

脱水 MS 培养基及其在马铃薯脱毒试管苗中的应用

仪 宏¹, 王丽丽¹, 董秀平¹, 魏景芳¹, 沙惠琴²

(1. 河北科技大学生物科学与工程学院, 石家庄 050018; 2. 石家庄市珍极酿造厂)

摘要: 采用浸润分配及糖包盐隔离工艺, 以“倍力凝”代替琼脂, 制备出脱水 MS 培养基, 以马铃薯脱毒试管苗 Mela 为检验品种, 比较了脱水 MS 培养基与标准 MS 培养基对 Mela 生长的影响, 结果表明, 脱水 MS 培养基达到了标准 MS 培养基的培养效果, 而且还具有生长快、根系发达、茎叶粗壮等优势。

关键词: 脱水 MS 培养基; 马铃薯; 脱毒苗; 应用

中图分类号: S532

文献标识码: A

文章编号: 1001-0092 (2002) 05-269-03

目前, 利用组培技术工厂化生产马铃薯脱毒苗及微型种薯在我国已形成产业, 马铃薯脱毒苗的生产正在向农村基层扩展, 许多县、乡镇、公司和农户建立了组培点。在马铃薯脱毒苗的生产中, 一般采用 MS 培养基^[1], MS 培养基是 1962 年由 Murashige 和 Skoog 设计的, 要求配制精确, 通常需要先配制母液, 再用母液配兑而成, 整个配制过程需要多次称量、定容, 十分繁琐, 费工费时, 并且对操作人员有一定的技术素质要求, 一旦发生配置错误会造成较大的损失。因此, 简化培养基配制环节是发展马铃薯脱毒苗生产的迫切需求之一。针对这些问题, 我们在研制植物组培固化剂“倍力凝”的基础上, 研制开发了全脱水 MS 培养基, 进行了马

铃薯脱毒苗的培养试验。

1 脱水 MS 培养基的配制

1.1 脱水 MS 培养基的设想与目标

无激素 MS 培养基中共有 21 种组分 (见表 1), 通常 MS 培养基是用母液配兑的。一般情况下, 5 种大量无机营养按顺序溶解配制成 10 倍母液贮存, 微量无机成分配制成 100 倍母液, 微量成分中的铁盐和 Na₂EDTA 单独配制成 100 倍母液, 微量有机成分配制成 100 倍母液冰箱贮存。因此, 在实际配制 MS 培养基时, 需将以上 4 种母液加入蒸馏水中, 再称量加入蔗糖, 用水补足定容后, 加入生长激素母液, 调节 pH 值, 加入琼脂 (固化剂), 熬制后分装于玻璃瓶中灭菌、冷却备用。整个配制过程十分繁琐。而在细菌学检验中, 很早就

收稿日期: 2002-06-13

INFLUENCE OF COATING POTATO WITH 58% FUBOL WETTABLE POWDER ON DISEASE RESISTANCE AND YIELD

LIU Hui-qing, ZHANG Ai-xiang, SHEN Fu-ying, KANG Yan-hong, GONG Xue-chen

(Department of Agronomy, Zhangjiakou Agricultural College, Xuanhua 075131)

ABSTRACT: Coating potato with 58% Fubol wettable powder can increase the emergence rate and yield, and reduce disease rate significantly.

KEYWORDS: 58% Fubol wettable powder, coating potato, disease resistance, yield

出现了商品化的脱水培养基, 例如营养琼脂、SS 琼脂等, 这些脱水培养基使用方便、实验重复性好, 大大提高了工作效率; 植物组培培养基尽管在组成特点上与细菌培养基存在较大差异, 但仍可借鉴其制备思路。理想的植物组培脱水培养基应当是固体细粉状, 各组成成分混合均匀, 每克粉体均能够忠实代表 MS 的标准配方, 仅需称量一次即可配制任意体积的培养基。

表 1 MS 培养基营养物质^[1] (mg/L)

| 组 分 | 含 量 | 组 分 | 含 量 |
|---------------------------------------|-------|--------------------------------------|-------|
| MgSO ₄ ·7H ₂ O | 370 | KH ₂ PO ₄ | 170 |
| KNO ₃ | 1900 | NH ₄ NO ₃ | 1650 |
| CaCl ₂ ·2H ₂ O | 440 | H ₃ BO ₃ | 6.2 |
| 蔗糖 | 30000 | MnSO ₄ ·H ₂ O | 15.6 |
| ZnSO ₄ ·7H ₂ O | 8.6 | CuSO ₄ ·5H ₂ O | 0.025 |
| CoCl ₂ ·6H ₂ O | 0.025 | FeSO ₄ ·7H ₂ O | 27.8 |
| KI | 0.83 | 琼脂 | 7000 |
| NaMoO ₄ ·2H ₂ O | 0.25 | Na ₂ EDTA | 37.7 |
| VB ₁ | 0.5 | VB ₆ | 0.5 |
| 烟酸 | 0.5 | 肌醇 | 100 |
| 甘氨酸 | 2 | | |

1.2 制备脱水 MS 培养基存在的技术困难

生产制备植物组培用脱水 MS 培养基存在两个技术难题: 其一是培养基中各成分之间的不良反应问题: MS 培养基中, 除碳源之外, 大量成分是 5 种无机盐, 其中的硝酸铵等具有氧化性, 容易与有机物质反应, 并且钙镁离子以及磷酸盐同时存在, 即使在配制母液时若操作不当或加入顺序不对, 也会出现沉淀反应。因此, 如何防止脱水培养基的不良反应, 是必须解决的问题, 以便保证在溶解粉末时, 没有任何沉淀反应出现, 确保营养成分不被破坏, 从而确保培养基的培养效果。其二是混合均匀度问题: MS 培养基中, 微量成分与大量成分之间相差悬殊, 蔗糖 30 g/L, 而 CuSO₄·5H₂O 和 CoCl₂·6H₂O 仅 0.025 mg/L, VB₁、VB₆、烟酸仅 0.5 mg/L, 分别相差达 120 万倍和 6 万倍, 这对粉体均匀混合提出了极高要求。

1.3 制备脱水培养基的工艺对策

针对以上分析, 在多次实验的基础上, 我们采用液体浸润分配法和糖包盐造粒隔离工艺解决了这两个难题^[3] 并且用白砂糖替代蔗糖, 倍力凝替

代琼脂。制备出的培养基具有均匀、易溶、透明等特点, 使用时只需称量 40 g/L, 加入水中, 加激素, 调 pH, 分装灭菌即可, 大大简化了配制过程。

2 脱水 MS 培养基在马铃薯脱毒试管苗培养中的应用

2.1 实验材料

以马铃薯脱毒苗 Mela 为供试苗 (河北省农科院提供); 标准 MS 培养基参照^[2] 配制; 脱水 MS 培养基 (本实验室自制存放) 每升称取 40 g 加水溶解调 pH 5.8, 熬制分装灭菌。所有培养基均不加激素。

2.2 实验方法

试管苗切成约 1 cm 长的小段, 每段至少带 1 片小叶, 插入新鲜的培养基中, 每瓶接种 5~10 株苗, 每一处理接种 10 瓶。每一处理随机抽取 20 株苗记录结果, 并以标准 MS 为对照进行实验。

2.3 实验结果

表 2、表 3、表 4 的结果是采用 1999 年 5 月至 7 月间不同批次制备的脱水 MS 培养基进行的上述对比试验, 这些结果表明脱水 MS 培养基完全达到了标准 MS 培养基的培养效果, 而且还具有根系发达、叶色浓绿、苗茎粗壮、生长速度快和容易检出污染苗等优势, 并且脱水 MS 培养基经过 12 个月的贮存后依然具有良好的使用效果, 表明我们研制的脱水 MS 培养基在一年内质量稳定。

表 2 在不同培养基上的 Mela 苗的生长情况

| 培养天数 (d) | 脱水 MS 苗高 (cm) | 标准 MS 苗高 (cm) |
|-------------|------------------|------------------|
| 5 | 1.3 | 1.5 |
| 10 | 3.0 | 3.8 |
| 15 | 4.4 | 4.0 |
| 20 | 8.8 | 6.9 |

表 3 培养 20 d 时两种培养基上脱毒苗的生长情况

| 培养基 | 叶片数 | 苗高 (cm) | 根数 | 根长 (cm) | 综合评价 |
|-----------|-----|------------|-----|------------|------|
| 标准 MS 培养基 | 6.2 | 6.2 | 2.3 | 2.2 | 优 |
| 脱水 MS 培养基 | 7.1 | 7.5 | 7.0 | 4.0 | 优+ |

表4 用自来水或蒸馏水配制脱水 MS 培养基对试管苗的影响

| 脱水 MS 培养基 | 片数 | 苗高 (cm) | 根的生长 | 综合评价 |
|-----------|----|---------|---------|------|
| 蒸馏水配制 | 7 | 7.7 | 生长好交织成网 | 优 |
| 自来水配制 | 9 | 10.4 | 生长好交织成网 | 优+ |

表5 不同培养基凝固剂对脱毒苗生长的影响

| 培养基 | 凝固剂 | 叶片数 | 苗高 (cm) | 生根情况 | 综合评价 |
|-------|-----|-----|---------|---------|------|
| 标准 MS | 琼脂 | 5.2 | 5.5 | 根数少且根短 | 良 |
| 标准 MS | 倍力凝 | 6.8 | 7.3 | 根数多交织成网 | 优+ |

3 脱水 MS 培养基的批量生产工艺问题及工艺改进

脱水 MS 培养基的批量生产工艺流程为:

(1) 原材料检验—微量元素母液配制—喷雾浸润吸附—主料(蔗糖)烘干—粉碎至 60 目—与 100 目蔗糖粉混合隔离, 得备用料组分 1。

(2) 5 种大量元素分别烘干粉碎—与 100 目蔗糖粉混合隔离, 得备用料组分 2-1; 2-2; 2-3; 2-4; 2-5。

(3) 按比例混合上述组分—检验—分装—成品。

烘干采用电热干燥箱, 烘干温度 65~85 °C, 烘干时间 4~6 h; 混合采用自制无死角密封混合器, 装料系数 0.4; 采用 4 层铝塑复合包装袋包装, 每 500 g 一袋。

经过近两年来的反复工艺调整与培养实验, 我们研究了脱水 MS 培养基批量生产工艺流程中的关键控制点。

(1) 水分的控制: 为了保证脱水 MS 培养基的贮藏稳定性, 必须严格控制粉状培养基的水分含量, 而主料蔗糖及 5 种大量盐都极易吸潮, 特别是粉碎成 60 目到 80 目的粉体后, 吸潮速度极快。6 个月的贮藏试验表明, 如果水分偏高, 贮藏后的培养基打开包装后, 培养基外观颜色发黄, 配制时凝固性下降, 栽种试管苗长势不好。水分控制可以从 3 个方面解决: 其一是原料的烘干要严格把关, 但温度不能超过 100 °C, 时间最好不超过 6 h, 否则容易氧化变色; 其二是粉碎过程要注意防潮, 操作间要通过安装空调、抽湿机等措施保证低湿度环境, 粉碎机处理速度要快; 其三是包装要过关, 必须采用高质量的铝箔包装袋, 快速包装。

(2) 混合均匀度的控制: 为了保证脱水 MS 培养基的混合均匀度和配方忠实性, 必须严格规定混合时间。

脱水 MS 培养基已形成稳定产品。目前的中试装置每个批次可以制备 40 kg 的脱水 MS 培养基, 相当于 1000 L 液体培养基, 制备工艺成熟可靠。

参 考 文 献

- [1] 马淑珍. 庄浪县马铃薯脱毒试管苗生产中的几项关键技术 [J]. 马铃薯杂志, 1998, 12 (2): 103.
- [2] 谭文澄. 观赏植物组织培养 [M]. 中国林业出版社.
- [3] 仪宏等. 脱水 MS 培养基的研制. 河北轻化工学院学报, 1998.

PREPARATION OF MS DRY MEDIUM AND ITS APPLICATION IN THE CULTURE OF VIRUS-FREE POTATO PLANTLETS IN VITRO

YI Hong, WANG Li-li, DONG Xiu-ping, WEI Jing-fang, SHA Hui-qin

(College of Bioscience and Bioengineering, Hebei, University of Science and Technology, Shijiazhuang City, P. R. China 050018)

ABSTRACT: Using “PolyGel” instead of agar, MS dry medium has been prepared by “salt-in-sucrose granulation” and “spray soaking distribution” methods. By using virus-free potato plantlets in vitro of cv “mela”, the growth effects of this dry medium have been compared with that of the standard MS medium. The results showed that this dry medium provided better growth, especially stronger roots, and stronger stems and foliages.

KEY WORDS: MS dry medium; potato; virus-free plantlet in vitro; application