

# 马铃薯试管苗低成本快繁方式研究

董淑英<sup>1</sup>, 李梅<sup>1</sup>, 孙静<sup>1</sup>, 赵翔宇<sup>2</sup>, 陈振德<sup>1</sup>, 于秋华<sup>1</sup>

(1. 青岛市农业科学研究所, 青岛 266100; 2. 山东农业大学, 泰安 271018)

**摘要:** 为适应脱毒种薯工厂化生产的要求, 降低成本, 对马铃薯脱毒试管苗快繁方式进行了研究, 以不影响脱毒苗生长为前提, 筛选出成本低、生长好的培养方法。研究表明: ①液体培养由于省去了价格昂贵的琼脂, 培养成本降低了 80.03%, 并且试管苗的生长比固体培养要好; ②在液体培养过程中, 不加有机成分, 培养成本降低 23.71%, 脱毒试管苗生长正常; ③液体培养基的用量要少于固体培养基的用量, 为固体培养基 1/2~1/3, 一般以 10 ml 为宜。

**关键词:** 马铃薯; 脱毒试管苗; 培养基; 快繁

**中图分类号:** S532

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1001-0092 (2002) 01-007-03

## 1 前言

病毒的危害造成了种薯的退化, 制约了其发展。近年来, 随着脱毒技术的推广应用, 脱毒种薯的生产正以前所未有的速度迅猛发展。脱毒微型薯需求量大增, 而脱毒微型薯的工厂化生产需要繁殖大量的脱毒试管苗, 然而由于脱毒试管苗的快繁成本很高, 以致脱毒微型种薯的价格偏高, 影响了脱毒种薯的生产。常规试管苗快繁一般采用固体培养, 虽然生产中配制固体培养基以食用白砂糖代替蔗糖, 用自来水代替蒸馏水, 降低了一部分成本, 但由于琼脂价格昂贵, 占固体培养基成本的 80.03%, 这就使脱毒试管苗的快繁成本居高不下。另外, 配制固体培养基需要熬煮, 费工费电, 而配制液体培养基不需熬煮。液体培养基中去掉有机成分, 对脱毒试管苗生长无不良影响。为了降低培养成本, 本文对脱毒试管苗的液体培养作了初步研究, 以更适合工厂化生产的需要。

## 2 材料与方法

### 2.1 供试材料

在固体培养基上生长一个月的“鲁引 1 号”脱

毒试管苗为试验材料, 由青岛市农业科学研究所生物技术研发中心提供。

### 2.2 试验方法

#### 2.2.1 琼脂对试管苗生长及培养成本的影响

M1: MS+6 g/L 琼脂

M2: MS

M1 和 M2 皆为全量 MS。M1 每瓶 30 ml 培养基, 作为对照; M2 不加琼脂, 不需熬煮, 定容后可立即分装灭菌, 每瓶的培养基用量为 10 ml。

#### 2.2.2 有机成分对液体培养试管苗生长及培养基成本的影响

M3: MS

M4: MS-有机成分

M3 培养基为全量 MS。M4 培养基为 MS 不加有机成分, 用量为每瓶 10 ml。

#### 2.2.3 液体培养基用量对试管苗生长的影响

M3-1: MS, 5 ml/瓶

M3-2: MS, 10 ml/瓶

M3-1 和 M3-2 为全量 MS。把配制好的 M3 培养基分装成 5 ml (M3-1) 和 10 ml (M3-2) 两种, 灭菌后按要求接种, 观察液体用量对试管苗生长的影响情况。

以上培养基加入白砂糖 30 g/L, pH 调至 5.8, 采用常规灭菌。培养容器使用 150 ml 的三角瓶, 接种外植体采用带一个叶片的单节茎段。固体培养需将茎段插在培养基上, 腋芽朝上。液体培养基直

收稿日期: 2001-10-30

中国知网 <https://www.cnki.net> 董淑英 (1965—), 女, 山东招远人, 青岛市农业科学研究所助理研究员, 从事马铃薯的脱毒研究与开发。

接将茎段投入培养基中即可。每个处理 10 瓶, 每瓶接种 15 个茎段。

培养条件: 培养室温度保持在 23±2℃, 相对湿度保持在 60%~80%, 光强为 2000 lx, 光照时间为 12 h/d。生长期随时观察试管苗生长情况, 分别在第 5、10、15、20 d 对材料的株高、茎粗、叶数 (只调查展开叶)、节长 (平均值)、根长 (平均值)、根数和成株率进行调查, 并对调查结果进行分析, 对各项生长指标做出综合评价。全部试验共做三次重复, 分别在 4 月 3 日至 4 月 23 日、5 月 18 日至 6 月 7 日、5 月 22 日至 6 月 11 日三段时间进行, 最后以三个重复的平均值进行比较。

### 3 结果与分析

#### 3.1 琼脂对试管苗生长与培养基成本的影响

##### 3.1.1 琼脂对试管苗生长的影响

表 1 不同培养基试管苗生长的影响

培养时间	培养基	生长指标						
		株高 (cm)	茎粗 (cm)	叶数	成株率 (%)	根长 (cm)	根数	节长 (cm)
5d	M1	0.65	0.09	2.13	89.1	1.15	2.93	0.50
	M2	0.43	0.11	1.90	63.9	1.35	2.79	0.35
10d	M1	2.55	0.08	4.37	92.1	3.53	3.93	1.20
	M2	2.41	0.10	4.34	76.8	4.12	3.87	1.13
15d	M1	3.81	0.09	6.08	92.9	5.27	1.27	1.12
	M2	3.86	0.11	5.29	86.0	5.67	4.37	1.23
20d	M1	4.56	0.09	6.50	95.2	6.50	5.03	1.25
	M2	4.88	0.11	6.58	87.0	6.97	5.53	1.34

在试验过程中观察发现, 液体培养的试管苗叶片浓绿, 茎呈紫红色, 较固体培养的试管苗更为健壮。不加琼脂采用浅层液体培养, 初期试管苗的生长速度不及固体培养, 接种 5 d 时进行调查, 固体培养试管苗的株高为 0.65 cm, 而液体培养的仅为 0.43 cm, 低于固体培养 0.22 cm; 液体培养的展开叶数为 1.90, 比固体培养低 0.23; 成株率低于固体培养 25.1%, 根数、根长、节数等其它一些指标也低于固体培养; 但液体培养植株粗壮, 茎粗略高于固体培养。液体培养基中的试管苗 15 d 后生长速度明显加快, 其各项生长指标与固体培养试管苗的差别不大; 20 d 生长速度超过固体培养的生长速度, 液体培养的株高为 4.88 cm, 高于固体培养 0.32 cm; 根长为 6.97 cm, 比固体培养高 0.47 cm; 根数为 5.53, 比固体培养高 0.50; 其它

一些指标也高于固体培养, 仅有成株率低于固体培养。

分析原因, 起初由于接种茎段在液体培养基中通气状况不佳, 导致其启动生长速度较慢, 但液体培养基由于其中的物质分子运动速度较快, 使得养分能及时供应试管苗的生长, 而固体培养基中各种养分在琼脂中扩散速度较慢, 使养分的补充也慢, 同时试管苗排出的代谢废物积聚在根系周围, 抑制了养分的吸收。这样, 就使试管苗在固体培养基中后期的生长速度显著低于在液体培养基中的生长速度。

##### 3.1.2 琼脂对培养基成本的影响

据计算, 每升 MS 培养基的成本为 1.883 元/L, 液体培养基成本为 0.377 元/L; 在固体培养基中, 琼脂价格为 1.506 元/L, 占到培养基成本的 80.03% (表 2), 因此, 液体培养基去掉价格昂贵的琼脂, 对降低培养基成本有重要的现实意义。

表 2 MS 培养基成本

培养基成分	大量元素	微量元素	有机成分	铁盐	琼脂	砂糖
成本 (元/L)	0.149	0.002	0.090	0.004	1.500	0.132

注: 培养基成本不包括人工费用 (下同)。

表 3 MS 液固培养基成本比较

M1 成本 (元)	M2 成本 (元/L)	M2 比 M1 降低 (%)
1.883	0.377	80.03

#### 3.2 有机成分对液体培养基中试管苗生长及成本的影响

##### 3.2.1 有机成分对液体培养试管苗生长的影响

MS 液体培养基培养的试管苗与不加有机成分的 MS 液体培养基培养的试管苗, 在 10 d、15 d、20 d 时分别进行调查, 结果表明, 在株高、茎粗、叶片数、根数、根长、节长等各项生长指标上并无显著差别 (见表 4), 只是成株率高于不加有机成分的培养基。试管苗培养 20 d, 不加有机成分的培养基成株率为 87%, 比加有机成分的培养基低 8.2%。因此可以认为有机成分对试管苗的生长并无多大的影响, 只是对成株率稍有影响。因此, 在马铃薯脱毒试管苗快繁培养基中省去有机成分, 可以降低培养成本, 提高经济效益。

表 4 有机成分对试管苗生长的影响

培养时间	培养基	生长指标						
		株高 (cm)	茎粗 (cm)	叶数	成株率 (%)	根长 (cm)	根数	节长 (cm)
5d	M3	0.55	0.10	2.37	89.1	1.15	2.93	0.50
	M4	0.55	0.09	2.33	63.9	1.35	2.79	0.35
10d	M3	1.66	0.09	4.20	92.1	3.53	3.93	1.20
	M4	1.71	0.09	4.16	76.8	4.12	3.87	1.13
15d	M3	2.76	0.09	4.96	92.9	5.27	1.27	1.21
	M4	2.81	0.10	5.03	86.0	5.67	4.37	1.23
20d	M3	4.88	0.11	6.58	95.2	6.50	5.03	1.25
	M4	4.89	0.10	6.54	87.0	6.97	5.53	1.34

### 3.2.2 有机成分对液体培养基成本的影响

按照现今市场价格计算, 在液体 MS 培养基中, 每升的成本为 0.377 元, 有机成份的成本为 0.09 元, 有机成分所占比例为 23.71%。因此不加有机成分液体培养基的成本可以降低 23.71% (见表 5), 效果也相当明显。

表 5 M3 比 M4 培养基成本比较

M3 成本 (元/L)	M4 成本 (元/L)	M4 比 M3 降低 (%)
0.377	0.287	23.71

### 3.3 液体培养基用量对试管苗生长的影响

表 6 液体培养基用量对试管苗生长的影响

培养时间	培养基	生长指标						
		株高 (cm)	茎粗 (cm)	叶数	成株率 (%)	根长 (cm)	根数	节长 (cm)
5d	M3-1	0.54	0.10	2.10	59.8	1.41	3.14	1.39
	M3-2	0.47	0.11	1.91	56.1	1.34	2.82	1.34
10d	M3-1	1.94	0.09	3.94	79.6	3.92	3.77	0.82
	M3-2	2.67	0.11	4.57	79.5	4.05	3.63	1.20
15d	M3-1	2.56	0.09	4.86	82.8	4.78	3.73	1.04
	M3-2	3.67	0.11	5.35	87.6	5.60	4.21	1.26

从表 6 可以看出, M3-1 培养基中的试管苗在第 5 d 的株高、叶数、成株率、根长、根数和节长均较 M3-2 培养基中高, 但是后来 M3-2 中的生长指标反高于 M3-1 中的相应生长指标。随着时间的推移, 大约在 15 d 左右, M3-1 中培养基出现干涸, 但此时试管苗尚不能移栽。而这时 M3-2 中的培养基还有很多, 试管苗还能生长一段时间, 并且此时 M3-2 中试管苗的株高、叶数、成株率、根长、根数和节长分别比 M3-1 中的高出 1.11 cm、

0.49、4.8%、0.22 cm、0.82、0.48 cm。从以上实验结果可知, 液体培养基用量以 10 ml 为宜。M3-2 中茎段出苗较慢可能与按种茎段较小、易被淹、通气状况差有关。

## 4 讨论

研究表明, 不加琼脂液体培养脱毒试管苗, 培养成本能降低 80.03%, 虽然启动生长慢, 但后期生长速度快, 其根系发达, 叶色浓绿, 茎秆粗壮, 呈紫红色, 植株生长整齐健壮, 而且省时、省工、操作简单方便, 移栽时也不用洗培养基。而固体培养的脱毒试管苗茎秆较之细嫩, 呈浅绿色, 光照弱易发生徒长, 不利于移栽, 需要进行试管苗复壮培养, 费时费工, 增加培养成本。液体培养基的试管苗移植成活率比固体培养的试管苗高。有机成分对试管苗的生长影响不大, 在快繁过程中也可以省去, 又可以降低成本 23.71%。

液体培养基用量不宜太多, 以每瓶 (150 ml 三角瓶) 10 ml 为宜。液面过深接种茎段完全沉入瓶底会影响通气, 而导致试管苗的成株率降低, 对此可以考虑在培养的三角瓶内加入一些支持物 (如普通棉、滤纸等) 来改善其通气状况, 提高试管苗的成株率。

马铃薯脱毒试管苗快繁液体培养技术简化了培养基及其配制程序, 大大降低了培养成本, 同时还提高了工作效率, 在生产实践中具有较高的实用价值。

## 参 考 文 献

- [1] 颜昌敬编著. 植物组织培养手册 [M]. 上海科技出版社, 1990.
- [2] 谭文澄, 戴策刚主编. 观赏植物组织培养技术 [M]. 中国林业出版社, 1991, 53—54.
- [3] 牛爱国等. 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, (2): 75—78.
- [4] 孔繁春等. 不同培养方式和光照强度对马铃薯脱毒试管苗微繁的影响 [J]. 马铃薯杂志, 1999, (1): 20—22.
- [5] 马淑珍. MS 全脱水培养基培养马铃薯脱毒试管苗效果初报 [J]. 马铃薯杂志, 1999, (4): 219—220.
- [6] 齐恩芳等. 不同培养方式和成分对马铃薯脱毒试管苗生长的影响 [J]. 中国马铃薯, 2000, (1): 18—19.
- [7] 沈清景等. 马铃薯脱毒原种高产低耗快繁技术研究 [J]. 马铃薯杂志, 1999, 13 (4): 209—213.
- [8] 杨文玉. 不同组织培养条件对马铃薯试管微型薯的诱导 [J]. 马铃薯杂志, 1996, 10 (1): 20—23.

# 硼钼营养对马铃薯鲜薯产量及活性氧代谢的影响

李 军<sup>1</sup>, 李祥东<sup>2</sup>, 张殿军<sup>1</sup>

(1. 国家马铃薯改良中心, 黑龙江 克山 161606; 2. 克山县农业技术推广中心 161600)

**摘 要:** 研究了硼 (B)、钼 (Mo) 营养 8 种处理对马铃薯鲜薯产量和活性氧代谢的影响。结果表明: B、Mo 营养与马铃薯鲜薯产量及活性氧代谢有密切的关系, B、Mo 营养具有明显的互作效应, 当 B 浓度相同时, 随着 Mo 浓度的提高, CAT 活性与 ASA 含量也随之提高; 当 Mo 浓度相同时, 随着 B 浓度的提高, CAT 活性与 ASA 含量也随之提高。适宜的 B、Mo 配施可提高 SOD、POD、NR 的活性, 降低 MDA 含量与自动氧化速率, 抑制膜脂过氧化作用, 提高鲜薯产量。马铃薯鲜薯的生产能力与细胞保护酶 (SOD、POD、NR、CAT) 活性呈极显著的正相关, 与 MDA 含量呈显著的负相关。

**关键词:** 马铃薯; 鲜薯产量; 硼钼营养; 活性氧代谢

**中图分类号:** S532      **文献标识码:** A      **文章编号:** 1001-0092 (2002) 01-010-04

## 1 前 言

有关主要矿质营养氮、磷、钾和微量元素 B、Mo 营养与作物的生长发育及产量的形成的关系,

前人已进行了报道<sup>[1~3]</sup>。马铃薯对微量元素 B、Mo 等有着特殊的要求, 如缺 B 和 Mo 时, 叶片褪色、变小、叶面积下降, 鲜薯产量和品质降低。Kotur 报道, 土施或叶面喷施 B 或 Mo 明显地增加花椰菜花球产量, 以叶面喷施的效果好, B、Mo 配施又比单施 B 或 Mo 的效果好<sup>[4]</sup>, 过高或过低的 B 均会降低花球产量, 甚至引起 B 中毒<sup>[5]</sup>。有关 B 或 Mo 对马铃薯的生长发育和产量的形成关系, 前

收稿日期: 2001-06-27

作者简介: 李军 (1953—), 男, 副研究员, 从事马铃薯育种、种植资源创新及专用品种的配套栽培技术研究。

## THE STUDY ON REDUCING THE MICRO-PROPAGATION COST OF PLANTLETS

DONG Shu-ying<sup>1</sup>, LI Mei<sup>1</sup>, SUN Jing<sup>1</sup>, ZHAO Xiang-yu<sup>2</sup>, CHEN Zhen-de<sup>1</sup>, YU Qiu-hua<sup>1</sup>

(1. Qingdao Institute of Agricultural Science, Qingdao 266100; 2. Shandong Agricultural University, Taian 271018)

**ABSTRACT:** In order to meet the demand of factory production of virus-free mini-tuber and reduce the cost, propagation pattern of the potato virus-free tuber-plant was studied. Under the premise of non-affecting the growth of virusfree tuber plant, we select out the propagation pattern with the lower cost and better reproduction. The result shows: 1. Without the expensive agar, using liquid culture can reduce the cost by 80.03% and gain better growth than sold culture. 2. In the liquid culture, if we eliminated the organic composition, we can reduce the cost by 23.71%, but get the normal growth. 3. The volume of liquid culture medium is less than the solid culture medium and only 1/2~1/3 of the latter, that is, 10 ml is better.