵盐和钾盐浓度,有利于茎尖成活。另外在培养基中添加一定量的GA,能促进茎尖的生长。不过注意加入GA后生长加快,但当长到4~5毫米后生长便停止了,除非有高浓度的钾和铵。细胞分裂素类物质为6BA,浓度为0.5毫克/升左右。常用的生长素类为NAA,浓度范围为0.1~1.0毫克/升。当新稍长2~3厘米时,转至生根培养基(MS基本培养基或MS基本培养基加NAA0.1~0.5毫克/升)。

另外在培养中注意培养的环境条件,培养温度为23~25℃,每天光照16小时,湿度为70%~80%。

4 病毒鉴定

马铃薯病毒鉴定的方法主要有指示植物法、症状鉴定法。马铃薯的病毒指示植物有千日红和一种藜属植物。具体方法为:从被检植株上取下叶片,置于等容积(W/V)的缓冲液(0.1mol/L磷酸钠)中,研成匀浆。在指示植物的叶片上撒上少许600号金刚砂,然后将被检植物的叶汁液涂于其上,并稍加摩擦,以使指示植物叶表面细胞受到浸染,但又不要损伤叶片。约5分钟后,用水轻轻洗去接种叶片上的残余汁液。如果一周后表现病毒病症状,则说明被检再生植株没有脱除病毒,否则就是脱除了病毒。

5 无毒材料的保存

一个无病毒品种需经过脱毒与检测两个方面的处理才可以获得,因而代价很高。但无病毒植株并没有获得额外的抗病性,它还可能被同一病毒或不同病毒感染。为此,应该将无毒原种种在温室或防虫罩内灭过菌的土壤里,以防止蚜虫传毒及各种条件下的机械传播。在大规模繁殖这些植株时,应该把它们种植在田间隔离区内,或采用春播早留种和夏播留种的方法,也可以把经过茎尖脱毒处理的无病毒植株再通过离体培养进行繁殖与保存。