

中图分类号: S532 文献标识码: B 文章编号: 1672-3635(2015)06-0325-04

不同配方凝固剂对马铃薯脱毒试管苗生长及其微型薯生产的影响

徐 银, 宋 刚*, 曹 正, 黄小忠

(江苏农林职业技术学院, 江苏 句容 212400)

摘 要: 冷凝胶是一种食品工业中应用的新型凝固剂, 其在脱毒马铃薯生产中的使用效果尚未有报道。试验研究了4种不同配方冷凝胶凝固剂和对照“倍力凝”凝固剂对马铃薯组培苗生长、微型薯产量的影响, 以期筛选出最佳凝固剂配方; 并比较了5种配方凝固剂的使用成本。结果表明, A1配方的马铃薯组培苗生长高度优于B1、B2和对照、形成新叶数较多、根系强壮; 定植后其匍匐茎微型薯结薯数较高, >4 g大薯比率与对照差异不显著。与其他配方比较, A1配方冷凝胶使用添加量少, 其成本最低。

关键词: 凝固剂; 冷凝胶; 脱毒马铃薯; 匍匐茎; 微型薯

Effects of Various Coagulant Formulations on Growth of Plantlets *in vitro* and Minituber Production

XU Yin, SONG Gang*, CAO Zheng, HUANG Xiaozhong

(Jiangsu Polytechnic College of Agriculture and Forestry, Jurong, Jiangsu 212400, China)

Abstract: "Cold-gel", as a new kind of coagulant in food industry, has not been reported for use in the production of virus-free seed potatoes. In this research, four "cold-gel" coagulant formulations and Polygel (control) were studied for their effects on the growth of plantlets *in vitro* and minituber production, and also the cost of the five coagulant formulations was compared in order to select for the best coagulant formulation. The results showed that, A1 formulation was superior to B1, B2 and control in plant height, formed more new leaves and had more vigor roots; minituber number set per stolon of plant transplanted was higher for A1 formulation and large-sized minituber (> 4 g) percentage in this treatment was not different from control. The results also indicated that compared to other four formulations, the cost of A1 was the lowest.

Key Words: coagulant; cold-gel; virus-free potato; stolon; minituber

曾有学者提出在马铃薯组培苗培养中以液体培养方式代替固体培养^[1], 但生产中发现液体培养与固体培养相比虽然繁殖周期短、组培苗也较健壮, 但是存在繁殖系数低, 污染相对较重, 组培苗易沉入培养液中窒息而死等缺点, 不利于大规模工厂化生产。固体培养能够支撑外植体, 养分分布比较均匀, 能够保持植物原有的植物学形态, 并且有效地防止液体培养中出现的上述问题, 所以目前固体培养方式仍是马铃薯组培苗生产的主流方式。

凝固剂是添加到培养基中的一种高分子糖类, 本身并不提供任何营养, 其凝固性和添加浓度对培养物的支持和营养物质扩散有影响^[2], 不同凝固剂的使用成本也各不相同。生产上对固体培养基中使用的各种凝固剂的效果和成本的探讨, 一直没有间断。目前已有对食用型琼脂^[2]、马铃薯淀粉^[2]、红薯淀粉^[2]、魔芋粉^[3]和卡拉胶^[4]这些常用凝固剂使用效果的研究报道。在马铃薯组培苗培养基制作中, 通常涉及到的凝固剂有琼脂、卡拉胶和倍力凝^[5],

收稿日期: 2015-02-04

作者简介: 徐银(1982-), 女, 讲师, 博士研究生, 主要研究方向为食品添加剂应用、园艺植物采后与保鲜。

*通信作者(Corresponding author): 宋刚, 副教授, 主要研究方向为植物生理, E-mail: sgdx@126.com。

但均须加热溶解灌装灭菌后使用。食品行业使用的冷凝胶是一种新型凝固剂, 特点是无需加热, 可直接灌装, 可节省能源和人工, 目前对其在马铃薯组培苗生产上的使用效果尚未有报道。

本研究以不同配方冷凝胶与目前流行的倍力凝做为马铃薯增殖培养基凝固剂, 对马铃薯组培苗在组培增殖与定植阶段的生长和结薯量的影响进行试验比较, 并对企业规模化生产使用不同凝固剂的成本进行了探讨。

1 材料与方法

1.1 试验材料与设备

1.1.1 试验材料

‘Favorita’脱毒组培苗、冷凝胶 A、B(主要成分是葡萄糖、葡萄糖醛酸和鼠李糖为基本单元构成的高分子线性多聚糖, 又叫结冷胶)2种配方(江南大学食品系提供)、倍力凝(网购)、MS培养基母液、植物生长调节剂母液(0.5 mg/mL 6-BA、1 mg/mL NAA、1 mg/mL IBA)、白砂糖、琼脂、1mol/L NaOH、1mol/L HCl、蒸馏水、精密 pH 试纸、无菌水、无菌纸、95%和 70%乙醇。

1.1.2 试验设备

电子天平、180 mL 组培瓶、电加热真空灭菌锅、多功能超净工作台、组培架。

1.2 试验设计与方法

1.2.1 试验设计

培养基配方除凝固剂外其余均相同。

凝固剂配方设 5 个处理: 处理 1 冷凝胶配方 A1 (按 3.5 g/L 使用冷凝胶 A); 处理 2 冷凝胶配方 A2 (按 4.5 g/L 使用冷凝胶 A); 处理 3 冷凝胶配方 B1 (按 3.5 g/L 使用冷凝胶 B); 处理 4 冷凝胶配方 B2

(按 4.5 g/L 使用冷凝胶 B); CK: 倍力凝 7 g/L。

1.2.2 试验方法

转接的‘Favorita’脱毒组培苗均用二叶一心带生长点的茎段, 每瓶 12 株苗。每个处理和对照均接 5 瓶苗, 共 60 株苗。统一采用 180 mL 的培养瓶, 用一张封口膜和一张硫酸纸封瓶口。

培养光照强度为 3 000 lx, 光照时间 16 h; 温度与光照同步变化, 光照时为 23 ℃, 黑暗时为 17 ℃。接苗后 21 d 调查组培苗的根系长势、株高和叶片数以及培养基的透明度。根系长势采用“+++”(根长度长于 8 cm、数量达到 10 根左右)、“++”(根系长度为 5~8 cm, 数量 10 根以下)和“+”(根系长度短于 5 cm, 数量较少)3 个等级表示。

定植后 70 d 收获, 收获后统计大薯(>4 g)粒数及其百分比。

1.2.3 数据分析

试验数据采用 Excel 2003 统计分析, 多重比较采用 Duncan's 法。

2 结果与分析

2.1 不同凝固剂对马铃薯组培苗生长的影响

转苗 21 d 后马铃薯组培苗在不同处理下的生长情况如表 1 所示。对马铃薯组培苗植株株高进行比较, A1 处理植株株高最高, CK 植株株高最低。A1 与 B1、B2、CK 间株高差异显著, 与 A2 差异不显著。A2 配方与 CK 间差异显著, 但与 B1、B2 配方间差异并不显著。B1、B2 配方与 CK 间差异不显著。形成新叶方面, A1 处理新叶片数最多, B2 形成新叶片数最少。A1、A2 与 B2 间差异显著, 其余配方间差异不显著。组培苗根系强度方面, 从描述

表 1 不同配方凝固剂对植株生长的影响

Table 1 Effects of various coagulant formulas on plant growth

处理 Treatment	株高(cm) Plant height	新叶发生数(No.) Young leaf number	根系强度 Root vigor
A1	6.92 ± 0.45 a	6.4 ± 0.55 a	+++
A2	6.84 ± 0.22 ab	6.2 ± 0.45 a	++
B1	6.00 ± 0.83 bc	6.0 ± 0.71 ab	++
B2	6.00 ± 0.49 bc	5.2 ± 0.84 b	++
CK	5.84 ± 0.88 c	6.0 ± 0.71 ab	++

注: 同列数据后标有不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$), 多重比较采用 Duncan's 法, 下同。

Note: Different small letters denote significant difference at 0.05 level by Duncan's test. The same below.

结果可看出 A1 处理生根长势最强，平均达到+++，其余处理均只有++。因此，综合3方面生长指标比较，A1 是对马铃薯组培苗生长效果最佳的凝固剂。

2.2 不同凝固剂对定植苗匍匐茎和微型薯形成的影响

定植 70 d 后统计不同处理匍匐茎数和微型薯结薯数以及 > 4 g 大薯所占比率，结果见表 2。

由表 2 可知，在形成匍匐茎数量方面，A2 处理最高，B1 最低。相同配方成分之间，A2 高于 A1、B2 高于 B1，且差异显著，说明相同配方成分下按 4.5 g/L 使用量效果要优于 3.5 g/L 使用量。与对照比较，使用效果较好的 A2、B2 与对照间差异并不显著，但 A2、B2 间差异显著。由此可推测，定植苗匍匐茎形成与不同凝固剂的成分和使用量可能有关。另外，4 种配方和对照对匍匐茎结薯数影响差异不显著。从微型薯产量看，比较每株苗结薯数试验结果，A 配方显著高于对照，对照显著

高于 B 配方；A1、A2 和 B1、B2 相互间差异不显著，说明每株苗结薯数可能主要与不同凝固剂成分有关。

在各处理收获微型薯中 > 4 g 的大薯所占比例方面，A1、B2、CK 3 个处理分别为 56.8%、57.1%、57.0%，彼此相差不大；而 A2、B1 处理只有 45.4% 和 49.1%，与上述 3 个处理间差异显著。以 > 4 g 大薯率为评判微型薯质量指标，A1、B2、CK 3 个处理较好，但不同配方向规律性并不明显。

根据以上分析，综合评价看 A1 凝固剂处理下定植苗的微型薯单株产量和大薯率 2 指标均较高，可作为凝固剂的首选配方。

2.3 不同凝固剂透明度比较

透明度好有利于对苗的生长进行观察，当出现污染等异常现象时能够及时发现和解决。经肉眼观察，CK 的培养基透明度最佳，A2 和 B1 的透明度较好，A1 和 B2 的透明度一般。

表 2 不同配方凝固剂对匍匐茎和微型薯形成的影响
Table 2 Effects of various coagulant formulas on stolon and minituber

处理 Treatment	匍匐茎数/株(No.) Stolon number per plant	结薯数/匍匐茎(No.) Tuber number of stolon	结薯数/株(No.) Tuber number per plant	大薯比率(%) Large tuber percentage
A1	5.1 c	2.0 a	10.2 a	56.8 a
A2	7.2 a	1.5 a	10.8 a	45.4 b
B1	3.4 d	1.7 a	5.8 c	49.1 b
B2	6.1 b	0.9 a	5.5 c	57.1 a
CK	6.4 ab	1.2 a	7.7 b	57.0 a

2.4 不同凝固剂的成本比较

本试验中不同配方的凝固剂价格及使用添加量彼此不同，经计算制作每升培养基的凝固剂成本如表 3 所示。从结果比较能看出倍力凝价格最高，达到 1.4 元/L。B1、A1 价格最低，均为 0.445 元/L，仅为 CK 倍力凝的约 1/3。因此，在大量生产组培苗时，使用冷凝胶配方 A1、B1 有价格优势，有利于降低生产成本。

表 3 不同凝固剂配方的成本比较
Table 3 Cost comparison of various coagulant formulas

凝固剂配方 Coagulant formula	成本(元/L 培养基) Cost (Yuan/L. medium)
A1	0.445
A2	0.585
B1	0.445
B2	0.585
CK	1.4

3 讨论与结论

冷凝胶作为凝固剂在微生物培养方面已有应用。Janssen 等^[6]利用 DNB 培养基，并分别用普通琼脂和冷凝胶作为凝固剂对土壤微生物进行分离，结果表明采用冷凝胶作为凝固剂的培养基菌落数

明显高于普通琼脂的。蔡莹等^[7]研究虾池中细菌培养，发现结冷胶作为平板凝固剂表现出高保湿性、高菌落数和高细菌多样性的特点。金一获^[8]研究也发现结冷胶相比琼脂可从富营养化水体中更

容易获得更多种类的细菌。尽管植物生长发育过程的影响条件较微生物培养更加复杂, 但不可否认的是, 以上来自微生物培养中结冷胶使用效果的报道, 与本试验结果有类似之处。

马铃薯匍匐茎是由地下部分茎节上的腋芽伸长而成, 其顶端膨大后能形成块茎, 即微型薯。韩忠才等^[9]研究发现, 匍匐茎的数量与微型薯的产量成正相关。本试验中, 定植苗形成匍匐茎最多的A2处理, 微型薯产量也是最高的, 进一步印证了其试验结果, 但是A2大薯率并非最高, 具体原因还有待深入研究。本试验主要从冷凝胶凝固剂功能方面探讨了其对马铃薯组培苗生长的作用, 冷凝胶在使用过程中是否还有其他生理生化作用, 也需进一步研究。在本试验5种凝固剂处理中, 使用A1配方对马铃薯脱毒组培苗瓶苗的生长及定植后微型薯产量和质量的效果综合评比为最佳, 且其添加量少、使用成本低。因此, 实际生产中可选择冷凝胶A 3.5 g/L作为凝固剂使用。

[参 考 文 献]

[1] 郝文胜, 田文锋, 张富荣, 等. 马铃薯品种 Favorita 试管苗培养基

的优化筛选[J]. 中国马铃薯, 2008, 22(3): 158-160.

[2] 刘忠玲. 不同凝固剂在马铃薯试管苗培养中的对比试验[J]. 陕西农业科学, 2002(12): 11-12.

[3] 谢庆华, 吴毅歆, 张勇飞. 固定物对马铃薯脱毒试管苗生长的影响[J]. 中国马铃薯, 2001, 15(1): 20-21.

[4] 罗智敏, 王炳君. 卡拉胶和琼脂为固定物对马铃薯脱毒组培苗生长的影响[J]. 马铃薯杂志, 1997, 11(2): 73-75.

[5] 滕伟丽, 杨琦. 倍力凝在马铃薯脱毒试管苗生产中的应用研究[J]. 中国马铃薯, 1999(4): 202-204.

[6] Janssen P H, Yates P S, Grinton B E, *et al.* Improved culturability of soil bacteria and isolation in pure culture of novel members of the divisions Acidobacteria, Actinobacteria, Proteobacteria, and Verrucomicrobia [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2002, 68(5): 2391-2396.

[7] 蔡莹, 李志江, 田蕴, 等. 虾池沉积物细菌多样性分析和若干可培养技术的优化探讨[J]. 厦门大学学报: 自然科学版, 2010, 49(5): 731-737.

[8] 金一获. 基于结冷胶培养基的乌梁素海富营养化水体中可培养细菌的多样性分析[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2011.

[9] 韩忠才, 张胜利, 孙静, 等. 气雾栽培法生产脱毒马铃薯营养液配方的筛选[J]. 中国马铃薯, 2014, 28(6): 328-330.

《中国马铃薯》杂志约稿函

《中国马铃薯》杂志是目前全国唯一的马铃薯专业科技期刊, 国际刊号: ISSN 1672-3635, 国内刊号: CN 23-1477/S, 邮发代号: 14-167, 国内外公开发行人。它以繁荣我国马铃薯产业为办刊宗旨, 积极报道国内外有关马铃薯的学术研究、科研动态和各种实用技术的最新消息。该刊由东北农业大学和中国作物学会主管, 由东北农业大学和中国作物学会马铃薯专业委员会主办。《中国马铃薯》(原名《马铃薯杂志》)创刊于1987年。2000年经申请报国家新闻出版总署审批, 更名为《中国马铃薯》, 同年改为大16开本, 并增加彩色广告。2001年《中国马铃薯》经报黑龙江省科委及省新闻出版局批准, 将原来的季刊改为双月刊。

《中国马铃薯》立足国内, 并刊登一些其他国家作者的英文稿件。它集学术性和技术性于一体, 是马铃薯科研、生产、经销单位和用户之间信息交流的一个平台。《中国马铃薯》不同于其他园艺类期刊, 刊登的文章全部是有关马铃薯的, 主要栏目包括: 遗传育种、栽培生理、病虫害防治、土壤肥料、产业开发、品种介绍、综述及其他。

该刊于2008年1月1日起开始执行作者在线投稿, 进一步提高了工作效率和办公自动化水平, 方便作者查询。欢迎专业委员会各位委员及广大读者踊跃投稿, 投稿时请登录《中国马铃薯》稿件远程处理系统。

网址: <http://mlsz.cbpt.cnki.net/WKA2/WebPublication/index.aspx?mid=mlsz>。

《中国马铃薯》编辑部