

马铃薯脱毒试管苗优质高效低成本生产技术体系

王梅春, 连荣芳, 胡西萍, 马秀英, 汪仲敏, 姚彦红, 孟红梅, 边芳, 马海涛

(甘肃省马铃薯工程技术研究中心, 定西 743000)

中图分类号: S532 文献标识码: B 文章编号: 1672-3635 (2004) 04-0240-04

甘肃省为全国第三大马铃薯产区, 种植面积已达 46 万 hm^2 , 占全省马铃薯种植面积近 1/2 的定西地区, 近年来马铃薯产业化开发方面得到了迅猛发展, 座落在国家农业科技园区内的甘肃省马铃薯工程技术研究中心(以下简称中心), 建立了国内规模最大的、具有先进水平的脱毒马铃薯种薯生产基地, 建成了 260 m^2 的组培室, 1000 m^2 的自然光照培养室, 配备了较为先进的病毒检测和质量检测仪器设备, 有 10000 m^2 的日光节能温室和 20000 m^2 的钢架防虫网棚, 达到了年产脱毒苗 2000 万株, 年生产原原种(微型薯)3000 万粒的生产规模。

中心直接用脱毒瓶苗通过无土栽培中的无基质栽培(雾培)和基质栽培生产脱毒原原种(微型薯), 因此, 脱毒苗的生产成本不仅直接决定着原原种(微型薯)的商品价格和市场竞争能力, 而且决定着生产单位的经济效益。为了提高微型薯在市场上的竞争力, 中心开展了从优良品种的引进筛选、茎尖脱毒、病毒检测、脱毒苗组培快繁、微型薯生产、原种扩繁等一系列种薯生产各环节的优质高效生产技术研究。

1 马铃薯脱毒试管苗的制取

1.1 脱毒材料的选择及催芽

马铃薯茎尖脱毒材料, 最好是在生长季节选择具有原品种典型特征的单株系选材料, 并鉴定其已感染那几种病毒。收获后, 选择典型薯块在温室或培养箱内进行催芽处理。

1.2 茎尖剥离、消毒及接种

待芽萌发长至 2~3 cm 时, 选取粗壮的芽用解

剖刀切下, 用自来水冲洗, 然后用酒精或次氯酸钠、 HgCl_2 等进行消毒处理, 经消毒处理后放入无菌水中反复冲洗, 将其放在无菌滤纸(或纱布)上吸干水分, 在解剖镜下用解剖刀、解剖针剥取带一个叶原基的茎尖(0.2~0.4 mm), 迅速按无菌操作接入茎尖组织脱毒培养基中。培养一段时间后统计成活率及污染率。

用 X 光、紫外线、高温处理脱毒材料; 或在培养基中加入病毒唑等, 可使病毒失活钝化, 显著提高产生无病毒植株的成功率。

1.3 茎尖培养

接种于试管(或三角瓶)中的茎尖放于培养室内培养, 培养室温度 25℃左右, 光照强度 2000~3000 lx, 光照时间 16 h/d。在条件适宜的情况下, 30~40 d 即可看到明显伸长的小茎, 叶原基形成可见的小叶, 这时可转入无生长调节剂的培养基中, 小苗继续生长并形成根系, 4~5 个月后即能发育成 3~4 个叶片的小植株, 将其按单节切段继续扩繁, 扩繁至一定数量后进行病毒检测。

2 病毒检测

获得无菌试管苗后, 以单株为系进行扩繁, 苗数达 150~200 株时, 随机抽取 3~4 个样本, 每个样本 10~15 株进行病毒检测, 一般用 ELISA(酶联免疫吸附试验)、血清学方法和指示植物鉴定法。从中筛选出脱毒试管苗用于继续繁殖基础苗。以后, 在每批组培苗扩繁前进行一系列检测。

3 自然光照培养室结构特点及光、温调控

自然光照培养室为胖龙公司生产的 WJK-108 型聚酯板温室。温室采用热镀锌钢制骨架, 进口聚碳酸酯中空板覆盖材料, 铝合金型材密封卡件。

收稿日期: 2003-12-04

作者简介: 王梅春(1961-), 女, 研究员, 主要从事马铃薯脱毒苗组织培养快繁及脱毒微型薯生产。

它一跨三尖顶(10.8 m), 共有三跨, 使用面积1036.8 m²。温室基部1.2 m为砖墙, 正面、侧面及屋顶为中空聚酯板覆盖, 正面安装四个风机, 后面为水帘, 屋顶上部安装有遮阳幕, 室内四周及中间安装有暖气片。通过风机、遮阳幕、水帘和暖气调节室内的光照强度和温度。

室内沿南北方向平行排列18排共计160个培养架, 培养架长120~180 cm, 宽60 cm, 高200 cm, 每架5~6层, 层间用1.5 cm × 1.5 cm 钢丝网相隔, 层间距25~30 cm。培养室一次可放置直径6 cm的250 mL果酱瓶12万个, 脱毒苗300~360万株, 设计年生产脱毒苗2000万株以上。

3.1 培养条件

培养室温度白天保持在20 ± 5℃, 相对湿度保持在80%左右, 光照强度保持在3500~35000 lx, 光照时间10~15 h/d。

自然光照培养室由于空间大, 空气流通顺畅, 光照充足, 马铃薯脱毒苗生长健壮, 不用炼苗即可直接用于温室移栽, 成活率达99.8%以上。

3.2 光照强度调控

自然光照培养室内平均光照强度夏、秋两季晴天中午可达到4.5万lx以上, 冬季晴天中午可达到1.2万lx以上, 光照强度除利用遮阳幕调节外, 还可利用培养架不同层次及同一层次培养瓶的摆放数量来调节进光量。据2002年4月9日、12日测定, 培养架从上至下不同层次的透光强度见表1。在脱毒苗培养过程中, 将新接的及用于做基础苗的瓶苗放置在培养架的下层, 有利于新接茎段的萌发和基础苗的再繁殖; 将培养一周以上的用于移栽的瓶苗放置在培养架的上层, 可使瓶苗的节间缩短, 叶大茎粗, 有利于形成壮苗。

表1 培养架不同层次的光照强度(lx)

层次 从上至下)	阴天 11:00)	晴天 16:00)
1	16500	34200
2	13000	23380
3	12000	10320
4	11300	8000
5	10000	5460
6	80000	3900
平均	11800	14210

注: 各层次均摆满瓶苗。

3.3 温度调控

中心所在地定西, 海拔为1920 m, 气候冷凉,

年平均气温6.3℃, 夏季极端高温32℃, 一般温度都在30℃以下, 昼夜温差较大。培养室降温主要通过遮阳幕、风机、水帘单独使用或同时使用即可达到目的。一般在春季通过遮阳幕即可实现降温; 在秋末夏初温度较高时, 开启风机和水帘后面的推拉窗, 使培养室内的空气形成对流降温; 在夏季温度最高时, 3种设施同时使用, 主要是水帘的作用, 水流在水帘内的循环通过风机的作用将湿空气形成对流; 冬季加温通过暖气, 白天晴天一般不需要加温, 阴天和夜晚通过调节暖气开放次数和开放时间保持室内温度。

通过上述措施, 自然光照培养室一年四季基本可满足马铃薯脱毒瓶苗生长对温度的要求。

4 自然光照条件下脱毒苗培养

在人工光照培养条件下, 工厂化扩繁马铃薯脱毒试管苗的生产过程中, 经过试验, 在MS培养基中以食用白砂糖代替蔗糖, 用自来水代替蒸馏水, 对马铃薯脱毒试管苗的生长无不良影响, 降低了一部分成本; 经试验, 在自然光照培养条件下完全适用, 而且白糖用量可适当减少。在成功经验的基础上, 根据生产中存在的问题及自然光照培养的特点, 对不同品种脱毒苗的培养技术进行了研究。

4.1 瓶苗密度对脱毒苗生长的影响

为了进一步探索自然光照培养条件下瓶苗密度对脱毒试管苗生长的影响, 我们在夏季和春季分别进行了瓶苗密度试验。

试验在4月和8个月进行, 参试品种为大西洋、夏波蒂、费乌瑞它和陇薯3号4个品种的脱毒试管苗, 培养瓶直径为6 cm, 250 ml, 接种密度为22、27、32单节茎段/瓶(每瓶保苗20、25和30株), 每品种每个处理各接种20瓶, 置于自然光照培养室内培养, 于接种后的第15 d每品种每个处理各取5瓶, 进行株高、茎粗、有效节间的测量。试验结果表明, 接种密度由22株/瓶增至27株/瓶, 无论在春季还是在夏季, 对各品种的各项生长指标都无影响, 当增至32株/瓶时, 在夏季, 大西洋和夏波蒂由于叶片较大, 各项生长指标有所降低。因此, 以27株/瓶较为适宜, 在春、秋季27、32株/瓶对其生长无显著影响; 费乌瑞它和陇薯3号在春、夏、秋季都可32株/瓶。

表 2 瓶苗密度对脱毒苗生长的影响

参试 品种	瓶苗密 度 (株)	春 季			夏 季		
		株高 (cm)	茎粗 (cm)	有效节 间 (节)	株高 (cm)	茎粗 (cm)	有效节 间 (节)
大西洋	22	3.55	0.12	3	3.55	0.13	3
	27	3.54	0.12	3	3.53	0.11	3
	32	3.53	0.11	3	3.50	0.10	2
夏波蒂	22	3.17	0.14	3	3.18	0.14	3
	27	3.19	0.13	2	3.17	0.13	2
	32	3.17	0.13	2	3.10	0.11	2
费乌瑞它	22	3.59	0.11	3	3.58	0.12	3
	27	3.57	0.11	3	3.57	0.11	3
	32	3.58	0.10	3	3.57	0.11	3
陇薯 3 号	22	3.58	0.09	3	3.59	0.09	3
	27	3.60	0.09	3	3.57	0.10	3
	32	3.59	0.08	3	3.58	0.08	3

4.2 碳源浓度对脱毒试管苗生长的影响

供试材料为大西洋、夏波蒂的脱毒苗。

MS 培养基的碳源浓度分别为 12.5, 15.0, 17.5, 20.0, 22.5, 25.0 g/L 的白砂糖, 培养条件为 5000~10000 lx, 12 h/d。试验结果表明, 在一定范围内, 随着碳源浓度的增加, 脱毒试管苗各项生长指标明显增强, 从降低成本和壮苗指标综合评价, 在大量扩繁移栽苗时, 碳源浓度以 22.5 g/L 较为适宜, 用于扩繁基础苗时 25.0 g/L 较为适宜。在自然光照培养条件下, 适当降低 MS 培养基中的碳源浓度, 更有利于马铃薯脱毒苗的生长。

4.3 液体培养基对脱毒试管苗生长的影响

在脱毒试管苗的生产成本中, 琼脂占固体 MS 简化培养基成本的 59.5%, 且配制固体培养基需要熬煮, 接种时需要将每个茎段都插入培养基中, 移栽时要洗去培养基, 费电费工费时, 而液体培养基在配制、接种、移栽的各环节的操作都相对简单方便。为了降低成本, 我们在扩繁马铃薯脱毒试管苗的过程中, 采用固体和液体培养交替进行的方法。对基础苗和基础苗的保存期采用固体培养, 在扩繁高峰期, 即大量移栽时期, 采用浅层液体培养移栽苗。

在试验过程中观察发现, 固体培养的大西洋脱毒苗在接种 4~5 d 后可见腋芽的萌发, 而液体培养的则在 10 d 后腋芽才萌发, 且成株率较固体培养的低 20%~25%。在液体培养中, 腋芽一旦萌发出来, 其生长速度明显快于固体培养的幼苗。拌种 15 d 后进行调查, 其各项生长指标已与固体培养的差别不大, 20 d 后, 其株高、根长分别高于固体培养的 0.38 cm、0.52 cm, 且叶色浓绿, 植株粗壮。

表 3 不同培养方式对脱毒苗生长的影响

参试品种	培养方式	培养时间 (d)	生长指标		
			株高 (cm)	根长 (cm)	成株 (%)
大西洋	固体培养	10	1.43	1.01	59.8
		20	4.39	4.80	91.2
夏波蒂	液体培养	10	0.98	0.96	31.2
		20	4.77	5.32	80.1

4.4 NAA 在自然光照培养条件中的应用

生产中我们发现, 在自然光照培养条件下, MS 培养基不利于脱毒苗的生根, 主要表现为生根较慢, 根数较少, 为了使脱毒苗正常生长, 以大西洋脱毒苗为供试材料, 在简化 MS 培养基中加入不同浓度的 NAA, 设 M₁~M₆ 6 个处理; 培养瓶为 150 mL 的三角瓶, 每瓶接种 20 个带一个腋芽的单节茎段, 自然光下培养, 接种 5、8、11、14、17 和 20 d 时, 观察其对脱毒苗生根的影响。

M₁: MS+25 g/L 白糖 + 6 g/L 琼脂(CK)

M₂: MS+25 g/L 白糖 + 6 g/L 琼脂 + 0.01 mg/L NAA

M₃: MS+25 g/L 白糖 + 6 g/L 琼脂 + 0.03 mg/L NAA

M₄: MS+25 g/L 白糖 + 6 g/L 琼脂 + 0.05 mg/L NAA

M₅: MS+25 g/L 白糖 + 6 g/L 琼脂 + 0.07 mg/L NAA

M₆: MS+25 g/L 白糖 + 6 g/L 琼脂 + 0.09 mg/L NAA

表 4 不同 NAA 浓度对脱毒苗生根的影响

培养时间 (d)	项目	培养基					
		M ₁	M ₂	M ₃	M ₄	M ₅	M ₆
5	根数 (条)	0	0	1.12	2.11	0	0
	长 (cm)	0	0	0.13	0.21	0	0
8	根数 (条)	0	1.50	2.81	2.90	2.42	2.31
	长 (cm)	0	0.30	0.50	0.82	0.40	0.30
11	根数 (条)	1.11	2.89	2.89	3.13	2.86	2.84
	长 (cm)	0.30	0.70	1.01	1.43	0.80	0.60
14	根数 (条)	3.06	3.03	3.37	3.63	3.32	3.28
	长 (cm)	0.50	0.90	1.53	1.84	1.10	0.98
17	根数 (条)	2.77	3.34	3.85	4.39	3.79	3.47
	长 (cm)	1.12	1.89	3.27	3.98	2.23	2.12
20	根数 (条)	2.82	3.80	4.09	4.54	4.00	3.62
	长 (cm)	2.19	3.02	4.39	4.39	3.35	3.00

表 4 结果表明, NAA 浓度在 0.01~0.09 mg/L 范围内, 对大西洋脱毒苗的生根都有一定的作用, 最适宜的浓度为 0.05 mg/L。

5 控制污染的措施

在工厂化生产中, 污染是不可避免的我们采取

马铃薯淀粉加工业原料薯的生产现状及发展建议

王小芬

(天津顶峰淀粉开发有限公司, 天津 300457)

中图分类号: S532 文献标识码: A 文章编号: 1672-3635 (2004) 040243-02

2003年8月7~27日, 作者代表天津顶峰淀粉开发有限公司, 对我国北方主要的马铃薯淀粉加工厂商的原料薯生产现状进行了考察, 现整理如下, 希望能与从事马铃薯产业的同仁共同探讨。

1 原料薯生产的现状

我国马铃薯种植区域分为一季作区(东北、西北、内蒙等), 二季作区(华北、长江流域等), 西南混作区(云、贵、川等), 南方冬作区(两广、福建等)。各省均有种植, 分布不均。主要产区为北

方一季、西南混作区, 这两个种植区占全国总种植面积的85%以上, 而北方一季区约占全国总种植面积的50%。这次考察的原淀粉厂原料薯生产区域均在北方一季区, 包括黑龙江的加格达奇、克山, 甘肃定西地区, 内蒙武川、中旗, 山西五寨、朔州, 河北围场等。总体上讲, 各种植区都具有如下优势: (1) 气候环境优势。气温凉爽, 昼夜温差大, 降雨集中, 日照充足等。(2) 科技优势。各种植区都有农业科研所作科技支持, 其中克山、围场、定西农科所都是国家级良种繁育基地, 曾先后选育高产、抗病、高淀粉含量马铃薯品种数十个, 定西农科所最近选育的陇薯3号, 淀粉含量达24%(当地)。(3) 初步形成了以马铃薯加工为龙头企业的马铃薯产业化模式。科研—种薯生产—原

收稿日期: 2003-11-22

作者简介: 王小芬(1971-), 女, 天津顶峰淀粉开发有限公司工程师, 从事原料研究开发工作。

的各项措施的目的是将污染减少到最低限度。试管苗通常由细菌或真菌污染。细菌性污染, 主要是工作人员使用了未经充分消毒的工具, 或者由于呼吸排出的细菌或消毒不彻底引起的。真菌污染一般是空气污染。针对造成污染的原因, 对操作人员进行上岗前培训, 严格执行无菌操作规程, 对镊子、剪刀、纱布等做到每人两套, 轮换使用, 每天进行一次高压消毒, 同时在培养基中加入一定量的抗菌素, 可基本杜绝细菌污染。

接种室在使用前先打开室内和超净台上的紫外灯, 杀菌20 min, 再用70%的酒精喷雾降尘, 接种前用70%的酒精或新洁尔灭擦拭瓶子后放入超净台上, 接种时将瓶子斜拿, 瓶口放在火焰上方, 阻止空气中的真菌进入瓶内。

接种室和培养室实行专人管理, 定期用甲醛和高锰酸钾消毒, 严禁非工作人员入内。

6 结论与讨论

a. 马铃薯脱毒试管苗的生产和应用已成为现代生物技术领域及现代农业生产的一项基本操作手段, 是脱毒马铃薯原原种(微型薯)大规模产业化生产的前提, 但在实际应用中普遍存在脱毒苗生产成本较高的问题。实践证明, 我们所采用的降低脱毒苗生产成本的技术措施简单易行, 便于操作, 适合工厂化大规模的脱毒马铃薯试管苗生产。

b. 通过研究逐渐总结出了全日光条件下, 不同季节培养基的配制及脱毒苗的培养技术, 对促进马铃薯产业化开发提供了技术依据。

c. 随着市场对各种专用型马铃薯品种的需求量逐渐增加, 为了加速适应市场需求的优良品种的推广应用, 必须提高商品薯的产量和品质。在不远的将来, 脱毒种薯必将成为马铃薯生产用种的主体。