

福农 39 甘蔗健康种苗繁育

黄 勇,张 铁,刘 伟,杨绪旺

(文山学院,云南 文山 663000)

摘要:以福农 39 甘蔗为材料,通过预处理、茎尖培养、增殖培养、生根培养、病毒检测、炼苗移栽,以期建立健康种苗繁育体系。结果表明:经 50 ℃ 水浴 15 min,在温度为 35 ℃、相对湿度为 80%、光照强度为 1 000 lx 的培养箱中培养约 7 d,甘蔗茎段侧芽萌发率达 97%。在 MS+2,4-D $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +6-BA $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +AC $5.0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 培养基中,茎尖均生长良好。在 MS+6-BA $1.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +KT $0.5\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 继代培养基中,增殖系数为 13.6。在 1/2MS+NAA $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 生根培养基中,生根率达 100%。经检测,组培苗无花叶病和宿根矮化病发生。炼苗移栽后存活率达到 86%。由此,建立起福农 39 甘蔗健康种苗繁育体系。

关键词:甘蔗福农 39;健康种苗;种苗繁育体系

中图分类号:S511 **文献标识码:**A **文章编号:**1002-2767(2016)06-0004-03 DOI:10.11942/j.issn1002-2767.2016.06.0004

甘蔗(*Saccharum officinarum* Linn)是禾本科(Gramineae)甘蔗属(*Saccharum*)糖料植物,我国台湾、福建、广东、海南、广西、四川、云南等南方热带地区广泛种植^[1]。由于长年无性繁殖留种,病毒病危害严重,甘蔗品种退化、产量下降、品质降低。茎尖培养和热处理是脱毒的两种有效方式。二者结合可以除去花叶病、宿根矮化病等常规方法难以防治的病害,生产甘蔗健康种苗^[2-7]。巴西、古巴等世界甘蔗生产大国对此非常重视,蔗区均使用健康种苗。如巴西使用健康种苗,甘蔗产量提高 20%~40%,含糖量提高 0.5%以上^[8],巩固了世界第一甘蔗生产大国的地位。可见,健康种苗对甘蔗产业发展至关重要。我国甘蔗生产仅少数地区使用健康种苗,且品种较少,主要为脱毒新台糖 22。福农 39 健康种苗的研究工作鲜见报道。本试验通过对福农 39 进行预处理、茎尖培养、增殖培养、生根培养、病毒检测、炼苗移栽,以期建立福农 39 健康种苗繁育体系,丰富甘蔗健康种苗生物多样性。

1 材料与方法

1.1 材料

将福农 39 切成茎段,使每节茎段中部带一个芽点(见图 1)。



图 1 甘蔗发芽试验茎段切法

Fig. 1 Cut stem method in germination test of sugarcane

1.2 方法

1.2.1 温汤浸种 将甘蔗茎段放入 50 ℃ 水浴锅中进行温汤浸种 15 min。

1.2.2 恒温培养 在培养箱内放置一方盆,方盆内平铺一层湿毛巾,甘蔗茎段芽点朝上放置(茎段两端可蘸取杀菌剂防止腐烂变质),其上再平铺一层湿毛巾。在温度为 35 ℃、相对湿度为 80%、光照强度为 1 000 lx 的培养箱中培养,观察侧芽萌发情况。

1.2.3 消毒处理 侧芽萌发后揭除上层湿毛巾,待侧芽长至约 2 cm 时,将侧芽连同少量茎切下进行消毒。用 75% 酒精消毒 1 min 后无菌水冲洗 3 次,0.1% HgCl₂ 消毒 25 min 后无菌水冲洗 5 次。

1.2.4 茎尖培养 剥取茎尖接种到茎尖培养基上。茎尖培养基以 MS 为基本培养基,附加

收稿日期:2016-04-13

基金项目:云南省教育厅科学研究基金资助项目(2012 Y269);文山学院科学研究基金资助项目(13WSY06);文山州科技计划资助项目

第一作者简介:黄勇(1981-),男,四川省泸州市人,硕士,讲师,从事植物资源开发研究。E-mail: huangyong-1159@163.com。

AC5.0 g·L⁻¹,植物激素设置 2 因素、4 水平,共 16 个处理(见表 1),每个处理接种 40 个外植体。培养在温度为 25 ℃,光照强度为 2 000 lx 条件下,观察茎尖生长情况。

表 1 茎尖培养植物激素配比

Table 1 The ratio of plant hormone in stem tip culture

编号 No.	6-BA 浓度/(mg·L ⁻¹) Concentration of 6-BA	2,4-D 浓度/(mg·L ⁻¹) Concentration of 2,4-D
1	0.5	0.5
2	0.5	1.0
3	0.5	2.0
4	0.5	4.0
5	1.0	0.5
6	1.0	1.0
7	1.0	2.0
8	1.0	4.0
9	2.0	0.5
10	2.0	1.0
11	2.0	2.0
12	2.0	4.0
13	4.0	0.5
14	4.0	1.0
15	4.0	2.0
16	4.0	4.0

1.2.5 继代培养 待茎尖生长到 2~3 cm 时,将其转入继代培养基中培养。继代培养基以 MS 为基本培养基,植物激素设置 2 因素、4 水平,共 16 个处理(见表 2),每个处理接种 40 个外植体。培养在温度为 28 ℃,光照强度为 3 000 lx 条件下,观察生长情况。试验数据采用 SPSS 软件进行统计分析。

1.2.6 生根培养 将无根苗转入生根培养基中培养。生根培养基以 1/2MS 为基本培养基,添加 NAA0.5、1.0、2.0、4.0 mg·L⁻¹,培养在温度为 25 ℃,光照强度为 2 000 lx 条件下,观察生根情况。

1.2.7 病害检测 参照李利君等(2000)^[9]和 Clyn James(1997)^[10]的方法对福农 39 甘蔗组培苗进行花叶病和宿根矮化病检测。

1.2.8 炼苗移栽 将健康种苗移到室外,阴凉处放置 1~2 d。取出健康种苗,洗净根部培养基,经杀菌剂消毒后,种植在温室内。初期放置遮阳网

防暴晒,但应逐步撤除。加强温度、水分、营养管理,使其逐渐适应外界自然条件。

表 2 继代培养植物激素配比

Table 2 The ratio of plant hormone in successive transfer culture

编号 No.	6-BA 浓度/(mg·L ⁻¹) Concentration of 6-BA	KT 浓度/(mg·L ⁻¹) Concentration of KT
1	1.0	0.1
2	1.0	0.2
3	1.0	0.5
4	1.0	1.0
5	1.5	0.1
6	1.5	0.2
7	1.5	0.5
8	1.5	1.0
9	2.0	0.1
10	2.0	0.2
11	2.0	0.5
12	2.0	1.0
13	2.5	0.1
14	2.5	0.2
15	2.5	0.5
16	2.5	1.0

2 结果与分析

2.1 侧芽萌发

经温汤浸种、恒温培养,福农 39 甘蔗侧芽萌发率达 97%,7 d 左右生长至约 2 cm。

2.2 茎尖生长

在不同的培养基中,茎尖生长情况不一。其中,在 4 号茎尖培养基(MS+2,4-D1.0 mg·L⁻¹+6-BA1.0 mg·L⁻¹+AC5.0 g·L⁻¹)中,茎尖生长速度快、致畸率低,是适宜的茎尖培养基。而当 2,4-D 和 6-BA 浓度过低时茎尖生长速度慢甚至不生长;浓度过高时茎尖容易畸形或形成大量愈伤组织,茎尖不能正常生长。

2.3 无根苗增殖

由表 3 和图 2 可以看出,在 7 号培养基,即在 MS+6-BA1.5 mg·L⁻¹+KT0.5 mg·L⁻¹继代培养基中,增殖系数最高,达到 13.6,且显著高于其它处理。由此,筛选出福农 39 甘蔗最适宜的增殖培养基为 MS+6-BA1.5 mg·L⁻¹+KT0.5 mg·L⁻¹。

表 3 继代培养植物繁殖系数

Table 3 Multiplication rate of in successive transfer culture

编号 No.	增殖系数 Multiplication rate
1	6.067 j
2	7.033 hi
3	7.833 fg
4	7.467 gh
5	9.133 d
6	10.067 b
7	13.633 a
8	9.567 c
9	7.033 hi
10	8.133 ef
11	8.867 d
12	8.333 e
13	5.233 k
14	5.567 k
15	6.967 i
16	6.000 j



图 2 甘蔗增殖效果

Fig.2 Multiplication culture effect of sugarcane

2.4 生根情况

从图 3 可以看出,当在 1/2MS + NAA 1.0 mg·L⁻¹ 的生根培养基中,生根率最高,达 100%。

2.5 病害检测结果

经检测,组培苗脱去了花叶病和宿根矮化病,从而繁育出福农 39 甘蔗健康种苗。而在田间是否具有抗花叶病和宿根矮化病特性有待进一步的大田试验。

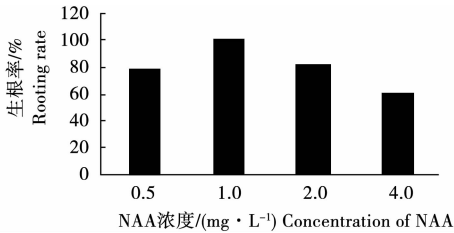


图 3 甘蔗生根情况

Fig.3 Rooting situation of sugarcane

2.6 移栽存活率

经炼苗移栽,福农 39 甘蔗健康种苗生长正常,存活率达 86%。

3 结论

生产上使用甘蔗健康种苗已成为世界甘蔗生产大国的一种趋势,而我国仅部分地区使用健康种苗,且品种较为单一,不利于我国甘蔗产业可持续发展。本试验通过材料预处理、茎尖培养、增殖培养、生根培养等,建立起福农 39 甘蔗健康种苗繁育体系,丰富了甘蔗健康种苗多样性。至于在实际栽培生产过程中是否能保持花叶病和宿根矮化病抗性,以及是否能发挥高产、高糖的优良性状,则有待于大田试验做进一步的研究。

参考文献:

[1] 吴征镒. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社, 1997, 10(2):41.

[2] Leu L S. Freeing sugarcane from mosaic virus by apical meristem culture and tissue culture[R]. Report Taiwan Sugar Experiment Station,1972,57: 57-63.

[3] Hendre R A, Mascarenhas A F, Nadgir A L, et al. Growth of mosaic virus- free sugarcane plants from apical meristems[R]. Indian Pathology,1975,28: 185-198.

[4] Waterworth R, Kahn R P. Thermotherapy and aseptic bud culture of sugarcane to facilitate the exchange of germplasm and passage through quarantine[R]. Plant Disease Report, 1978,62: 772-776.

[5] Leu L S. Apical meristem culture and redifferentiation of callus masses to free some sugarcane systemic disease[J]. Plant Protection Bulletin,1978,20: 77-82.

[6] 杨本鹏, 张树珍, 杨学, 等. 甘蔗健康种苗培育体系的建立[J]. 热带作物学报, 2006(4): 74-77.

[7] 游建华, 樊保宁, 韦昌联. 甘蔗脱毒健康种苗生产及繁殖技术[J]. 中国种业, 2008(9): 50.

[8] Lee T S G. Micropropagation of sugarcane (Saccharum spp.)[J]. Plant cell, tissue and organ culture, 1991, 10: 47-55.

[9] 李利君, 周仲驹, 谢联辉. 利用斑点杂交法和 RT- PCR 技术检测甘蔗花叶病毒[J]. 福建农业大学学报, 2000, 29(3): 342-345.

[10] Clyn James. A review of ratoon stunting disease[J]. Sugar Cane, 1997, 4: 9-14.