

马铃薯组培快繁技术体系简化的研究

宿飞飞

(黑龙江省农业科学院 植物脱毒苗木研究所/黑龙江省马铃薯工程技术研究中心,黑龙江 哈尔滨 150086)

摘要: 通过培养器具的替代、培养基成分、培养条件的简化、快繁方式、留茬培养及污染的控制等方面的研究,阐述了马铃薯组培快繁体系的简化以及节约成本的方法,以更好地应用于工厂化育苗的生产。

关键词: 马铃薯; 组培快繁; 简化

中图分类号: S532 文献标识码: A 文章编号: 1002-2767(2009)06-0010-02

Research on Simplification of Potato Tissue Culture and Rapid Propagation System

XU Fei-fei

(Virus-free Seedling Research Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences/Heilongjiang Potato Engineering Research Center, Harbin, Heilongjiang 150086)

Abstract: Simplification of tissue culture and rapid propagation system and way to save cost were introduced by applying for alternative culture apparatus, medium composition, culture conditions simplification and way of rapid propagation, stubble cultivation and research on pollution control, so that the simple and cost-effective way could be better applied in batch production.

Key words: potato; tissue culture; simplification

近年来,随着脱毒技术的推广应用,马铃薯的脱毒组培生产正以前所未有的速度迅猛发展。为降低试管苗的生产成本,使实验室的研究成果更快、更好地应用于工厂化育苗的生产,开展了许多关于降低成本方面的研究工作,目的是为了更好发挥组织培养的优势。我们从事马铃薯组培和快繁工作已近 10 a,达到年产 100 万株马铃薯试管苗的规模,并在实践工作中不断探索,总结出了简化马铃薯组培快繁体系并节约成本的几点经验,希望能对从事马铃薯及其苗木的组培生产有一定的指导意义。

1 培养瓶的选择

在传统的植物组织培养中,多以玻璃三角瓶为培养容器,其优点是透光性好、轻便,非常适用于科学研究;其缺点是价格高、易碎、容积小,在大批量的生产中会相应地增加生产成本,而且在灌装完培养基后用透气塑料膜和线绳封口,工序比较繁琐,延长工作时间,降低了工作效率。而在我们的工厂化生产中使用的是现在市场上出售的玻璃方瓶和透气的塑料盖,可弥补

这个缺点,其容积大、价格便宜、使用期长,虽然透光性不如三角瓶好,但实践证明,对马铃薯苗的生长不会产生太大的影响,而且可以提高工作效率。马铃薯组培苗在玻璃方瓶等柱形培养容器中,在相同培养基量的情况下接种密度可适当增加,生长培养基上的接种密度可达到 20~40 株/瓶^[1],而在 100 mL 的三角瓶中的接种密度一般为 10~15 株/瓶^[1],但总的来讲,更充分地利用瓶内的空间,显著地提高了工作效率,相应地降低了生产成本^[1]。

2 培养基的组成

大量的研究证明,为降低成本,在试管苗大量扩繁阶段,把茎段转接到不加固体支撑物琼脂的培养基上,以自来水或白开水代替蒸馏水,以食用白糖代替蔗糖,去掉有机成分。结果显示,液体培养在苗高、茎粗、根数等指标上显著优于固体培养基,可能是液体更有利于营养元素的释放,从而改善了营养吸收环境,促进了植株生长和根系发育。从培养基成本上看,液体培养因省去了昂贵的琼脂,而且由于普通白糖只有蔗糖价格的 1/5,白开水或自来水比蒸馏水价格低更多,因此成本大幅度降低^[1-3]。近年来,无糖培养技术也受到很多人的重视^[4-5],目前还没有相关的报道,有待于进一步研究。

收稿日期:2009-05-25

作者简介:宿飞飞(1977-),女,黑龙江省肇东市人,硕士,助理研究员,主要从事马铃薯组织培养及试管苗脱毒快繁技术的研究及应用。E-mail: xufeifei03@yahoo.com.cn.

3 快繁方式的改变

在常规的接种过程中每接种一瓶苗都要对接种钩、8 cm 的手术小剪刀进行消毒,即用 75%酒精擦拭并用酒精灯外焰灼烧接种钩、剪刀,待冷却时接种。这样对接种工具灭菌过程在快繁中占用了很长时间,通过研究,在接种钩、剪刀等接种工具在酒精擦拭、火焰灼烧之后,把镊子、剪刀倒插放入装有 75%酒精的玻璃瓶内进行消毒,待繁苗时把需要的工具在酒精灯火焰上撩一下,保证了接种工具的及时消毒,省去了擦拭的环节,这样节省了时间,提高了工作效率;通过试验证实,改用 18 cm 长的大剪刀操作方便,剪刀接触到的苗多,剪切苗的速度快。在改进方法之后,工人平均切繁速度由 $250 \text{ 瓶} \cdot \text{d}^{-1}$ 增加到 $400 \text{ 瓶} \cdot \text{d}^{-1}$,因此,接种器具的选择及消毒方法的改进,提高了工作效率,降低了生产成本。

4 培养条件

通过改变培养条件,用节能灯光(功率 28 W,光照强度 $3\,000 \text{ lx}$)代替普通的日光灯(功率 40 W,光照强度 $2\,000 \text{ lx}$),虽然节能灯的一次性成本比较高,但是对于工厂化生产的年电费核算结果,节省的比一次性的成本要多。尤其是光照强度大,我们在生产中利用这一优势,一般组培苗的整个生长周期 30 d 左右,使用高效节能灯的情况下,在培养基中加入 $5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的植物生长抑制剂(B9),在培养初期(前 2 周)表现是加入生长抑制剂的组培苗生长势比正常的组培苗稍矮,但植株表现茎秆粗壮、节间短、叶片多而且大、叶色浓绿,在培养后期(后 2 周)关闭加入抑制剂的培养瓶的光源,即转为自然光照培养,经过培养,植株节间由短变伸长,叶片由浓绿转为绿,我们也通过数据验证了 2 种培养方式对试管苗长势的影响差异不大,这是因为试管苗经过连续黑暗培养后,因没有光照,自身生长素含量高,较稳定,生长加快,使得可利用的嫩枝数量得到提高,减少了光照诱导的培养时间^[6]。因此通过采用节能灯光和黑暗培养相结合的光源方式可节省电能,降低试管苗的成本,有效地利用培养室的空间,是一项比较实用的组培技术。

5 转接后根茬的利用

在工厂化生产中采用留茬培养,将待繁的试管苗作为基础苗进行剪切、扩繁并留茬,具体方法是:当苗长至 7~11 片叶后,剪取上部 6~10 节茎段(每段带 1 片叶)接入增殖培养基中,苗基部留 1~2 节茎段连同根一起于原培养基中继续培养即进行试管苗的留茬培养(培养条件同上)。其长势和生长速度不亚于新植小苗,采用此法,母瓶内培养基应增加 $1/3$ 的量或留根后加入 30 mL 新的液体培养基(成分不变,只是不加琼脂)^[7,8]。以此类推,待苗长至第 3 茬苗时,加入结薯营养液,转入暗培养进行诱导薯。到第 3 茬苗时,因培养基开始变干,养分已被消耗了相当一部分,苗的生长受阻,这时可加入一定量的结薯营养液进行诱导薯。因

此,充分利用瓶内的培养基,不但可提高资源的利用率,还起到节约人力、物力和财力的作用。

6 污染组培苗的处理

在马铃薯组培苗的工厂化生产中,即使是严格按照无菌操作的程序也经常碰到组培苗及培养基被细菌、霉菌等污染的情况,轻者导致组培苗生长势弱并影响下一代的生长,重者会导致组培苗的大面积死亡,大幅度提高马铃薯组培苗的生产成本,造成较大的经济损失。因此,有效防止和抑制污染、保证组培材料正常生长及分化,排除不必要的损失也是降低生产成本的有效措施。

生产中,真菌污染以青霉菌的污染最多,在利用杀菌剂抑制马铃薯试管苗青霉菌效果试验中发现,加入五氯硝基苯可湿性粉剂到培养基中可有效控制青霉菌的污染。而细菌及内生菌引起的污染,其特点是有很长的潜伏期,有时在继代几次后才表现出来。现在生产中倾向于使用各种抗生素来控制细菌的污染。而且细菌的种类也不尽相同,因此,在用抗生素防治马铃薯组培苗工厂化生产中出现的细菌污染时,特别是处理大面积污染时,要预先做好预备试验。因为要考虑抗生素热不稳定性,在实验中采用过滤灭菌,加入一定浓度的氨苄青霉素,不仅抑制了细菌的发生,而且对马铃薯组培苗有一定的促进作用。

利用组织培养进行工厂化生产已成为植物无性快速繁殖的重要途径。据有关专家预测,未来十年市场对组织培养的需求将以 $7\% \sim 8\%$ 的速度递增,这为植物组织培养技术的应用提供了广阔的前景。目前的重点是,应对植物组培快繁体系的简化及成本节约设计出一套更好的方案,从而简化培养程序,降低成本,并有效地应用到生产中,最终提高经济效益^[3]。以上是在生产实践中摸索出的几点成功做法,但目前还只应用于马铃薯等少数几种植物,对于其它植物组织培养体系的简化和成本节约有待于继续试验研究,以探索出一套可行的方案。

参考文献:

- [1] 廖俊杰,李艳,李英慧.工厂化生产草莓组培苗降低成本的几项措施[J].北京农业,2006(1):18.
- [2] 李江,马正炳,孙仲序,等.植物组织培养的简化[J].植物生理学通讯,2003,39(4):356-358.
- [3] 王海琴,罗君琴,李丽.非洲菊组培快繁体系的简化及成本节约[J].西南园艺,2006,4(2):54-61.
- [4] 李宗菊,周应援,桂明英,等.满天星无糖组培快繁技术研究[J].云南大学学报(自然科学版),1999,21(2):134-138.
- [5] 何焰,魏雅奇,梁方瑜,等.无糖组培微环境控制技术高新设备的研制与应用[J].安徽农业科学,2005,33(12):2460-2462.
- [6] 宋锋惠,史彦江,卡德尔.改进培养方法提高组培快繁技术的初探[J].经济林研究,2003,21(4):57-59.
- [7] 黄萍,马朝宏,颜谦,等.留茬培养对马铃薯试管苗生长及移栽成活率的影响[J].种子,2005,24(5):70-71.
- [8] 陈丽华,李云海.马铃薯试管苗快繁中提高繁殖系数的方法[J].云南农业科技,2003(2):30-31.