

马铃薯脱毒微型薯组培快繁技术研究

郝改莲¹, 马铁山¹, 张建军²

(¹ 濮阳职业技术学院, 河南 457000; ² 濮阳市生物工程技术研究中心 457000)

摘要: 研究首先从 5 种培养基中筛选出最合适的培养基, 即 N₂ 培养基, 具有制备方便、成本低的优点, 适宜于规模化应用; 进一步研究了 N₂ 培养基对试管苗继代培养以及对不同品种试管苗生长的影响; 研究了马铃薯微型原种组培快繁的关键因素, 结果表明: 马铃薯脱毒微型薯组培快繁的最佳培养基是 N₂: N₁+ 吲哚乙酸 (IAA, 5 mg/1000ml) 和奈乙酸 (NAA, 3 mg/1000ml)。

关键词: 马铃薯; 脱毒技术; 组培; 快繁

Studies on Detoxified Technique of Potato and the Application of Tissue Rapid Propagation of Micro-potato

Hao Gailian¹, Ma Tieshan¹, Zhang Jianjun²

(¹ Pu Yang Professional and Technical College, Henan, 457000;

² Pu Yang Study Centre of Biological Engineering, Henan, 457000)

Abstract: At first, the study has screened out the most suitable medium from five kinds of media. so it is the medium of N₂, the medium has the advantage of Preparing easily and cheaply, and comfort for massive application; then he study has done experiment that the medium of N₂ affect posterior seedling in test tube and growing about different kinds of seedling in test tube, at last studied the key factor in the process of micro-potato application of tissue rapid propagation. The results of studies on Detoxified Technique of Potato: The best Culture Media of detoxified technique of Potato and the application of tissue rapid propagation of Micro-potato is N₂: N₁+IAA (5 mg/1000ml)+NAA (3 mg/1000ml).

Key words: Potato, Technique of the detoxification, Application of tissue, Rapid propagation

经济作物的快繁技术是现代农业的发展趋势之一, 而实现高质高产的关键是脱毒苗的形成。马铃薯作为大宗农产品, 其脱毒技术研究颇受关注^[1-4]。为此, 笔者根据河南省豫北地区的土壤和气候特征, 于 2001—2005 年在濮阳市生物工程技术研究中心开展了马铃薯脱毒微型薯组培快繁技术研究, 现将结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 试管苗培养基的筛选和优化

材料: 本中心培育的马铃薯试管苗, 品种为费乌瑞它、大西洋等。

组织培养用培养基多以 MS 培养基为主, 这种培养基配制需要原料多, 配制过程复杂费工费时, 而且受到原料市场限制, 对于规模化的生产不太适宜, 笔者对 5 种培养基进行了比较, 具体如下:

N₁: 除含有 N、P、K 外, 还加入 Ca、Mg 元素, 不加

生长调节剂。配方组成: (mg/1000ml, 下同): KNO₃ (1025)、KH₂PO₄ (350)、(NH₄)₂SO₄ (170)、MgSO₄·7H₂O (470)、CaCl₂ (80)。

N₂: 大量元素加生长调节剂, 即: N₁+ 吲哚乙酸 (IAA, 5) 和奈乙酸 (NAA, 3)。

N₃: 大量元素加微量元素, 即: N₁+ [KI (83)、H₃BO₃ (620)、MnSO₄·4H₂O (2230)、ZnSO₄·7H₂O (860)、Na₂MoO₄·2H₂O (25)、CuSO₄·5H₂O (25)、CoCl₂·6H₂O (25)]。

N₄: 大量元素加微量元素加生长调节剂, 即: N₃+ 吲哚乙酸 (IAA, 5) 和奈乙酸 (NAA, 3)。

CK: MS 培养基

上述 5 个处理在 1000 ml 中均加入蔗糖 30g、琼脂 7g, 调 pH 值为 5.8~6.2, MS 用蒸馏水配制, 简化培养基用凉开水配制。马铃薯试管苗的移植操作在无茵

室的超净工作台上进行。剪取有1个节的茎段,经消毒,放入培养基上,每瓶选择均匀一致茎段15个,每处理5瓶,15~20d统计结果,求其平均数。

1.2 马铃薯微型原种工厂化生产技术

通过对光、温、水、肥、基质、激素等工艺指标的研究,建立了在无土栽培方式下生产脱毒原种的技术体系。确定了组培快繁生产脱毒小薯的工艺指标以及规范化的工艺流程。

1.2.1 脱毒苗移栽 实验室提供的试管脱毒苗,叶片表面没有蜡质层,不适应外界环境,直接移栽,容易失水,萎蔫致死,因此在移栽前应打开瓶口,炼苗2~5d,移栽后应注意遮荫,温度在18~25℃,并保持基质湿润,缓苗后即可增加光照,促进脱毒苗快速生长。

1.2.2 脱毒苗剪切与快繁 当脱毒苗长到10cm左右,叶片达到4~7片叶时,开始切繁。前期由于母体较少,应在茎尖下3~4cm处剪取,切口处不带腋芽,扦插深度1cm左右,使腋芽不埋入基质,这样可以阻止匍匐茎的形成,降低结薯率,加速繁殖脱毒苗。同时增加营养,促进壮苗,待“基础苗”繁殖到一定数量时,可繁殖“生产苗”,此时剪下的茎端切口处必须带上液芽,扦插深度2cm以上,保证埋入基质中1~2个腋芽,待苗长

到10cm左右,培土一次,以增加结薯个数,促进大薯形成。

1.2.3 植物生长调节剂、光、温度、湿度、基质的影响 试验在生物工程技术研究中心新型连栋日光温室内进行,选用高架无土栽培槽,脱毒苗“费乌瑞它”、“大西洋”为试验材料。

(1) 生根激素处理 植物生长调节剂选用IBA、NAA、IAA、GA₃、2,4-D五种,剪取脱毒苗顶芽蘸根后扦插,4天后调查生根长度。

(2) 温度试验 低温可诱导马铃薯块茎的形成,高温可以完全抑制块茎的形成,但这种温度效果可被一些生长调节剂所逆转,温度对块茎的诱导或抑制作用和内源激素的平衡有关。

(3) 湿度试验 控制几种不同的湿度,即60%以下、60%~70%、70%~80%、80%以上

2 结果与讨论

2.1 不同培养基处理对脱毒苗生长的影响

培育试管苗,然后移植棚室内进行大规模工厂化生产,关键是试管苗的培育,而核心是培养基的选择。以费乌瑞它脱毒苗为试材,接种于各个处理培养基上,人工调控环境条件下,培养15~20d,其结果见表1。

表1 各类培养基对脱毒苗生长的影响

处理	苗高 (cm)	根长 (cm)	根数 (条)	生长情况
MS	9.7	1.88	7	健壮
N ₁	12.3	1.64	6.6	良好
N ₂	16.2	1.10	9.0	健壮
N ₃	10.3	2.77	5.6	良好
N ₄	13.4	1.36	9.9	特别健壮

表1说明:N₁、N₂、N₃、N₄4个处理中,植株表现均比较好,生长在N₁和N₃培养基上的植株,各种参数与对照相比,差别不大;生长在N₂、N₄培养基上的植株,各种参数均优于对照株,尤其在根系发育方面,根系多,根系粗壮,植株生长健壮。试验观察还表明,N₂植株颜色深绿,生长特别健壮,略优于N₄。N₂培养基配制

简单,根系多,利于移栽操作和成活率的提高。

不同培养基处理对继代苗生长的影响 为了确定各种培养基对马铃薯脱毒苗继代苗的影响,笔者对脱毒苗连移栽3次,结果表明,移栽苗的生长情况无明显变化,与转移前(表1)大体相当,N₂第3次继代苗试验结果见表2。

表2 N₂培养基对继代苗生长情况的影响

处理	苗高 (cm)	根长 (cm)	根数 (条)	生长情况
MS	10.6	2.16	2.3	健壮
N ₂	10.0	1.92	6.0	健壮

表2看出:N₂培养基在继代3次培养中,继代苗的根系发达,粗壮,地上部和地下部与对照无显著差异,同时也说明N₂适宜于继代培养试管苗。

2.3 培养基N₂对不同品种试管苗的影响

为明确简化培养基对不同品种继代苗的影响,笔

者以费乌瑞它、大西洋继代苗为试验材料,接种于培养基上,仍以MS为对照,结果见表3。

表3表明:N₂培养基上的植株与MS培养基试验株的生长参数基本一致,由此可见,N₂培养基适应于不同品种试管苗的继代培养。

上述试验结果表明:简化培养基完全可以取代MS培养基,同时具有3个明显优点:一是功能稳定,继代苗和品种间均可表现出稳定性和连续性;二是操作简便;

三是价格低廉,该培养基可适宜工厂化生长脱毒马铃薯试管苗,为微型薯生产打下了良好基础,为产业化开发提供价廉、健壮的试管苗。

表3 N₂培养基对马铃薯不同品种继代苗的影响

培养基	品种	苗高 (cm)	根数 (条)	根长 (cm)	生长情况
MS	大西洋	7.5	3.7	21.0	健壮
MS	费乌瑞它	8.3	4.6	25.0	健壮
N ₂	大西洋	8.5	4.7	16.0	健壮
N ₂	费乌瑞它	11.3	7.6	16.0	健壮

2.4 马铃薯无毒茎尖苗快繁技术关键

2.4.1 切繁方法 用手术剪将来自于无菌苗茎尖的单节切段放入新广口瓶培养基上,每瓶放12~15节段,用镊子将其均匀插在培养基上,最后放在培养室培养。

2.4.2 培养条件 培养室保持温度22~28℃左右,光照12~16h,光照强度2000~3000 Lx。在正常情况下,茎尖颜色逐渐变绿,基部增大,形成少量愈伤组织,茎尖逐渐伸长。若生长素浓度过高和光线弱、温度高,茎上会产生愈伤组织和抑制芽的生长。

2.4.3 继代次数及繁殖速度 试管苗一般每间隔20d切转一次,扩繁倍数为4~5倍,每年实际继代8~10次,按最低继代次数计,笔者的扩繁速率达48,也就是说,每株脱毒试管苗经一年扩繁后可达到48株,即65536株。为延长脱毒后的试管苗使用寿命,笔者采取扩繁初期分出一部分苗,转入保存用培养基,并给予有利的保存条件,每6~8个月切转一次苗,这样可大大减少周转次数及污染机率。

2.4.4 利用防虫网室对试管苗剪尖或剪段进行无土扦插,降低脱毒苗扩繁成本 笔者将脱毒马铃薯试管苗栽

于防虫网室的苗床上作为基础苗,采取剪顶或剪段扦插扩繁,平均7~8天剪苗扦插一次,扩繁速度快,成苗率高,达95%,植株生长整齐,结薯多,大大降低了脱毒苗的组培快繁成本。

2.4.5 马铃薯微型原种产业化技术 通过对光、温、水、肥、基质、激素等工艺指标的研究,建立了在无土栽培方式下生产脱毒小薯的技术体系。确定了工厂化生产脱毒小薯的工艺指标以及规范化的工艺流程。

(1) 生根激素的影响。IBA处理样每条芽增长0.5cm、NAA处理样为1.6cm,GA处理样为0.1cm,其余三种效果较差,经浓度配比实验总结得出,脱毒苗剪顶芽用于扦插,GA1.8ppm+NAA3ppm生根液是生根的优良生根液。

(2) 温度试验。15℃以下不能诱导结薯,35℃以上结薯过程被彻底抑制,短照和低温,特别是夜间低温,可促进离体植株的块茎形成,昼夜有温差变化,有利于块茎的形成,经实验分析得知,以夜间15.6℃,白天25℃为最适。

(3) 湿度试验。

表4 不同湿度对薯苗生长发育情况的影响

湿度	60%以下	60%~70%	70%~80%	80%以上
1000株植株情况	叶、茎脱水、干枯、死亡率70%	叶黄、茎细长势弱、死亡率30%	植株叶绿、叶大、茎粗、长势好	叶烂、根烂死亡率65%

对比试验可知:相对湿度在70%~80%时,效果优,湿度过低会造成植株失水而干枯,渗透压升高,影响植株生长分化,影响小薯的产量和质量。湿度过高造成污染、烂苗,也影响小薯的产量,产出的小薯带病斑。

(4) 基质、营养液、光照强度、诱导激素四因素试验。结果表明(结果略),四因素对脱毒小薯产量影响效应以营养液最大,其次为基质,光照强度居第3位,诱导激素效应最小,为此选择最适营养液,优良基质,使其生长于合适光照条件下,辅以一定的激素,才能获得高产。

参考文献

- [1] 王秀英,郭尚,田宏先.马铃薯脱毒试管苗多次繁殖技术的应用.中国马铃薯,2004,18(4):216~217
- [2] 杨焜,和平根,和国均.马铃薯脱毒原种生产方法及主要技术要点.中国马铃薯,2004,18(4):232~233
- [3] 袁正仿,张苏锋,王广铭,等.马铃薯脱毒种薯的工厂化生产研究.信阳师范学院学报(自然科学版),2003,16(1):83~84
- [4] 朱富林.马铃薯脱毒种薯工厂化快繁技术.中国马铃薯,2005,19(1):37~39