



张微,刘卫平,李志新,等.不同马铃薯品种茎尖脱毒与成苗试验[J].黑龙江农业科学,2020(8):52-54.

不同马铃薯品种茎尖脱毒与成苗试验

张 微,刘卫平,李志新,赵 雪,付春江

(黑龙江省农业科学院 克山分院,黑龙江 齐齐哈尔 161005)

摘要:为促进马铃薯茎尖脱毒技术推广应用,以尤金、克新 13、早大白、东农 303、中薯 5 号和延薯 4 号 6 种马铃薯茎尖分生组织为试验材料,研究不同品种的马铃薯茎尖分生组织脱毒苗的成活情况。结果表明:尤金的成苗率可到达 55.0%,克新 13 的成苗率为 33.3%,早大白的成苗率仅为 31.3%,东农 303 的成苗率为 54.5%,中薯 5 号的成苗率为 40.0%,延薯 4 号的成苗率可到达 60.0%。表明不同品种马铃薯茎尖脱毒与成苗效果存在差异。经过酶联免疫吸附法对 6 个品种茎尖剥离后的组培苗进行病毒检测,结果表明,共有 52 份材料不含有 6 种主要病毒,能够应用于马铃薯的脱毒种薯生产。检测结果还表明在脱毒苗中 PVS 的含有率最高,应提高脱除马铃薯 S 病毒的技术水平。

关键词:马铃薯;茎尖脱毒;酶联免疫;病毒检测

马铃薯(*Solanum tuberosum* L.)是世界四大粮食作物之一,除了一般食用,还可用作饲料以及食品加工等。既是粮食作物也是经济作物,具有很大的发展空间^[1]。然而在马铃薯生长过程中,因感染病毒会出现退化现象,严重影响马铃薯产量。马铃薯生产中病毒病一旦发生,没有很好的

防治办法。解决这一问题的最有效办法是采用茎尖脱毒技术脱除已侵染到块茎中的病毒,使之恢复原有品种的生长特性^[2]。本文对尤金、克新 13、早大白、东农 303、中薯 5 号和延薯 4 号 6 种马铃薯茎尖进行脱毒研究,进而比较不同品种马铃薯脱毒与成苗效果的差异。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为目前黑龙江省内主栽培品种:尤金、早大白、克新 13、东农 303、中薯 5 号和延薯 4 号。6 种材料经剥离茎尖,扩繁后每个品种取 15 份,共 90 份材料,利用酶联免疫吸附法检测病毒情况。

收稿日期:2020-04-08

基金项目:黑龙江省现代农业马铃薯产业技术协同创新体系项目(HNWJZTX201701)。

第一作者:张微(1988-),女,硕士,助理研究员,从事马铃薯脱毒快繁与病毒检测技术研究。E-mail:zw13936823026@126.com。

通信作者:刘卫平(1965-),女,硕士,研究员,从事马铃薯病害防控技术研究。E-mail:199382good@163.com。

Effects of Biochar on Soybean Root Rot Control and Plant Growth

LIU Chun-lai, YANG Fan, WANG Shuang, LIU Liang, JIANG Xi-feng, LI Xin-min

(Plant Protection Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences/ Scientific Observing and Experimental Station of Crop Pest in Harbin, Ministry of Agriculture, Harbin 150086, China)

Abstract: In order to explore the influence of biochar produced from different feedstocks on its ability to suppress the soilborne pathogen and promoting effect on crops, four kinds of biochar were tested for their suppressive ability against *Fusarium oxysporum* and soybean growth promotion at concentrations of 2% by pot test method. The results showed that the plant height, root length and dry weight of soybean plants were higher than CK inoculated pathogens by four kind of biochars addition. Compared with CK inoculated pathogens, each biochar treatment significantly reduced the disease index of soybean root rot disease, the biochar from bamboo B significantly reduced the infection of *Fusarium oxysporum*, and the control effects reached 77.71%. The biochar had a significant plant growth promoting action and had a good control effect on soybean root rot disease.

Keywords: biochar; *Fusarium oxysporum*; control effect; promoting effect

1.2 方法

1.2.1 种薯催芽 为了尽快进行茎尖剥离试验,需要对马铃薯进行处理,打破休眠状态,尽快出芽。使用 5 mg·L⁻¹ 的赤霉素浸泡马铃薯 10 min,置于室温下催芽,直到马铃薯幼芽长到 2~3 cm,未展叶前用于茎尖剥离^[3]。

1.2.2 培养基准备 分别将 0.1 mg·L⁻¹ NAA、0.1 mg·L⁻¹ 6-苄氨基腺嘌呤、0.1 mg·L⁻¹ 赤霉素、5% 的蔗糖和琼脂(8 g·L⁻¹)加在 MS 培养基中,将制备好的培养基倒入试管中,进行分装,每管约 15 mL,盖好试管塞,于高温高压灭菌锅中,121 ℃ 灭菌 15 min 后冷却备用。

1.2.3 种薯芽消毒 将已经培养好的不同马铃薯品种芽,用解剖刀切取块茎上的嫩芽(不可用老芽,因为老芽易分化出花芽)。取下的茎芽放在底部带孔的塑料瓶中,将塑料瓶置于自来水龙头下,流动水冲洗茎芽 2~3 h,再用 75% 的酒精中浸泡 30 s,然后用 0.1% 的升汞浸泡 5 min。最后用无菌水冲洗 5 次以上。

1.2.4 剥离茎尖和接种 茎尖剥离操作需要在超净台上进行,消毒后的茎尖置于解剖镜下,用注射器针头将外边的嫩叶片逐层剥掉,露出 1~2 个叶原基和生长锥后,换用另一把注射器针头,将生长锥(大小 0.1~0.3 mm,可带叶原基)取下,立即接种在试管内培养基上,每个试管只接种 1 个茎尖,并在试管上编号,以便成苗后检查。

1.2.5 茎尖培养 将接种好的茎尖试管置于温度 22 ℃,光照 2 000~3 000 lx,光照时间 16 h,黑暗时间 8 h 的培养箱中进行培养,一般情况下,茎尖在 20 d 后会形成肉眼可见较明显的愈伤组织,

然后会在叶原基下面形成根系。经过 3~5 个月可长成幼苗,再将幼苗进行切断扩繁,扩繁后的幼苗进行病毒检测。

1.2.6 酶联免疫吸附法对病毒检测 包被抗体:酶联板用 1:1 000 稀释倍数的病毒特异性抗体(IgG)包被。包被液由碳酸钠和碳酸氢钠组成,每个酶联板的小孔加入 150 μL 的包被液。酶联板放于 37 ℃ 温箱中温育 3~4 h^[4]。

洗板:用洗瓶在每个孔中加满洗涤液,3 min 后弃去洗涤液,重复洗涤 4 次^[4]。

加样:将待测样品称重编号后放入研钵中,在研钵内加入样品提取缓冲液,样品为 0.2 g,加入 1 mL 缓冲液。取每个样品的上清液 150 μL 加入酶联板的孔中。同时加入阴性对照及阳性对照和空白对照。放入 4 ℃ 冰箱内过夜^[4]。

加酶标:在洗涤后的酶联板中,加入 150 μL 酶标抗体,在 37 ℃ 下温育 3~4 h^[4]。

加底物液:在洗涤后的酶联板中加入 100 μL 的底物液,进行显色反应^[4]。

测 OD 值:将酶联板放入酶联免疫检测仪中测定 OD 值^[4]。

2 结果与分析

2.1 马铃薯茎尖分生组织成苗情况

在分化程度上,6 个品种的马铃薯茎尖分生组织有明显的区别(表 1)。尤金的成苗率可达 55.0%,克新 13 的成苗率为 33.3%,早大白的成苗率仅为 31.3%,东农 303 的成苗率为 54.5%,中薯 5 号的成苗率为 40.0%,延薯 4 号的成苗率可到达 60.0%。

表 1 茎尖分生组织成苗情况

Table 1 The growth of stem-tip meristem into seedlings

品种	接种数	染菌数	死亡数	成活率
Varieties	Number of inoculations	Number of viral infection	Number of deaths	Survival rate/%
尤金	20	4	9	55.0
克新 13	18	3	12	33.3
早大白	16	2	11	31.3
东农 303	22	5	10	54.5
中薯 5 号	15	1	9	40.0
延薯 4 号	10	1	6	60.0

2.2 马铃薯茎尖脱毒情况

酶联免疫吸附法病毒检测结果显示(表 2),尤金、克新 13 和延薯 4 号的带毒率均为 6.6%,

早大白的带毒率为 5.5%,东农 303 的带毒率为 9.9%,中薯 5 号的带毒率为 8.8%。整体来看,茎尖剥离后组培苗的 PVS 带毒率最高(19.8%);

其次是 PVY,带毒率为 13.3%;PLRV 的带毒率 PVA 和 PVM。偏低,为 9.9%。在组培苗中未检测到 PVX、

表 2 90 份材料的带毒率
Table 2 The virus rate of 90 materials (%)

品种 Varieties	PVX 的带毒率 The rate of PVX	PVS 的带毒率 The rate of PVS	PLRV 的带毒率 The rate of PLRV	PVY 的带毒率 The rate of PVY	PVA 的带毒率 The rate of PVA	PVM 的带毒率 The rate of PVM	合计 Total
尤金	0	2.2	1.1	3.3	0	0	6.6
克新 13	0	3.3	2.2	1.1	0	0	6.6
早大白	0	2.2	1.1	2.2	0	0	5.5
东农 303	0	5.5	2.2	2.2	0	0	9.9
中薯 5 号	0	3.3	2.2	3.3	0	0	8.8
延薯 4 号	0	3.3	1.1	2.2	0	0	6.6
合计	0	19.8	9.9	13.3	0	0	

3 结论

通过对不同品种马铃薯的茎尖剥离试验研究发现,不同的马铃薯品种脱毒效率是有差异的,延薯 4 号的脱毒苗成活率最高,可达 60%,而早大白的成活率最低,仅为 40%。经过酶联免疫吸附法检测病毒结果表明,东农 303 的带毒率最高,为 9.9%。而早大白的带毒率最低,为 5.5%。可以看出,早大白虽然成活率较低,但是脱毒效果是最好的。造成脱毒苗成活率低的原因可能是茎尖剥离的太小,导致不易存活,但是为了提高脱毒效

果,还是建议将剥离的茎尖剥得越小越好,从而提高病毒的脱毒效果,进而提高马铃薯脱毒苗的生产质量。

参考文献:

[1] 谢开云,屈冬玉,金黎平,等.中国马铃薯生产与世界先进国家的比较[J].世界农业,2008(5):35-38,41.
[2] Wang B, Ma Y L, Zhang Z B, et al. Potato viruses in China[J]. Crop Protection,2011,30:1117-1123.
[3] 于凤丽,李搏远.不同马铃薯植株茎尖脱毒试验研究[J].现代园艺,2017(6):7-8.
[4] 张微.马铃薯脱毒苗的几种常见病毒检测[J].农业科技通讯,2017(7):174-175,275.

Experiment on Virus-free Stem Tip and Seedling
Formation of Different Potato Varieties

ZHANG Wei,LIU Wei-ping,LI Zhi-xin,ZHAO Xue,FU Chun-jiang

(Keshan Branch of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences,Qiqihar 161005,China)

Abstract: In order to promote the popularization and application of virus-free technology of potato stem tip, the Youjin, Kexin 13, Zaodabai, Dongnong 303, Zhongshu No. 5 and Yanshu No. 4 six kinds of potato stem tip meristem as experimental materials, the survival of virus-free plantlets from meristem of different potato varieties were studied. The results showed that the the seedling rate of Youjin reached 55.0%, the seedling rate of Kexin 13 reached 33.3%, the seedling rate of Zaodabai only was 31.3%, the seedling rate of Dongnong 303 was 54.5%, the seedling rate of Zhongshu No. 5 was 40.0%, and the seedling rate of Yanshu No. 4 reached 60.0%. It could be seen that there were differences in virus-free and seedling formation among different potato varieties. The virus were detected in different variety seedlings by Elisa. The results showed that 52 materials did not contain 6 main viruses and could be used in the production of virus-free potato seeds. The results also showed that the content of PVS in virus-free seedlings was the highest, so the technology level of removing potato S virus should be improved.

Keywords: potato; virus-free of stem tip; Elisa; virus detection