

# 荔浦芋脱毒苗诱导条件的优化

李景云

(广西中医药大学, 广西 南宁 530001)

**摘要:**为了提高荔浦芋的品质和产量,采用热处理和茎尖培养相结合的方法,研究诱导荔浦芋脱毒苗的最佳组合条件。结果表明:荔浦芋无根苗置于 37.8℃ 的恒温培养箱中处理 15 d,然后剥取 0.5~0.6 mm 的茎尖,在 MS+3%蔗糖+0.7%琼脂+0.5 mg·L<sup>-1</sup>6-BA 和 0.1 mg·L<sup>-1</sup>NAA 的培养基上培育成苗,可有效去除荔浦芋的芋花叶病毒。

**关键词:**荔浦芋;芋花叶病毒;脱毒;热处理;茎尖培养

**中图分类号:**S632.3

**文献标识码:**A

**文章编号:**1002-2767(2013)11-0015-02

荔浦芋,天南星科芋属,是槟榔芋(*Colocasia esculenta* L. Schott)的著名品种,受广西荔浦特有的土壤质地、环境小气候等自然条件影响,形成了独特的品质<sup>[1]</sup>。荔浦芋营养丰富,既可食用也可药用,有较高的开发利用价值。常规栽培用芋的球茎做种,生长中长期的无性繁殖使病毒在芋植株体内积累,病毒危害逐年加重,植株衰退,造成产量下降、品质变劣<sup>[2]</sup>,严重影响芋的生产销售及种质资源的保存。因此,采用热处理和茎尖培养<sup>[3]</sup>相结合的方法诱导脱毒苗,探讨热处理和茎尖培养的最佳组合条件,以期荔浦芋脱毒苗的生产提供理论依据和技术支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

供试材料为广西壮族自治区荔浦县荔城镇金雷种植区、新坪桂东种植区及马岭镇小青山种植区的芋生产种,移栽至广西师范大学生物园,在细胞工程实验室培育成无根苗。

### 1.2 方法

**1.2.1 热处理** 将无根苗接种到 MS+3%蔗糖+4 mg·L<sup>-1</sup>6-BA+0.05 mg·L<sup>-1</sup>NAA 的液体培养基中,放置于 38.7℃ 恒温培养箱中,每天给予 14 h 的光照。设置 7~22 d 的热处理样本。

**1.2.2 茎尖的分离** 将已经热处理后仍然存活的无根苗在体视显微镜下剥取顶端不同长度的分生组织,接入培养基中。

**1.2.3 探求最佳激素配比** 以热处理 15 d,大小

0.5~0.6 mm 的茎尖为材料,选择 11 种培养基进行茎尖诱导培养。以 MS+3%蔗糖+0.7%琼脂的培养基为基础,添加不同浓度的 6-BA 和 NAA,30 d 后对茎尖苗的生长情况进行观察。

**1.2.4 病毒的检测** 将未经热处理和茎尖培养的组培苗作为对照,以负染法<sup>[3]</sup>在电镜下检测荔浦芋花叶病毒的脱毒效果。

## 2 结果与分析

### 2.1 热处理对无根苗存活率的影响

随着处理时间的变化,芋苗的存活情况有所改变(见表 1)。

表 1 热处理对存活率的影响

Table 1 Effect of heat treatment on survival rate

| 处理时间/d<br>Heat treatment<br>time | 处理苗数/个<br>Treatment<br>number | 存活苗数/个<br>Survival<br>number | 存活率/%<br>Survival rate |
|----------------------------------|-------------------------------|------------------------------|------------------------|
| 7                                | 10                            | 10                           | 100                    |
| 10                               | 10                            | 10                           | 100                    |
| 15                               | 16                            | 13                           | 81                     |
| 20                               | 21                            | 7                            | 33                     |
| 22                               | 20                            | 2                            | 10                     |

经计算,表 1 中的  $\chi^2 = 41.33$ 。查  $\chi^2$  值表,  $\chi_{0.005(4)}^2 = 14.86 < 41.33$ 。经  $\chi^2$  检验  $P < 0.005$ ,不同时间的热处理对苗的存活率有影响。在 38.7℃ 恒温箱中,处理 7 或 10 d 苗全部存活,15 d 有较高存活率,20 d 以后存活率显著下降。

结合脱毒效果,7~10 d 处理时间过短,苗的脱毒效果差,15 d 仍然有较高存活率,选定 15 d 为最佳处理天数。

### 2.2 茎尖大小与存活率的关系

从表 2 看出,茎尖小于 0.4 mm,其存活率

收稿日期:2013-07-12

作者简介:李景云(1977-),女,广西壮族自治区桂林市人,硕士,讲师,从事遗传学研究。E-mail:327478414@qq.com。

低,大于 0.5 mm 的情况下,剥离、转接的速度较快,存活率上升。经计算,表 2 的  $\chi^2=89.43$ 。查  $\chi^2$  值表,  $\chi_{0.005(5)}^2=16.75<89.43$ 。经  $\chi^2$  检验  $P<$

表 2 茎尖大小对存活率的影响

Table 2 Effect of shoot-tip size on survival rate

| 茎尖大小/mm<br>Shoot-tip size | 处理苗数/个<br>Treatment<br>number | 存活苗数/个<br>Survival<br>number | 存活率/%<br>Survival rate |
|---------------------------|-------------------------------|------------------------------|------------------------|
| 0.1~0.2                   | 17                            | 0                            | 0                      |
| 0.3                       | 10                            | 3                            | 30                     |
| 0.4                       | 15                            | 6                            | 40                     |
| 0.5                       | 35                            | 21                           | 60                     |
| 0.6                       | 30                            | 20                           | 67                     |
| 0.7~1.0                   | 81                            | 81                           | 100                    |

表 3 6-BA 和 NAA 对茎尖外植体分化的影响

Table 3 Effect of 6-BA and NAA on shoot-tip differentiation

| 培养基编号<br>No. | 6-BA/mg·L <sup>-1</sup> | NAA/mg·L <sup>-1</sup> | 接种数/个<br>Treatment number | 存活数/个<br>Survival number | 存活率/%<br>Survival rate |
|--------------|-------------------------|------------------------|---------------------------|--------------------------|------------------------|
| 1            | 0.2                     | 0.02                   | 12                        | 2                        | 16.67                  |
| 2            | 0.5                     | 0.1                    | 12                        | 10                       | 83.33                  |
| 3            | 0.5                     | 0.3                    | 11                        | 3                        | 27.27                  |
| 4            | 0.5                     | 0.5                    | 18                        | 14                       | 77.78                  |
| 5            | 1.0                     | 0.1                    | 11                        | 5                        | 45.45                  |
| 6            | 1.0                     | 0.3                    | 12                        | 4                        | 33.33                  |
| 7            | 1.0                     | 0.5                    | 12                        | 5                        | 41.67                  |
| 8            | 2.0                     | 0.1                    | 10                        | 8                        | 80.00                  |
| 9            | 2.0                     | 0.3                    | 12                        | 9                        | 75.00                  |
| 10           | 2.0                     | 0.5                    | 17                        | 11                       | 64.71                  |
| 11           | 5.0                     | 0.5                    | 10                        | 4                        | 40.00                  |

#### 2.4 病毒检测

以负染法<sup>[3]</sup>在电镜下检测荔浦芋芋花叶病毒的脱毒效果,结果表明,热处理和茎尖培养相结合(热处理 15 d,茎尖大小 0.6 mm)去除了荔浦芋的芋花叶病毒。

### 3 结论与讨论

荔浦芋无根苗置于 37.8℃ 的恒温培养箱中处理 15 d,然后剥取 0.5~0.6 mm 的茎尖,在 MS+3%蔗糖+0.7%琼脂+6-BA 0.5 mg·L<sup>-1</sup>和 NAA 0.1 mg·L<sup>-1</sup>的培养基上培育成苗,经电镜检测,可有效去除荔浦芋的芋花叶病毒。

该试验通过单因素试验探讨了荔浦芋脱毒苗的优化条件,并确定了最优组合。后续的试验中

0.005,不同大小的茎尖对苗的存活率有影响,茎尖存活率与其大小有密切关系。

剥取的茎尖越长,苗的脱毒效果越差。从存活率和脱毒效果两方面考虑,选定热处理 15 d 后剥取 0.5~0.6 mm 的茎尖为宜。

#### 2.3 激素不同浓度对比对茎尖培养的影响

经计算,表 3 的  $\chi^2=27.74$ 。查  $\chi^2$  值表,  $\chi_{0.005(10)}^2=25.19<27.74$ 。经  $\chi^2$  检验  $P<0.005$ ,不同浓度 6-BA 和 NAA 对茎尖外植体存活率有影响。从表 3 可看出,以 2 号培养基即 6-BA 0.5 mg·L<sup>-1</sup>和 NAA 0.1 mg·L<sup>-1</sup>为最佳组合。该配比茎尖存活率最高,达 83.33%,基部逐渐增大,转绿快,能伸长呈小芽状。该配比所需激素较少,可降低试验成本,减少激素对培养材料的影响。

还可进行最优组合的验证试验分析,以期找到最适宜的培育条件。

随着芋花叶病毒检测方法的不断完善<sup>[4-5]</sup>,可以在培育出脱毒苗后采用多种方法检测,以期得到更优、更可靠的芋脱毒苗。

由于培育得到的脱毒苗在田间栽培后可能再次感染花叶病毒,因此,建立脱毒苗的种苗基地刻不容缓。

#### 参考文献:

- [1] 高巨鹏,何小兰,廖首发,等.荔浦芋生产肥力主因子分析[J].土壤通报,2012,43(1):98-101.
- [2] 王彦芬,Syeda Amber Kazmi,曲林宁,等.芋病毒病田间调查及毒氟磷对芋病毒病的防治效果[J].长江蔬菜,2012(16):108-110.