

魔芋组织培养快繁技术研究进展

宋志红 吴金平 曾祥国 向发云 吴润玲 冯小明 顾玉成*

(湖北省农科院经济作物所研究所,湖北武汉430064)

摘要: 本文对我国20a来魔芋试管苗和试管芋生产技术的发展历程进行了综述,讨论了魔芋组织培养的应用前景和存在问题。

关键词: 魔芋; 试管苗; 试管芋

中图分类号S632.3

文献标识码A

文章编号1007-7731(2008)20-057-04

Progress of Study on the Tissue Culture of Amorphophallus Conjac

Song Zhihong Wu Jinping Zeng Xiangguo Xiang fayun Wu Runling Feng Xiaoming Gu Yucheng

(Economic plant Institute of Hubei Academy of Agricultural Sciences, Wuhan 430064, China)

Abstract: The article discusses the results and research progresses on test-tube seedlings and test-tube corms of Amorphophallus conjac in China in the latest twenty-years .It analyses the main problems of the current study on tissue culture of Amorphophallus conjac.

Key words: Amorphophallus conjac; test-tube seedling; test-tube corms

魔芋因其块茎中含有大量的葡甘聚糖,而在食品、医药和化工中具有广泛应用,开发利用价值极高。随着魔芋加工业的发展,对魔芋原料的需求不断增加,带动了魔芋种植业的迅猛发展^[1,2]。在目前大面积推广种植中,生产上主要用块茎进行无性繁殖,不仅用种量大,繁殖系数低,生产成本高,且时间长,种芋储藏难,播种后易感病腐烂,长期的无性繁殖还造成品质退化,严重阻碍了生产的发展和新品种的推广^[3]。组织培养的快速繁殖技术可以有效的解决以上存在的问题。另外,利用组织培养的方法离体再生植株并建立高效的再生体系,是对植物进行遗传转化和原生质体操作等的前提条件。因此,魔芋组织培养的研究对对魔芋的种质资源创新和新品种的开发具有积极的意义。我国的魔芋组织培养技术始于20世纪80年代中期^[4,5],20a来魔芋的组织培养技术取得了不少研究成果,其间经历了组培苗、试管芋等几个阶段,本文将简要介绍一下我国在这方面的研究进展。

1 组培苗生产技术

魔芋组织培养技术是将魔芋组织或组织切块放在离体的人工模拟植物体内生理环境的无菌条件下,让其生长发育并长成一完整植株的方法。

1.1 组培苗的形态发生途径研究 形态发生就是生物个体发育或再生过程中,机体及其器官形态结构的形成过程。植物组织或细胞离体培养中的形态发生有器官发生和体细胞胚胎发生两种途径形成再生植株,都是以细胞分化为基础的,它包含了组织和器官的形成,形态发生的最后结果是形成一个发育成熟的完整植株。

1.1.1 器官发生途径 器官发生途径利用器官发生途径形成再生植株包含两种方式,一种是在外植体上直接分化出芽;另一种是在外植体上先形成愈伤组织,再进行芽的分化,然后再把芽转到生根培养基上,从而长成正常植株。(1)器官发生间接途径 我国学者以花魔芋、白魔芋、甜魔芋、南蛇棒魔芋、桂平魔芋、滇魔芋、勐海魔芋等品种为试验材料,以外植体球茎、根状茎、顶芽鳞片、拟块茎鳞片、顶芽、侧芽、幼嫩叶柄、球茎皮上芽苞等都成功诱导出了愈伤组织及组培苗^[8-25]。组培苗移栽及田间管理技术也得到大量研究^[3,26,27]。黄丹枫^[6,7]研究表明,愈伤组织产生不定芽是魔芋植株再生的最主要途径,在适宜的培养基上再生植株率可达100%,是魔芋组织培养的主要成苗方式。(2)器官发生直接途径。谢庆华^[25]以花魔芋主芽和皮上芽苞为外植体,直接诱导分化成不定芽。苏承刚,张兴国^[9,19]对桂平魔芋和南蛇棒魔芋的器官直接发生途径也进行了研究,就是利用球茎顶芽经消毒后,纵切成2~4块直接放入分化培养基中,分化出丛生芽,再诱导出根形成完整的植株,大约要1个月左右,相对于愈伤诱导途径快1个月,同时不易产生变异,因此,可作为快繁的首选方法。

1.1.2 体细胞胚胎途径 黄丹枫^[6]在魔芋的继代培养过程中,从愈伤组织表面或芽苞片外植体切口处能轻易分离到粒状突起物,它比周围的组织质地更致密,色淡黄,在显微镜下观察为体细胞胚。魔芋体细胞胚的发育有别于其他植物,球形胚形成后一端逐渐突起呈近梨形,之后显现芽苞片的发育;与魔芋合子胚的发育相似,胚原细胞第一次分裂形成二细胞原胚后便进行无序分裂,最后形成珠

作者简介:宋志红(1975~),女,硕士,河南滑县人,助理研究员,从事植物生物技术研究。

*为通讯作者

收稿日期:2008-09-08

芽结构。魔芋体细胞胚与不定芽有显著差别,魔芋的不定芽与愈伤组织不能分离,再生植株栽入田间时都不能切除,否则不能成活;而体细胞胚与愈伤组织极易分离,植入无激素培养基后植株再生率为70%。Hu等(2005)发现在MS+4.0mg/L NAA+1.0mg/L BA 培养基上反复继代培养的花魔芋,其愈伤组织偶尔也可形成体细胞胚,但未发现植株形成。超微观察表明,这些体胚在结构上均存在不同程度的畸形。在现有实验条件下魔芋体细胞胚的发生频率较低,作为良种繁育的方法尚需进一步研究魔芋体细胞胚大量发生的培养条件。

1.1.3 茎尖培养 茎尖培养又叫分生组织培养,是许多植物脱除病毒的重要手段。病毒对魔芋产量的影响虽然不及马铃薯,但由于魔芋长期无性繁殖,仍积累有多种病毒,试验表明,脱毒种芋仍可大幅度提高产量。云南省农业科学院生物技术研究所王玲、李勇军、房亚南^[35,37]等报道了脱毒魔芋组织培养原种生产技术:萌发1cm左右花魔芋的顶芽,采用热处理茎尖分生组织培养方法,经过丛芽诱导扩繁,培育出脱病脱毒魔芋良种的再生植株。当生根组培苗的根长至0.5~2cm时,即可出瓶,洗净根部培养基,移栽至温网室内。组培苗收获时可得到平均50~60g的种芋,最大的可达到200g左右,芋鞭2~3个。脱病脱毒魔芋组培苗有3~11片叶,有的一棵魔芋可同时得到2~5个种芋。组织培养的试管苗,必须经过严格检测后,才能确认为脱毒试管苗,魔芋的病毒检测方法尚无报道,其检测手段和技术还不完善,还需进一步研究^[28]。

王玲、李勇军^[29]等研究了魔芋的茎尖培养技术,提出了“一步成苗”技术:在常规培养条件下(培养温度25℃,每日照8h,光强1500lx)剥取外植体顶端生长点接种在培养基上,经约28d的培养就一步成苗(诱导、分化、生根培养在同一培养基上),并且成苗率非常高(95%)。整个培养过程仅只38d,缩短了培养周期、简化了培养程序,提高了出苗率,降低了生产成本,为魔芋组培技术产业化的运作提供了保证。徐刚、王彩莲^[28]等也研究了魔芋的茎尖组织培养和植株的再生,利用魔芋的茎尖和幼芽由来的块茎组织不断增殖分化出芽,6个月后,由茎尖由来的块茎组织增殖率为334倍,由幼芽由来的块茎组织增殖率为576倍。这对魔芋离体培养研究中,选择带芽外植体,不经过愈伤途径直接形成植株,提高繁殖速度,减少遗传变异的发生,保持优良种性及获得无病毒种苗都具有非常重要的意义。

1.2 魔芋组培苗培养的理论研究及环境调控研究 黄丹枫提出,魔芋愈伤组织的细胞可分为近圆形薄壁细胞、拟分生组织细胞、长形细胞、管状分子细胞、衰败型细胞等5种;近圆形薄壁细胞是分化的主要形态;魔芋组织培养中细胞分化的顺序为:首先是IAA的吸收、生物合成和运输,然后启动RNA和DNA的生物合成,特定的RNA再诱导蛋白质的合成,建立细胞分化所必需的酶系统,最后表现为器官发生的形态建成。并首次提出异戊烯基嘌呤类(iPAs) CTK是决定魔芋细胞分化及器官发生的内源激素^[3,6,7]。魔芋不定

芽起源于愈伤组织中的胚性细胞或胚性细胞团,这些细胞或细胞团在分化培养过程中可直接形成芽原基(黄丹枫和刘佩瑛,1994)。Hu等(2005)利用组织切片技术对花魔芋植株再生过程进行了详细观察,发现不定芽主要起源于愈伤组织浅层或表层细胞。这些细胞体积较小,细胞质浓厚,核仁明显,内含物丰富,具有典型的胚性细胞特征,经分化培养形成拟分生组织团,拟分生组织团可直接发育成芽原基,进而形成植株。他们还发现魔芋组织培养中产生的不定芽属于外起源,因为位于愈伤组织深处的拟分生组织团在发育过程中受到周围细胞的挤压而不能正常生长,最后只形成一些畸形芽原基,而不能发育成植株。

魔芋组织培养中的环境调控研究:在魔芋组培的脱分化阶段,生长素是诱导魔芋脱分化产生愈伤组织的必需条件;培养基中细胞分裂素6-BA的浓度决定魔芋组织培养的成苗率,其浓度在0.5~4.0mg/L范围内均有利于不定芽的发生。生根培养基MS+NAA0.5mg/L+KT0.3mg/L有利于魔芋根系生长。脱分化过程中,pH应为6.2~6.6,而环境pH5.8有利于魔芋细胞的再分化。魔芋组织培养的适宜温度为23~27℃。魔芋能在较弱的光照条件下培养生长,愈伤组织形成、生长阶段光照强度为800~1000lx,不定芽分化阶段,光照强度为1200lx;遮光培养7d可有效控制刚接种外植体的褐变^[3]。陈永波^[24]研究了魔芋愈伤组织形成因素的影响力大小,为糖质量分数>盐质量分数>暗培养时间>pH值。糖质量分数以3%最佳,盐浓度以1/2MS或MS为好,暗培养7~21d,对愈伤组织生长影响不大,pH值在以上因素确定的条件下,以6.2最好。

2 试管芋生产技术

早在1987年,庄承纪、周建奎^[36]等对试管微球茎就有报道,魔芋试管苗在生根培养时,在培养基蒸发量大、培养基干燥的培养条件下,组培苗生根的同时块茎膨大,形成小球茎。并把它作为魔芋再生植株的一种特殊途径,但出现频率不高。随后几年,这一技术得到不断发展完善。柳俊等(2001)也发现多次继代的白魔芋愈伤组织容易形成拟球茎(试管芋),这种拟球茎即使不转入分化培养基也会在其顶端长出芽。2003年,云南省农业科学院生物技术研究所、西南农业大学、恩施州农科院魔芋研究所都建立了魔芋试管芋的快繁体系,云南和恩施并成功应用于工厂化的生产^[32,33,34,37]。2005年,云南师范大学谢庆华、张云峰^[30]等报道了苗段诱导微球茎和微球茎切块诱导再生微球茎的试管芋产生途径。诱导出了白魔芋、花魔芋、黄魔芋、红魔芋的试管微球茎,使初级诱导率(试管内诱导出的微球茎总数/接种外植体数)达到300万倍以上。因此,这一途径在魔芋快繁上很有前景。

Hu等(2005)对花魔芋拟球茎发生的组织细胞学进行了研究,结果发现,愈伤组织浅层的拟分生组织团除了可直接形成芽原基外,还可形成一种体积更大的中间球状组织,这种球状体突破愈伤组织表皮后形成拟球茎,然后在其顶部和基部分别形成芽和根,进而形成完整植株。胡建

斌等(2004)研究发现,魔芋组织培养中可形成不同类型的愈伤组织,但只有结构致密且表面呈瘤状的愈伤组织(Ⅲ型)才具有形成拟球茎(试管芋)的能力,其它类型的愈伤组织(I型和II型)则倾向于形成不定芽。为了明确这两种形态建成模式的调控机理,胡建斌利用高效液相色谱分别分析了这两种途径的愈伤组织中内源激素的含量,结果发现赤霉素(gibberellic acid, GA3)与茉莉酸(jasmonic acid, JA)的平衡是调控魔芋离体形态建成方式的主要因素,即GA3/JA值升高时,形态建成以不定芽途径为主,反之则以拟球茎途径为主。Hu等(2006)又通过激素配比实验发现,MS+0.5 mg/LNAA+2.0mg/LBA培养基最有利于拟球茎的形成,提高NAA与BA的比值会导致愈伤组织生长而不分化,降低其比值则会产生多芽或丛生芽。此外,他们还发现,高浓度蔗糖(4%~6%)和适当低温(22~25℃)均可促进拟球茎发育。王玲、马继琼、房亚南^[11]研究了魔芋试管芋的形成因素,研究表明,试管芋的形成与培养基的生长调节剂和培养的光、温条件有着密切的关系:细胞分裂素6-BA对试管芋的诱导有抑制作用。生长素NAA在试管芋的形成中起着“扳机”的作用,单独使用就能诱导出一定量的试管芋;而多效唑PP333在试管芋的诱导中对NAA的作用起着协同和增效的作用,促进试管芋形成、生长。两者之间最佳配比为NAA1mg/L+PP3331mg/L。光、温对试管芋的形成有着重要调控作用,这种调控作用又与其种性有关。温度低于30℃最有利于球茎生长发育。形成试管芋的最佳光温条件是:光照1 500~2 000 lx、温度25~30℃。

3 结论与展望

我国魔芋组织培养快繁技术经过20a的长足发展,试管苗和试管芋的生产技术已日趋成熟,并在生产上取得了应用。试管苗愈伤诱导途径机理及影响因素研究比较深入,可较好的指导试管苗的生产,但试管苗生产成本高、培养反应慢、增殖与分化率低等问题还需要解决。器官发生直接途径、体细胞胚途径和茎尖培养途径生产试管苗技术都还不成熟,需要加强研究以弥补愈伤诱导途径的不足。利用茎尖培养生产脱毒原原种的技术,虽然采用热处理茎尖分生组织的方法可以达到脱毒的目的,但其检测手段和技术还不完善,还需进一步研究。魔芋试管芋生产技术在近几年得到突破发展,与试管马铃薯相比,其发生机理和调控机制都要深入研究。

参考文献

- [1] 尉芹, 马希汉. 魔芋开发利用研究综述[J]. 西北林学院学报. 1998, (13): 62~67.
- [2] 王任翔, 薛跃规. 魔芋研究概况及开发前景[J]. 广西园艺. 2003, (1): 9~10.
- [3] 刘佩英主编. 魔芋学[M]. 中国农业出版社. 2004: 212~224.
- [4] 孔凡伦等. 白魔芋的组织培养和植株再生[J]. 植物生理学通讯. 1986 (1): 41
- [5] 张征兰, 黄连超, 金聿. 魔芋组织培养与植株再生的研究[J]. 华中农业大学学报. 1986, 5(3): 224~227
- [6] 黄丹枫, 刘佩英等. 魔芋再生植株形态发生途径的细胞组织学观察[J]. 上海农学院学报. 1994, 12(1): 25~30.
- [7] 黄丹枫, 庄天明, 甘晓兵等. 魔芋组织培养器官发生综合因子的数学分析[J]. 上海农学院学报. 1994, 12(4): 260~265.
- [8] 严华兵, 胡建斌, 柳俊. 白魔芋高效再生体系的建立及其抗生素敏感性研究[J]. 湖北农业科学. 2005, (4): 71~74.
- [9] 苏承刚, 张兴国, 张盛林. 桂平魔芋组织培养研究[J]. 西南农业大学学报. 2001, 23(3): 228~229.
- [10] 彭昌操. 花魔芋愈伤组织诱导研究[J]. 湖北民族学院学报(自然科学版). 2000, 18(3): 1~3.
- [11] 鲁红学, 胡桂香, 周炎等. 花魔芋组织培养初步研究[J]. 长江大学学报(自然科学版). 2005, 25(2): 52~54.
- [12] 柳俊, 谢从华, 余展深. 魔芋离体繁殖研究[J]. 华中农业大学学报. 2001, 20(3): 283~285.
- [13] 胡建斌, 柳俊, 严华兵等. 魔芋不同类型愈伤组织及分化能力研究[J]. 华中农业大学学报. 2004, 23(6): 654~658.
- [14] 顾玉成, 吴金平, 万进等. 魔芋不同外植体诱导比较实验[J]. 中南民族大学学报(自然科学版). 2004, 23(3): 17~19.
- [15] 邹华文, 张再君, 李翠花等. 魔芋愈伤组织诱导、分化及植株再生的初步研究[J]. 湖北农学院学报. 2004, 24(3): 199~201.
- [16] 吕世安, 沈艳芬, 黄元勋等. 魔芋组织培养及快繁技术研究[J]. 湖北民族学院学报(自然科学版) 2003, 21(2): 6~8.
- [17] 曾昭初, 罗鸿源, 葛菁华等. 魔芋组织培养技术研究初报[J]. 贵州农业科学. 1994, 5: 19~21.
- [18] 黄远新, 何凤发, 张盛林等. 魔芋组织培养与快繁技术研究[J]. 西南农业大学学报(自然科学版). 2003, 25(4): 309~312.
- [19] 苏承刚, 张兴国. 南蛇棒魔芋的组织培养与植株再生研究[J]. 西南农业大学学报(自然科学版). 2003, 25(5): 393~395.
- [20] 苏承刚, 张兴国. 甜魔芋愈伤组织诱导与植株再生研究[J]. 西南农业大学学报(自然科学版). 2004, 26(5): 601~602.
- [21] 周光来. 休眠期花魔芋植株再生外植体的筛选[J]. 湖北民族学院学报(自然科学版). 2005, 23(4): 375~377.
- [22] 马林, 张玲, 李卫锋. 影响魔芋愈伤组织形成的几个因素[J]. 广西植物. 2003, 23(6): 553~557.
- [23] 刘贵周, 谢世清, 赵庆云等. 优质魔芋组培快繁技术研究[J]. 云南农业大学学报. 2005, 20(6): 795~799
- [24] 陈永波, 赵清华, 滕建勋等. 正交试验优化花魔芋组织培养条件[J]. 氨基酸和生物资源. 2005, 27(2): 29~30.
- [25] 谢庆华, 吴毅歆, 谢世清等. 花魔芋不同外植体分化及生根条件研究[J]. 云南农业大学学报. 2004, 19(6): 696~699.
- [26] 吕世安, 沈艳芬, 黄元勋等. 魔芋组织培养及试管苗快繁原原种芋技术研究[J]. 湖北农业科学. 2003, 6: 68~70
- [27] 陈永波, 吕世安, 盛德贤等. 魔芋试管苗及种芋工厂化生产栽培技术研究[J]. 氨基酸和生物资源. 2004, 26(2): 17~19.
- [28] 徐刚, 王彩莲, 慎玫等. 魔芋茎尖组织培养和植株再生研究[J]. 生物技术. 1994, 4(1): 19~2
- [29] 王玲, 李勇军, 房亚南等. 魔芋组织培养的一步成苗技术研究. 西南农业学报. 2004, 17(5): 636~638. (下转90页)

水稻细菌性条斑病大发生的原因及防治对策

颜明利

(凤阳县红心镇农业技术推广站,安徽凤阳233100)

摘要:本文介绍了水稻细菌性条斑病的发病症状及大发生的原因,并提出防治对策时间及所用优良药剂。

关键词:水稻;细菌性条斑病;防治时间;防治药剂

中图分类号S435.111

文献标识码B

文章编号1007-7731(2008)20-090-01

水稻细菌性条斑病是国内植物重点检疫对象,分布于两广、福建、浙江、湖南、湖北安徽等省区。近年来,随着一些新品种和优质稻的大面积推广应用,该病的发生日趋广泛和严重。水稻发病后,轻者减产20%~30%,严重的造成绝收。该病已经成为制约全县水稻优质高产的重要障碍。

1 水稻细菌性条斑病发生概况

1.1 发生主要特点 今年该病主要表现为以下几点。

1.1.1 发病早,历期长 7月3日,在田间发现病株;7月20日,老病区田间普遍零星发生;8月4日,达到发病高峰。此次显症高峰来势凶猛,造成危害重,损失大,老病区远看如火烧一般。

1.1.2 品种间差异大 丰两优香1号、新强8号、两优6326、杨两优6号等长粒稻发病早,发病重。丰优126、冈优系列等几乎看不到病株。

1.1.3 发病范围广,面积大 全县所有长粒稻地区都有不同程度发生,而且连片发生田块比较多。

1.2 发生程度 老病区呈大流行态势,重到大发生。其他地区中等偏重发生。

2 细菌性条斑病重发的原因分析

造成该病重发的主要原因有以下几点。

2.1 大面积种植的主导品种为感病品种 我县大力推广优质稻,以主栽丰两优香1号,两优6236,晚稻119,杨两优6号等感病品种为主,抗病性强的团粒稻面积较小。

2.2 气候条件不利 今年气候条件特殊,进入7月份以来,全县降雨量增多,梅雨期长,雨量多而集中,气温28~32℃。利于病菌的繁殖和侵染。台风暴雨多造成叶片大量伤口,更利于病菌侵入危害,病害易流行。

2.3 栽培管理不当 长期深灌,漫灌;偏施、迟施氮肥的田块发病重。

2.4 田间菌源量大 部分地区为细菌性条斑病老病区,大量菌源存在于土壤中,遇到适宜的温度、湿度,细菌容易繁殖。

3 防治对策

水稻细菌性条斑病传播发展较快,提前预防,效果好于发生再治疗。针对该病发生规律和近年来总结经验,提出以下防治对策。

3.1 加强检疫 尽量避免从病区调种,引进品种要加强检疫。

3.2 选用抗病耐病品种 老病区以种植团粒稻为主,其他地区尽量选用抗病性强的品种,如天协6号,华安501等。

3.3 培育无病壮秧 选用无病种子,避免用病稻草催芽,盖秧和扎把,严防深水淹苗。3叶后和移栽前3~5d各喷1次药剂。

3.4 加强肥水管理 浅水勤灌,适时烤田,严防深灌,串灌和漫灌。施足基肥,早施返青肥,避免过迟,过量施用氮肥。

3.5 药剂防治 水稻进入感病生育期后,要及时调查,对有零星发病中心的田块,应及时喷药封锁发病中心,防止扩大蔓延;发病中心多的田块以及出现发病中心的感病品种要全面防治。暴风雨及洪涝过后应立即喷药。根据多年防治经验,可采用以下几种方法进行防治。

(1)每667m²用20%龙克菌100~120g加磷酸二氢钾100g对水40kg均匀喷雾。(2)每667m²用20%噻唑唑100g加水40kg喷雾。(3)每667m²用5%菌毒清100ml加水40kg喷雾。

(王霄编,张桂林校)

作者简介:颜明利(1968.11~),女,安徽凤阳人,本科,农艺师,从事农技推广工作。

收稿日期:2008-09-02

(上接59页)

[30]谢庆华,张云峰,严胜柒等.不同外植体诱导魔芋微球茎的比较研究[J].云南农业大学学报.2005,20(3):350~355.

[31]王玲,马继琼,房亚南等.魔芋试管芋形成的因素探讨[J].西南农业学报.2006,19(2):280~282.

[32]云南省农业科学院生物技术研究所.魔芋试管芋的繁育技术[J].中国专利[P].CN 1493186.

[33]西南农业大学.魔芋试管芋快速繁殖方法[J].中国专利[P].CN 1422526.

[34]魔芋试管种芋工厂化生产技术,西南农业大学科技咨询公司.成果库.

[35]云南省农科院生物技术研究所富源县魔芋研究所富源县经作,魔芋组培苗种植及管理技术.

[36]庄承纪,周建奎.魔芋属植物愈伤组织的诱导和植株再生的研究[J].云南植物研究.1987,9(3):339~347

[37]陈永波.魔芋的组织培养和工厂化生产技术[J].氨基酸和生物资源.2005,27(4):8~10.

(徐爱民编,郑丹丹校)