

马铃薯脱毒试管苗液体静置培养过程中玻璃化的预防及壮苗措施

辛国斌，陈远达

(重庆市勉仁职业中学，重庆 北培 400700)

摘 要：应用液体静置培养技术大规模扩繁脱毒马铃薯试管苗过程中，由于营养、水分、培养条件等诸多因素的影响，稍有不慎就会导致玻璃化试管苗的出现，轻则无法扩繁，重则造成资源的浪费和损失。笔者主要从培养基及培养条件的改进着手进行了大量的试验，取得了很好的应用效果。

关键词：液体静置培养；玻璃化；植物生长调节剂；半流质培养基
中图分类号：S532 **文献标识码：**A **文章编号：**1672-3635 (2003) 02-095-02

1 前 言

玻璃化苗是在试管苗进行多次重复扩繁和液体培养条件下，试管苗变成水渍状半透明的现象，它可严重阻碍试管苗的进一步扩繁。其发生原因主要是培养基中水分含量过多， NH_4^+ 与 Ca^{2+} 水平不平衡。从生理上讲，可能受乙烯、植物光呼吸途径和磷酸化糖途径的影响。在湿度很大的状况下，活化 ACC 酶、生长素在转录水平上诱导 ACC 合成酶的合成。另外，ACC 转化乙烯是由一种氧化酶所催化，一般称为乙烯形成酶 (EFE)，它与其底物 ACC 的亲合力很高，从而引起玻璃化。

笔者在 2001 年的规模性扩繁脱毒马铃薯新品种试管苗过程中出现了大批量的玻璃化试管苗，严重的阻碍了生产的正常进行，为此，进行了一系列的研究改进，在生产上取得了良好的效果。

2 材料与方 法

2.1 供试材料

供试材料为已经过病毒检测确认无毒的马铃薯品种“鄂马铃薯 3 号”，并采用液体静置培养方法进行规模扩繁。

2.2 试验方法

采用重新平衡营养液中 NH_4^+ 与 Ca^{2+} ，增加营养液中糖的含量，改进壮苗措施，适当添加琼脂用量，加强培养条件的控制。

3 结果与分析

3.1 重新平衡营养液中 NH_4^+ 与 Ca^{2+}

以 MS 培养为基础和对照，用半量式试验法对 NH_4^+ 与 Ca^{2+} 进行两种因素三水平九处理试验，并重复三个培养周期，每处理接种 10 瓶，每瓶 20 苗，2 周后以出现玻璃化现象的有无及轻重程度进行定性统计。病情指数用无、轻、中、重四级表示。

从试验结果可以看出：通过改变培养基某些营养元素的用量，也即在液体培养基中增加 Ca^{2+} 量，

参 考 文 献

[1] 马 莺. 马铃薯加工业的现状与发展前景 [J]. 中国马铃薯, 2001, 15 (2): 123—125.

[2] 王立贵, 李云海. 云南临沧脱毒马铃薯品种产量比较试验 [J]. 中国马铃薯, 2001, 15 (1): 22—26.

[3] 吕世安. 鄂马铃薯 3 号在西南地区的产量表现 [J]. 湖北农业科学, 2001, (5): 34—35.

[4] 敖玉泉, 夏德术, 张绪华. 鄂西南山区马铃薯高产栽培模式研究 [J]. 湖北农业科学, 2000, (4): 35—36.

[5] 刘介民, 余柏胜, 袁明山, 等. 恩施州马铃薯连年增产产原因及潜力分析 [J]. 中国马铃薯, 2001, 15 (1): 34—37.

相对降低 NH_4^+ 量，重新平衡 NH_4^+ 与 Ca^{2+} 的水平，可以在很大程度上改善试管苗的生长状况，使试管苗的生长趋于正常，从而有效的减轻玻璃化的发病程度。

表 1 NH_4^+ 与 Ca^{2+} 两因素对试管苗玻璃化的综合影响性状

NH_4^+ \ Ca^{2+}	B_1 (1.25g/L)	B_2 (1.50g/L)	B_3 (1.75g/L)
A_1 (1.25g/L)	A_1B_1 (轻)	A_1B_2 (无)	A_1B_3 (无)
A_2 (1.50g/L)	A_2B_1 (中)	A_2B_2 (中)	A_2B_3 (轻)
A_3 (1.75g/L)	A_3B_1 (重)	A_3B_2 (重)	A_3B_3 (中)

表 2 不同糖水平的试管苗生物学产量 (mg/瓶)

处 理	CK (30g/L)	A (30g/L)	A_2 (45g/L)	A_3 (60g/L)	A_4 (90g/L)	备注
试验均值 (mg/瓶)	1750	2050	2110	1430	420	Ca^{2+} (1.75g/L) NH_4^+ (1.25g/L)

3.3 改进壮苗措施

因笔者长期将培养温度控制在 25~28℃，在此条件下，试管苗茎段抽生较快，但节间细长，苗势较弱，于生产上不利炼苗。我们应用生长调节剂 B_9 来调节试管苗的节间长短及茎段的粗壮程度，试验中， B_9 浓度以 5 mg/L 为一个梯度，设 4 个梯度。

表 3 不同浓度 B_9 对壮苗的影响

水平	CK (无)	5 mg/L	10 mg/L	15 mg/L	20 mg/L
节间长短 (mm)	10.8	10.2	8.6	6.4	2.4

为更加全面解决玻璃化问题，配合应用 B_9 来控制试管苗节间长短和茎的粗度，从而有利于试管苗的正常生长。从上述的试验来看， B_9 浓度在操作中以 10 或 15 mg/L 为宜。 B_9 用量过低，效果不明显；过高，节间簇生状，不利快繁操作。

3.4 适当添加琼脂的用量

添加一定量的琼脂，将培养基制作成半流质的状态，既可以起到固定支持试管苗的作用，又可以敛收水分。其制作方法是：通过少量试验，以掌握最佳的琼脂配比，将培养基制成胶质状态，使其成为半流质。

3.2 增加营养液中糖的含量

在上述改进后的培养基配方中，对糖以半量式进行单因素四水平处理试验，以找到更加壮苗的配方，在本因素设计中，每处理接种 10 瓶，每瓶 20 苗，并以生物学产量来衡量其生长势及健壮程度。

从上述试验可以看出：适当增加营养液中糖的用量，可以弥补在培养室弱光下有机营养不足的情况，使试管苗长势强健，外观上表现为叶绿素增加，组织老化。

因各厂家生产的琼脂质量不同，故在实际操作中，须事先进行少量的试验。

3.5 加强培养条件的控制

据资料介绍，马铃薯试管苗在 14~16 h/d 的日照下，比在 10~12 h/d 下长度高 20% 以上，同时控制培养温度 $20 \pm 2^\circ\text{C}$ ，否则在接近 30°C 高温下极易徒长，节间变得细长，茎段脆嫩纤细，不利于扩繁，也不利于出苗炼苗。

4 结 论

采用改进后的配方，基本上没有出现玻璃化试管苗的现象，而且试管苗的生长质量较好，叶片较厚，茎段较粗，气生根多、密，茎叶叶绿素含量多，色深。其原因有以下几点：

①改变了培养基中的 NH_4^+ 与 Ca^{2+} 水平，提高 Ca^{2+} 浓度，增强了试管苗的抗性；②增加了糖的用量，一方面提供了充足的碳水化合物，有利试管苗的生长，另一方面提高了培养基的水势，降低了试管苗组织内部的水势，增加了细胞干物质的含量；③去除了 6-BA (因 6-BA 有诱导试管苗玻璃化出现的可能)，增加 B_9 的用量，使其生长矮壮，并且促进了许多不定根的发生；④改变培养基制作，使培养基成为一种半流质培养基，充分利用了琼脂的固定和敛收水分的作用。使得试管中水分状况有一定程度的改善。