

中图分类号: S532 文献标识码: A 文章编号: 1672-3635(2008)03-0164-04

马铃薯组培苗低成本高效生产技术试验

李春华, 王菊英, 和 忠, 王绍林

(丽江市农业科学研究所, 云南 丽江 674100)

摘 要: 研究了与马铃薯组培苗生产效率有关的培养基配制、培养瓶规格、接种方法及苗数、炼苗周期等因素对生产成本的影响, 提出了高效组培苗生产技术, 使马铃薯组培苗生产成本降低 55.6%, 移栽成活率提高 5.6%, 该技术可运用于马铃薯组培苗规模化、工厂化生产。

关键词: 马铃薯; 组织培养; 低成本; 高效; 快繁

马铃薯是用块茎种植的无性繁殖作物, 在生长期容易被病虫害浸染造成病毒性退化, 导致不能高产, 用马铃薯茎尖脱毒技术生产繁殖出脱毒种薯比一般自然留种能增产 50%, 有的甚至能增产一倍以上^[1], 然而目前脱毒种薯价格均偏高, 生产者承受不了高昂的种薯费用, 脱毒种薯推广受到一定

程度限制, 只有降低种薯生产成本, 才能满足市场要求。在脱毒原种生产环节中, 组培苗生产成本所占比例最高, 占生产成本 60%~80%, 而在组培苗生产环节中, 劳动力成本所占比例是最高的, 占生产成本 70%左右。谢庆华等^[2]、牛爱国等^[3]和张宇宏等^[4]对培养基进行了研究, 王一航等^[5]和赵佐敏等^[6]对培养条件进行了研究, 提出了降低组培苗成本的方法。本文主要从劳动力方面出发, 研究了与生产效率有关的各个因素对组培苗生产的影响, 为降低成本提供科学依据。

收稿日期: 2007-11-30

基金项目: 云南省马铃薯产业关键技术研究 (2006NG08)。

作者简介: 李春华 (1978-), 男, 农艺师, 主要从事植物的脱毒、组培快繁等工作。

3 讨 论

本试验除醋酸洋红染色法染色率比较高以外, 受精力检测法与碘-碘化钾染色法、花粉离体萌发法结果基本一致。受精力检测法根据结实情况判断花粉生活力, 比较可靠和精确, 但费时费力, 并且只能定性而不能定量。利用染色法检测花粉生活力具有快速简便的优点, 但受花粉自身的特性的影响较大, 不同的染色法只适合某些植物花粉的检测。醋酸洋红染色法染色率高可能是由于醋酸洋红染色剂使未成熟、败育和衰老的马铃薯花粉着色, 而这些花粉粒并不一定具有受精能力, 致使花粉的生活力测定值往往偏高。而碘-碘化钾染色法的染色率与花粉离体萌发的萌发率比较接近, 操作简单。碘-碘化钾染色法更能准确地检测马铃薯花粉的生活力。花粉离体萌发法根据花粉萌发率和花粉管生长状况真实地反映花粉的生活力状况, 可以了解马

铃薯与结实和种籽形成的相关性, 此方法快速、简便、合理。因此在马铃薯花粉生活力的检测方法中, 受精力检测法结合碘-碘化钾染色法、花粉离体萌发法, 能更准确地分析结实率或不结实的原因, 同时解决亲本花期不一致和远距离杂交的问题, 使育种者能更合理地选择亲本, 充分有效地利用育种材料。

[参 考 文 献]

- [1] 于晓英. 刮叶菊花粉生活测定 [J]. 湖南农业大学学报, 2005 (2): 41-45.
- [2] 赵宏波, 陈发棣, 房伟民. 菊属植物花粉生活力检测方法的比较 [J]. 浙江林学院学报, 2006, 23(4): 406-409.
- [3] 孙慧生. 马铃薯育种学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2003
- [4] 王钦丽, 卢龙斗, 吴小琴, 等. 花粉的保存及其生活力测定 [J]. 植物学通报, 2002, 19(19): 370-371.

1 材料与方法

1.1 材料

通过国家品种审定的丽薯 1 号、云南省品种审定的丽薯 2 号及大西洋马铃薯的脱毒组培苗。

1.2 方法

1.2.1 卡拉胶与琼脂比较

在卡拉胶固化程度试验中, 以含卡拉胶 $7.0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的基本培养基为对照, 处理每升分别加入 2.0 g 、 2.5 g 、 3.0 g 和 3.5 g 卡拉胶; 在卡拉胶和琼脂对组培苗生长的影响试验中, 以含琼脂 $7.0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的基本培养基为对照, 处理每升分别加入卡拉胶 3.5 g 和 7.0 g 。卡拉胶培养基用沸腾的自来水配制, 不需熬煮, 其它配制方法同对照。

1.2.2 培养瓶规格比较

选择口径均为 6 cm 带聚乙烯塑料盖的普通玻璃瓶作培养瓶, 其中 1 号瓶高 6 cm , 2 号瓶高 10 cm , 两种培养瓶通过 250 L 高压灭菌锅灭菌、超净工作台接种操作和增殖培养试验。

1.2.3 消毒器与酒精灯比较

以酒精灯进行消毒为对照, 处理为作者自制的电热灭菌器。目前市场上已出售电热灭菌器, 但价格较高, 自己制作, 则成本较低, 制作方法为: 购买 300 W 电炉, 电炉上放长和宽分别比电炉大 4 cm 和 10 cm 的长方形铁片, 铁片两个宽边向上各垂直卷起 2 cm , 铁片和电炉丝之间用陶瓷片隔开, 以防止漏电, 再在铁片上盖上大小与电炉相近的“ $\cap$ ”形铁片, 以起保温作用, 灭菌时将器具放在铁片上。

1.2.4 剪接方式

按照植株顶端、中部和基部进行接种培养, 测定各部位生长情况。

1.2.5 接种苗数

以每瓶接种 10 苗为对照, 处理分别为 20 苗、

30 苗和 40 苗。

1.2.6 营养液补充

以不补充营养液为对照, 处理补充 MS 营养液 (不含琼脂, 蔗糖浓度为 $30\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$), 每瓶 $10\sim 15\text{ mL}$ 。

1.2.7 炼苗时间控制

以培养室培养 13 d, 炼苗 7 d 为对照, 处理 a: 培养室培养 7 d, 炼苗 13 d; 处理 b: 培养室培养 0 d, 炼苗 20 d。炼苗选择在网室内进行, 加盖 70% 遮阳网, 试管苗移栽到塑料大棚中, 基质为土壤。

上述试验基本培养基为“MS 培养基+ $30\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 蔗糖”, pH 为 5.8, 每瓶分装 30 mL , 常规灭菌。培养室温度 20 ± 2 , 光照 2500 lx , 光照时间每天 $10\text{ h}^{[1]}$, 组培苗采用固体培养基茎段扦插培养。每个处理接种 30 瓶, 每瓶接种 20 苗, 培养 20 d 观察记录生长情况, 试验结果进行统计分析。

1.2.8 规模化生产运用

2007 年采用组培苗高效生产技术生产马铃薯组培苗, 生产情况与 2005 年作比较。

2 结果与分析

2.1 卡拉胶和琼脂对组培苗生长及培养基成本的影响

培养基中卡拉胶浓度 $3.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 以上时, 培养基能凝固, 可以顺利进行接种扦插, $3.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 以下时, 由于培养基固化程度不好, 扦插中苗无法固定, 因此不能进行接种扦插。卡拉胶和琼脂对组培苗株高、茎粗、根长、根数及单株鲜重影响不显著, 可选择卡拉胶替代琼脂进行生产。另外, 卡拉胶浓度对组培苗生长影响不显著, 因此, 卡拉胶浓度 $3.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 就能满足组培苗正常生长。目前卡拉胶市场价格为 $90\text{ 元}\cdot\text{kg}^{-1}$, 琼脂粉为 $180\text{ 元}\cdot\text{kg}^{-1}$, 每升培养基使用 3.5 g 卡拉胶, 能节约成本 0.94 元, 可降低培养基成本 22% (表 1)。

表 1 卡拉胶和琼脂粉对组培苗生长影响

固化剂	生长增殖					培养基成本		
	株高 (cm)	茎粗 (mm)	根长 (cm)	根数 (根)	单株鲜重 (g)	折算成本 (元 $\cdot\text{L}^{-1}$)	与 CK 比降低 (元 $\cdot\text{L}^{-1}$)	与 CK 比率 (%)
卡拉胶 $3.5\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$	5.7	0.7	5.2	3.5	0.12	3.31		
卡拉胶 $7.0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$	5.4	0.71	5.1	3.5	0.11	3.62	0.94	- 22
琼脂 $7.0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ (CK)	5.4	0.71	5.2	3.5	0.11	4.25		

2.2 培养瓶规格对组培苗生长及接种效率的影响

1 号瓶每锅灭菌瓶数多，相比 2 号能降低灭菌成本，但瓶内空间有限，不利于苗增殖，当培养到 25 d，苗顶到瓶盖，打开瓶盖后，顶端部分伸出瓶口，剪苗时操作困难，容易造成污染；2 号瓶由于体积较大，有利于苗增殖；1 号瓶在接种时由于体积小，便于操作，能提高接种效率（表 2）。因此，1 号瓶作为壮苗用瓶较适合，2 号瓶作为增殖用瓶较适合。

2.3 消毒器与酒精灯对接种效率及劳动力成本的影响

马铃薯接种器具通常使用酒精灯消毒，消毒时间较长（2 min 以上完成单次灭菌），消毒不彻底。自制电热灭菌器每次可消毒 4 套工具，同时供两人交替使用，灭菌时间短（15 s 完成单次灭菌），灭菌彻底。在生产中使用灭菌器，能提高接种效率 60%，降低污染率 3%，降低劳动力成本 38.5%（表 3）。

表 2 培养瓶规格对生产组培苗的影响

培养瓶规格	灭菌瓶数（瓶·锅 ⁻¹ ）	接种效率（瓶·h ⁻¹ ）	培养 20 d 株高（cm）	培养 25 d 株高（cm）
1 号瓶	340	24	5.2	8.4
2 号瓶	240	20	5.2	9.7

表 3 酒精灯与灭菌器对接种效率及劳动力成本的影响

固化剂	接种苗数 （苗/d）	与 CK 比增加苗数 （苗）	与 CK 比率 （%）	污染率 （%）	劳动力成本		
					折算成本（元·苗 ⁻¹ ）	与 CK 比降低（元·苗 ⁻¹ ）	与 CK 比率（%）
灭菌器	3 840	1 440	60	4	0.01331	0.00832	- 38.5
酒精灯（CK）	2 400			7	0.02163		

2.4 剪接方式对组培苗生长的影响

同一植株不同部位生长速度和增殖倍数差别较大，中部生长最快，基部生长最慢，顶端增殖倍数最高，基部增殖倍数最低（表 4）。

因此，根据植株不同部位分别培养，能提高苗整齐度。要达到上述要求，接种时要讲究一定技巧。接种前，根据基础苗可转接的瓶数，在操作台前方放置相应数量的培养瓶，依次打开转接瓶，瓶盖放在培养瓶上，打开基础苗瓶盖，按植株部位依次往下剪，节段分别放入相应培养瓶中，最后将节段均匀插入培养基，盖好盖子，这样可以保证每瓶中的培养材料大致为同一部位，生长速度一致，培养后整齐度较好。

表 4 植株不同部位生长情况比较

部位	株高（cm）	节数（节）	增殖（倍）
顶端	4.8	7.7	7.7
中部	5.3	5.3	5.3
基部	4.1	4.2	4.2

2.5 苗数对组培苗生长及培养基成本的影响

接种苗数对组培苗株高、茎粗及培养基成本有影响，在生产中，株高影响增殖率，茎粗影响接种效率。丽薯 1 号接种 20 苗和 30 苗，对株高影响不大，但对茎粗影响较大，而对于丽薯 2 号，对株高和茎粗影响均较大。两个品种接种 40 苗显著影响其株高和茎粗（表 5）。

表 5 苗数对组培苗生长的影响

处理	丽薯 1 号		丽薯 2 号		培养基成本 （元·株 ⁻¹ ）
	株高（cm）	茎粗（mm）	株高（cm）	茎粗（mm）	
CK	5.7	0.87	8.7	1.1	0.011
20 苗	5.3	0.72	8.3	0.97	0.0055
30 苗	5.2	0.65	6.7	0.78	0.0037
40 苗	4.4	0.62			

因此，要根据苗长势确定最佳接种苗数，才能在保证组培苗质量的同时，降低生产成本。例如：丽薯 1 号可以选择基础苗接种 20 苗，壮苗接种 30 苗的标准进行生产，丽薯 2 号可以选择基础苗接种

10~20 苗, 壮苗接种 20~25 苗的标准进行生产。

2.6 营养液对基础苗生长及生产成本的影响

培养一个周期后的基础苗留一个液芽能继续生长, 但由于培养基营养降低, 株高和茎粗较低, 补充营养液后, 可保其正常生长, 显著提高株高和茎粗, 起到基础苗增殖效果 (表 6), 从而, 可以减少基础苗接种数量, 降低生产成本。在试验中发现, 营养液补充一次对苗生长效果最好, 补充第二次进行第三阶段增殖时, 组培苗生长缓慢, 同时出现畸形苗, 原因可能是生长过程中排向培养基的代谢产物长期积累对苗生长起抑制作用。

表 6 营养液对基础苗生长的影响

营养液	株高 (cm)	茎粗 (mm)	增殖 (倍)
补充	7.7	0.84	7.2
CK	4.8	0.71	5.1

2.7 炼苗时间对组培苗生长及生产成本的影响

炼苗时间长短对组培苗质量有显著影响。在生产周期内, 恰当的炼苗时间能增加组培苗茎粗和单

位鲜重 (单位鲜重是指组培苗每个单位长度的茎及叶鲜重), 提高移栽成活率, 但过长的炼苗时间导致植株矮小, 不便于移栽, 另外, 由于污染造成苗死亡率也显著增加 (见表 7)。

所以, 适当缩短室内培养时间, 延长炼苗时间能提高组培苗质量, 同时, 提高培养室使用效率, 降低生产成本。作者对 25 个马铃薯品种进行了室内培养和炼苗试验, 得出马铃薯生产周期通常为 20~25 d, 室内培养时间控制在 5~7 d, 炼苗时间控制在 15~18 d。

2.8 规模化生产运用

综合运用上述试验成果, 2007 年扩繁马铃薯组培苗 35 万苗, 组培苗生长健壮, 整齐度好, 容易移栽, 大棚内移栽成活率达到 96.2%, 生产成本为 6 509 元, 其中培养基成本为 1 952 元, 劳动力成本为 4 557 元。2005 年按照传统方法进行生产, 生产组培苗 7 万苗, 移栽成活率为 90.6%, 生产成本为 2 931 元, 其中培养基成本为 734 元, 劳动力成本为 2 187 元。2007 年生产情况与 2005 年相比, 移栽成活率提高 5.6%, 生产成本降低 55.6%。

表 7 培养室培养时间及炼苗时间对组培苗质量的影响

处理	株高 (cm)	茎粗 (mm)	单位鲜重 (g·cm ⁻¹)	炼苗期苗死亡率 (%)	移栽成活率 (%)
a	5.2	1.2	0.029	5	96
b	3.8	1.25	0.029	16	96
CK	6.8	0.81	0.023	3	91

3 结 论

(1) 在组培苗生产成本中, 劳动力成本往往容易被忽视, 要有计划、有目的地加强工人操作熟练程度锻炼, 巧妙运用各种接种技巧, 才能提高工作效率, 降低组培苗生产成本。

(2) 培养基成本在马铃薯组培苗生产成本中也占有一定比重, 有报道介绍使用液体静置微繁技术^[3]降低成本, 作者认为, 在生产中有其弊端: 如组培苗长势不整齐, 成株率低, 培养过程中培养液蒸发过大等, 相比固体培养基总体生产效率较低, 在规模化生产中, 增殖和壮苗还是要选择固体培养基。

(3) 马铃薯试管苗高效生产涉及许多生产技术和生产技巧, 生产中要综合考虑各个环节, 才能降低成本。

[参 考 文 献]

[1] 袁正仿, 张苏锋, 王广铭, 等. 马铃薯脱毒种薯的工厂化生产 [J]. 信阳师范学院学报 (自然科学版), 2003, 16(1): 83-84.

[2] 谢庆华, 吴毅歆, 张勇飞, 等. 固形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.

[3] 牛爱国, 侯丽娟, 包永估, 等. 马铃薯组培苗液体静置培养微繁技术研究 [J]. 马铃薯杂志, 1999, 13(2): 75-78.

[4] 张宇宏, 赵菊香. 脱毒马铃薯快繁技术研究 [J]. 陕西农业科学, 2000(11): 39-40.

[5] 王一航, 仲乃琴, 齐恩芳, 等. 马铃薯脱毒苗全日光培养工厂化快繁技术研究 [J]. 中国马铃薯, 2001, 15(6): 358-361.

[6] 赵佐敏, 艾勇. 马铃薯组培脱毒试管苗繁育技术 [J]. 中国马铃薯, 2003, 17(5): 301-304.