

中图分类号: S532 文献标识码: B 文章编号: 1672-3635(2006)04-0238-02

影响培养基凝固程度因素的分析

邱广伟, 夏平, 刘卫平, 孙秀梅, 李玉华, 毛彦芝

(黑龙江省农业科学院马铃薯研究所, 黑龙江 克山 161606)

植物组织培养中, 基质的使用是必不可少的。当前主要采用的是固体基质培养法, 因为它既能作为外植体的生长提供必须的养分, 又能起到很好的支撑作用。在植物组织培养过程中, 适宜凝固程度的固体培养基有利于试管苗、试管薯的健康生长, 提高外植体的成活率, 达到预期的培养目标而且接种操作简便省时省力。本文将对影响培养基凝固程度的一些因素进行分析, 摸索出最佳的培养基凝固度, 为工厂化生产提供必要的指导。

1 琼脂浓度的影响

以 MS 培养基为基本培养基, 用琼脂条为凝固剂, 琼脂浓度设有: 8.0、8.4、8.6、8.8、9.0 g·L⁻¹, 每个处理重复 3 次。先取 800 mL 蒸馏水倒入加热锅中, 然后加入琼脂条, 在电炉上加热, 并不时的

搅拌, 同时按 MS 培养基配方准确称取培养基各母液^[1-2]和 30 g·L⁻¹ 的白砂糖, 当琼脂完全溶解时加入, 混匀溶解后定容, 将 pH 值调至 5.8, 最后分装到试管。置于 121 高压灭菌锅内灭菌 15 min, 室温下自然凝固后观察。凝固程度分为 0 级 (未凝固)、1 级 (轻微摇晃易碎裂)、2 级 (轻微晃动不易碎裂)、3 级 (用力晃动易碎裂)、4 级 (用力晃动不易碎裂)。

表 1 说明: 在 pH=5.8 时, 随着琼脂浓度的增加, 培养基凝固程度也再增强; 当琼脂浓度达到一定时, 凝固程度保持不变。也有文章报道, 在 pH 为 4.0~8.0 时, 各浓度的培养基凝固等级在一定的琼脂浓度内随浓度的增加而增高。在 pH 较高 (5.0~8.0) 时琼脂浓度是影响凝固等级的主要因素。

表 1 当 pH=5.8 时, 不同琼脂浓度对凝固度的影响

琼脂浓度 g·L ⁻¹	外植体	凝固程度	接种易操作性	培养效果
8.0	马铃薯茎段	0 级	难	一般
8.4	马铃薯茎段	2 级	易	良好
8.6	马铃薯茎段	3 级	易	良好
8.8	马铃薯茎段	4 级	易	良好
9.0	马铃薯茎段	4 级	易	良好

2 pH 的影响

植物组织培养中所用的培养基一般是一些非缓冲性体系, 培养基成分加入的多少, 对 pH 的影响不大。但是, 有报道: 当 pH=2.0 时, 2.5~8.0 mg·L⁻¹ 琼脂 (粉) 浓度培养基的凝固程度均为 0 级; 且

pH 较低 (<4.0) 时, pH 是影响凝固等级的主要因素。经高温蒸汽灭菌后, 培养基的 pH 值均有下降, 下降的幅度与植物生长调节剂的种类和浓度、蔗糖浓度有关。一般 pH 值会下降 0.2~0.5。玻璃试管的质地、所用蒸馏水的水质也会影响 pH。这对于对 pH 值敏感的植物来讲, 是至关重要的; 对培养基的凝固程度也有一定的影响, 进而影响到愈伤组织的形成及组织、器官的形态建成, 也将严重影响植物的物质与能量代谢, 影响培养效果。

收稿日期: 2005-12-29

作者简介: 邱广伟 (1978-), 男, 研究实习员, 从事马铃薯组织培养与病毒检测工作。

中图分类号: S532 文献标识码: B 文章编号: 1672-3635(2006)04-0239-02

马铃薯试管薯生产技术规程

何建栋¹, 刘慧萍¹, 刘淑芳², 牛小宁¹

(1. 宁夏西吉县马铃薯生产研究所, 宁夏 西吉 756200; 2. 宁夏西吉县种子繁育管理站, 宁夏 西吉 756200)

西吉县马铃薯生产研究所自 1998 年创建以来, 一直通过试管苗移栽成基础苗, 然后在基础苗上剪尖扦插的方法生产原原种, 在多年的生产过程中出现两个缺点, 一是试管苗移栽基础苗时成活率不高, 二是在剪尖扦插的过程中脱毒苗易被染病。因此, 在 2003 年我们设想用试管薯代替基础苗生产原原种, 并尝试性进行生产试管薯, 结果获得了试管薯 50 万粒, 2004 年扩大生产量收获试管薯 300 万粒, 2005 年 1~3 月份又成功收获试管薯 100 万粒。现将我们探究和总结出的试管薯生产技术介绍如下, 以供马铃薯脱毒研究和生产者参考应用。

1 应用脱毒试管薯的优越性

试管薯是在培养瓶内通过诱导, 在试管苗叶腋

收稿日期: 2006-03-30

作者简介: 何建栋 (1975-), 男, 高级农艺师, 主要从事马铃薯生产技术的研究与开发。

3 铁盐浓度的影响

铁盐是 MS 培养基的组分, 也是植物生长发育的必须元素。铁盐浓度对 MS 培养基的 pH 值影响不大, 但对培养基的凝固程度却影响很大。一般 MS 培养基中铁盐浓度为 $27.8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 琼脂浓度为 $8 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 培养基的凝固程度是 0 级, $8.4 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 培养基的凝固程度是 2 级; $8.6 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 培养基的凝固程度是 3 级, $8.8 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 以上培养基的凝固程度是 4 级; 当铁盐浓度为 $69.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 琼脂浓度为 $8 \sim 14 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 培养基的凝固程度一直处于 0 级。说明在 pH 5.8 时, 铁盐浓度的高低也是影响培养基凝固程度的一个主要原因。具体的变化情况有待进一步

间形成的, 一般直径为 2~10 mm 大小的幼嫩块茎。试管薯不仅具有试管苗的所有优点, 而且具有试管苗无法比拟的优越性: 脱毒试管薯生产不受气候影响, 可以常年大规模工厂化快速生产; 脱毒试管薯繁育过程中不被病毒或其他病菌侵染, 最大限度保证了脱毒薯的质量; 试管薯比试管苗更容易栽培、管理, 且成活率高; 体积小便于贮藏、交流和运输。

2 生产试管薯的必备条件

2.1 黑暗培养室

大小根据试管薯生产量和生产单位的具体情况而定, 我所采用的黑暗培养室面积是 20 m^2 , 室内装有空调、换气扇、培养瓶摆放架, 房顶装有照明用日光灯、消毒杀菌用紫外灯和中途检查用绿色安全灯等。

2.2 低温贮藏室

我所在 200 t 的贮藏窖内选择了一个 8 m^2 的小

研究。

植物组织培养过程中, 培养基的凝固程度对作物的生长发育起很重要的作用。所以, 我们在培养基的制备过程中要严格考虑琼脂浓度、pH 值、铁盐浓度等影响因子, 做好培养基凝固度的研究, 为工厂化生产和降低生产成本, 提供必要的理论指导。通过实验研究发现, $8.4 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的琼脂 (条) 浓度即可满足外植体生长的需要, 但实际要根据琼脂条的质量优劣和含水量而适量的增加或减少; 同时, 要注意 pH 值的影响程度, 一般在灭菌前后要把 pH 值提高 0.2~0.5, 铁盐浓度控制在 $27.8 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 左右。培养基的凝固程度的影响因子要根据具体情况进行研究。