

马铃薯脱毒试管苗全日光培养工厂化快繁技术研究

王一航, 仲乃琴, 齐恩芳, 李高峰

(甘肃省农科院粮食作物研究所, 兰州 730070)

摘要: 甘肃省农科院马铃薯育种脱毒中心对马铃薯脱毒试管苗全日光培养进行了全面系统地研究, 成功地实现马铃薯脱毒苗全日光培养大规模工厂化周年扩繁, 系统提出了全日光节能培养室建造结构设计、培养条件的调控、培养基成分的改进、培养周期的调节、日常管理等为主要内容的马铃薯脱毒试管苗高效低耗全日光培养工厂化快繁技术体系。

关键词: 马铃薯; 脱毒试管苗; 日光培养; 工厂化快繁

中图分类号: S532

文献标识码: B

文章编号: 1001-0092 (2001) 06-0358-04

马铃薯脱毒试管苗快繁技术, 是马铃薯脱毒种薯繁育技术体系中一项重要的关键性技术。马铃薯脱毒苗的繁育质量与成本, 在很大程度上决定了马铃薯脱毒种薯的质量与成本。为了进一步促进马铃薯脱毒技术走向实用化, 实现产业化开发, 我们在实施《甘肃省贫困地区马铃薯优质种薯脱毒快繁体系建设》(1997~2000) 项目的过程中, 对马铃薯脱毒试管苗全日光培养工厂化快繁技术进行了系统研究。

1 全日光节能培养室建造结构及特点

利用我中心温室之间一块 $20\text{ m} \times 5\text{ m}$ 长方形闲置空间, 于 1999 年 5~6 月自行设计建造了一座铝合金框架玻璃房屋式全日光节能培养室。培养室南北长 17 m , 东西宽 3 m , 总使用面积 51 m^2 ; 东、西两边玻璃墙高 2.3 m , 上有滑动开关式玻璃窗, 窗口装有 16 目金属丝网, 屋顶为 25 度角双坡面对称玻璃结构, 屋脊两边有开启式天窗。室内地面为白色地板砖, 东、南、西三面墙角安装有圆筒式暖气片。培养室北端隔有一间 3 m^2 的出入缓冲间, 并与实验室走廊相通。

培养室内沿东、西两边玻璃墙平行排放 2 排共 18 个培养架。培养架架长 1.8 m , 宽 0.7 m , 高

1.96 m , 每架 6 层, 层间用大孔钢丝网相隔, 层距 $33\sim 38\text{ cm}$, 上低下高依次递增。培养室一次可培养脱毒瓶苗 15120 瓶, 即 27 万余株, 年设计培养脱毒苗 200 万株以上。

全日光节能培养室的结构具有如下特点:

①日光培养室结构为窄长方体形, 南北向修建, 室内沿东西两侧排放两排培养架, 上午阳光从东侧斜射入室, 中午从屋顶直射入室, 下午又从西侧斜射入室, 这样就会使立体培养架上的瓶苗不但接受光照时间长, 而且各个角度接受光照较均匀, 避免互相遮阳。同时南北向的培养室要比东西的接受的直射光少, 可降低白天室内温度升高幅度, 利于培养温度调控。

②日光培养室北端与实验室内走廊相通, 有两大优点, 一是组培室接种好的瓶苗就可直接送入培养室, 大大减少污染机会; 二是夏季走廊中的凉风可直通培养室, 形成较强空气对流, 利于降温。

③日光培养的培养架层间距离显著大于人工光照培养架层间距离, 利于各层瓶苗充分接受光照。层间采用大孔钢丝网相隔而不用玻璃, 既利于层间空气流通, 又不影响透光。

2 全日光节能培养室培养条件及其调控

2.1 光照

强光照非常有利于马铃薯脱毒瓶苗生长, 光照愈强, 瓶苗生长愈健壮, 移栽或扦插成活率愈高。

收稿日期: 2001-09-12

作者简介: 王一航 (1948—), 男, 甘肃省农科院马铃薯育种脱毒中心主任, 副研究员, 从事马铃薯栽培育种及脱毒技术研究。

日光培养室内平均光照强度夏季晴天中午可达到 4.5 万 lx 以上, 冬季晴天中午可达到 1.2 万 lx 左右。但是, 日光培养室光照的增强是和温度的升高

紧密联系的, 在夏季为了降温, 不得不在日光培养室顶部覆盖遮阳网, 既使如此, 其室内光照强度之高仍然是人工光照培养所无法比拟的。

表 1 日光培养室夏季顶部遮阳条件下不同培养层次光照强度

培 养 条 件	培养架 层 次	晴 天				阴雨天			
		9:30	13:00	16:30	平均	9:30	13:00	16:30	平均
日光培养	上	5055	9478	6285	6939	536.5	1280.0	644.8	820.4
	中	10403	4440	12768	9204	564.0	1345.6	712.0	873.9
	下	4118	2455	4185	3586	562.0	1340.8	598.8	833.9
	平均	6525	5458	7746	6576	554.2	1322.1	651.9	842.7
人工光照培养		2860	2900	2780	2847	2670	2780	2543	2664

在秋、冬、春季, 日光培养室不再遮阳, 其室内光照强度晴天一般在 1.2 万 lx~4.1 万 lx 水平。

同时, 日光光质对植物光合作用来说显著优于人工光照 (电灯光) 光质, 利用日光培养, 显然是使试管苗 “回归自然”, 最适于其生长发育。

2.2 温度

为了节能降低成本, 日光培养室未安装自动空调设备。由于玻璃培养室的温室效应, 室内最高温度远远高于人工光照培养室, 温度变幅很大, 需要经常加以人工调节。一般调节措施主要有: 需降温时采取打开侧窗与天窗通风, 打开门让实验室走廊中的凉风直通培养室形成空气对流, 屋顶遮阳等; 冬季寒冷需加温时可通暖气, 必要时还可加电暖器。通过简单的人工调节, 虽然最高温度有时超出适宜范围, 但基本可满足脱毒瓶苗生长对温度的要求。

日光培养室昼夜温差极显著大于人工光照培养

室, 十分利于脱毒瓶苗光合产物积累, 促进生长。

3 马铃薯脱毒试管苗全日光培养生长规律研究

为了进一步探索全日光培养对脱毒试管苗生长的影响, 为其应用提供科学依据, 我们开展了脱毒试管苗日光培养与人工培养同期生长对比试验。

试验于 2000 年 7 月 1~20 日进行, 参试品种为 Atlantic (大西洋)、陇薯 3 号、Favorita (费乌瑞它) 三品种脱毒基础苗, 每品种剪切茎段接种 40 瓶 (小罐头瓶), 每瓶接种 15 节茎段。每品种各 20 瓶接种苗分别置于全日光培养室与人工光照培养室进行培养。每品种每光照处理瓶苗分别于接种后的第 5 d、10 d、20 d 各取 4 瓶, 进行新生植株的株高、茎粗、有效节间数、叶片数、单株鲜重和培养根数的考种测量。

表 2 表明, 全日光培养脱毒试管苗生长发育与人工光照培养脱毒试管苗相比, 有以下显著优点:

表 2 日光培养对马铃薯试管苗生长发育的影响

品种名称	天数 (d)	株 高		茎 粗		有效节间		根 数		叶片数		单株鲜重	
		(mm)		(mm)		(节)		(条)		(片)		(mg)	
		日光	灯光	日光	灯光	日光	灯光	日光	灯光	日光	灯光	日光	灯光
大西洋	5	5.94	10.26	0.95	0.88	1.68	1.29	1.00	1.00	0.29	0.29	9.02	6.53
	10	29.5	32.5	1.12	0.90	2.44	2.18	4.25	3.82	3.82	3.00	48.15	44.77
	15	37.3	52.0	1.13	0.92	3.98	3.37	4.83	4.39	5.30	4.93	60.10	56.70
	20	52.40 _b	62.25 _a	1.16 _a	0.99 _a	5.45 _a	4.10 _b	5.63 _a	5.24 _a	6.13 _a	5.28 _b	81.03 _a	63.86 _b
陇薯 3 号	5	3.80	5.42	0.76	0.67	1.25	1.14	1.28	0.88	0.25	0.14	6.26	4.56
	10	27.69	35.3	1.05	0.83	2.02	1.81	3.70	2.30	2.20	1.78	42.07	33.20
	15	40.9	53.3	1.06	0.84	3.19	2.27	4.73	4.17	3.95	3.73	56.50	50.37
	20	56.35 _b	67.99 _a	1.08 _a	0.96 _a	4.40 _a	3.47 _b	5.63 _a	5.57 _a	4.80 _a	4.07 _a	76.17 _a	58.27 _b
费乌瑞它	5	5.65	10.7	0.80	0.66	1.38	1.29	1.57	1.41	0.29	0.25	4.48	8.49
	10	24.9	27.0	0.97	0.76	2.10	1.59	3.42	1.63	3.76	2.38	27.41	21.41
	15	27.0	38.2	1.03	0.88	3.04	2.76	3.79	2.28	4.33	4.21	34.97	31.10
	20	45.39 _b	58.09 _a	1.06 _a	0.90 _a	4.44 _a	3.21 _b	3.80 _a	3.63 _a	5.54 _a	5.38 _a	66.92 _a	45.63 _b

①全日光培养脱毒苗株高显著降低, 特别是在培养初期 (开初 5 d 左右), 有一个明显的“蹲苗”过程, 极有利于培养壮苗而避免出现纤细苗。

②全日光培养脱毒苗单株有效节间数显著增加, 这就意味着利用日光培养可显著提高脱毒切段 (一节一叶) 扩繁的繁殖系数。按培养 20 d 的脱毒试管苗单株有效节数计算, 繁殖系数可提高 32.7%。

③全日光培养脱毒苗单株鲜重显著增加。单株鲜重是一个衡量壮苗与弱苗性状的综合指标, 单株鲜重的显著增加和株高的显著降低, 反映出全日光培养脱毒苗显著壮于人工光照培养脱毒苗。

④全日光培养脱毒苗茎粗也有不同程度增加, 但与人工光照培养差异不显著。培养根数与展开叶片数二性状与人工光照培养差异不显著, 但展开叶片的大小与厚度, 具有非常明显的增加趋势。

由此可以说明, 全日光培养在完全节约能源的条件下, 不仅能够达到传统的人工光照组织培养的效果, 而且在促进培养壮苗和提高繁殖系数方面具有极其显著的优越性。

4 日光培养的培养基改进

常用于马铃薯脱毒苗组织培养的培养基, 一般都适应于人工光照条件下进行培养的培养基。而利用日光光照培养, 这种培养基是否还能适合, 各种分配是否还要进行相应的改变, 基于这样的考虑, 我们进行了大量的实验研究。

4.1 碳源浓度对脱毒试管苗生长的影响

在日光培养条件下, 通过对 7 种不同碳源浓度的 MS 固体培养基上脱毒苗生长指标的测定表明, 每 L 添加 12.5 g 白糖的 MS 固体培养基最适宜“Atlantic”品种试管苗的日光培养 (5000~9000 lx, 12 h/d), 从试管苗生长的发根数、株高、茎粗、叶片数等壮苗指标综合评价, 明显优于其它碳源浓度培养基。而同时进行的相同碳源浓度处理培养试管苗的人工光照培养 (灯光 2000~3000 lx, 16 h/d) 试验, 则最佳碳源浓度为 20 g/L 白糖。此项研究说明, 适当降低 MS 培养基中的碳源浓度, 更有利于日光培养条件下马铃薯试管苗的健壮生长。

4.2 不同组分配比对脱毒试管苗生长的影响

对日光培养和人工光照培养条件下脱毒苗切段快繁 MS 培养基的大量元素、微量元素、铁盐等组

分的不同配比进行了比较实验。

试验设 7 个处理:

处理编号	大量元素		微量元素		铁盐
A	2	:	2	:	2
B	2	:	1	:	1
C	1	:	2	:	2
D	1	:	1	:	1
E	1/2	:	1	:	1
F	1/2	:	1/2	:	1/2
G	1	:	1/2	:	1/2

参试材料为 Atlantic、Favohta、陇薯 3 号三品种脱毒基础苗, 每个品种每个处理培养 3 瓶 (100 ml 三角瓶) 即 3 次重复, 每瓶接种 9 个茎段 (茎段剪切时均除去基础苗生长顶端, 以免顶端优势造成干扰)。6 月 22 日接种, 7 月 6 日出瓶考种, 培养 14 d。

试验结果见表 3。

主要根据壮苗指标株高、茎粗、展开叶片数 3 项, 并参考单株鲜重与培养根数, 综合评价出各品种各处理, 效应排序为:

品种	日光培养	人工光照培养
大西洋	F>G>B>D>C>A>E	D>A>B>C>F>G>E
费乌瑞它	G>B>D>C>A>F>E	F>G>B>D>A>C>E
陇薯 3 号	G>B>A>E>F>D>C	F>B>C>A>G>E>D

研究得出以下结论:

①脱毒试管苗日光培养与人工光照培养相比, 对培养基组分配比要求具有非常明显的差异。所以随着培养条件的改变, 必须对培养基组分配比进行相应调整改变。

②日光培养条件下, 各品种脱毒试管苗良好生长所适宜的一致的培养基组分配比是 G 处理与 B 处理, 而且 G 优于 B。也就是说, 在 MS 培养基基础上, 将大量元素不变而将微量元素与铁盐浓度减半, 或将大量元素浓度加倍而将微量元素与铁盐浓度不变, 是脱毒试管苗日光培养比较合理的培养基组分配比, 但前种配比更优。

③日光培养各品种脱毒试管苗对适宜良好生长所要求的培养组分配比基本趋于一致, 而人工光照培养各品种脱毒试管苗对适宜良好生长所要求的培养基组分配比则差别很大。说明日光培养不同品种脱毒苗对培养基的选择性减小, 更适合脱毒苗工厂化快繁生产。

④从日光培养条件下脱毒试管苗更适合于在微量元素与铁盐浓度减半的 MS 培养基上生长这种现象分析, 光照培养条件明显地提高了脱毒试管苗在培养基中微量元素与铁盐的吸收利用率。

表 3 不同培养基试管苗在不同培养条件下生长比较

品种名称	处理	日光培养					人工光照培养				
		株高 (mm)	茎粗 (mm)	展开叶数 (片)	根数 (条)	鲜重 (mg/株)	株高 (mm)	茎粗 (mm)	展开叶数 (片)	根数 (条)	鲜重 (mg/株)
大西洋	A	26.00	1.094	5.11	1.67	60.39	44.67	1.180	6.67	2.22	118.00
	B	40.16	1.233	4.56	2.83	140.56	55.11	1.080	5.61	2.39	116.56
	C	32.44	0.978	4.10	3.17	82.30	61.56	1.050	5.10	4.72	142.30
	D	46.83	1.089	4.10	4.06	139.39	69.39	1.128	4.83	5.00	130.39
	E	39.94	0.910	3.78	5.39	62.72	48.89	0.861	4.11	5.22	72.06
	F	53.94	1.050	4.06	5.39	130.78	67.56	1.011	4.89	5.44	122.67
	G	47.67	1.110	3.39	4.34	129.61	53.89	1.022	4.11	3.89	104.61
费乌瑞它	A	27.78	1.061	3.67	1.83	70.90	31.99	0.839	5.05	1.38	58.83
	B	32.67	1.167	4.11	1.89	84.80	34.17	0.780	4.22	1.56	64.39
	C	24.22	0.961	4.17	2.39	53.39	30.24	0.710	4.27	2.28	61.56
	D	30.44	0.972	3.89	3.33	69.89	29.98	0.830	4.00	3.28	77.11
	E	19.44	0.656	3.50	1.94	37.44	25.38	0.664	3.83	2.50	109.33
	F	30.56	0.894	3.89	2.78	61.94	34.10	0.872	3.83	3.33	79.10
	G	31.30	1.010	3.78	2.33	89.00	32.42	0.856	3.61	2.89	100.39
陇薯 3 号	A	34.53	1.16	4.06	2.44	170.00	52.58	1.167	4.78	1.89	141.83
	B	45.03	1.47	3.67	2.56	190.50	53.30	1.116	2.94	2.50	190.33
	C	31.04	0.77	3.22	3.78	87.28	47.03	0.908	3.67	4.72	103.28
	D	37.36	1.06	2.89	4.61	147.72	36.42	0.710	3.11	4.28	83.06
	E	37.50	1.04	3.11	6.67	110.28	41.64	0.792	2.72	6.10	121.00
	F	39.28	1.01	3.17	6.50	101.78	54.86	0.764	3.83	5.00	114.22
	G	51.78	1.30	3.72	4.50	125.61	47.60	0.780	3.50	3.55	108.20

4.3 日光培养条件下脱毒试管苗快繁培养基 pH 值适宜范围的选择

试验设 pH 值 5.3、5.8、6.1、6.4、6.8、7.3 等 6 个梯度处理。结果表明, 日光培养试管苗生产所适宜的培养基 pH 值范围与人工光照培养没有明显差异。无论日光培养还是人工光照培养, 较适宜的培养基 pH 值范围均是 5.8~6.8。pH 值为 5.3 时, 培养基发软, 接种时插不住苗, 而 pH 为 7.3 时培养基发硬, 不利根系发育。

5 成本核算

日光培养降低脱毒苗培养成本, 主要是节约了人工光照即电灯光照费用。

每 100 瓶脱毒苗培养电灯光照费用:
电费: $40\text{W}/\text{支} \times 3 \text{ 支} \times 16 \text{ h}/\text{d} \times 20 \text{ d} \times 0.55 \text{ 元}/1000\text{W h}=21.12 \text{ 元}$; 灯管耗损: $3 \text{ 支} \times 8.5 \text{ 元}/\text{支} \div 150 \text{ d} \times 20 \text{ d}=3.4 \text{ 元}$; 两项合计: 24.52 元。

由此可计算出, 日光培养每瓶脱毒苗节约成本 0.2452 元, 每株脱毒苗节约成本 0.0136 元。日光

培养脱毒苗生产成本比人工光照培养降低了 21.05%。按目前我中心年生产 50 万株脱毒苗计算, 可年节约成本 6800 元。如果按日光培养室年生产 200 万株脱毒苗计, 可年节约成本 2.72 万元。

6 讨 论

a. 马铃薯脱毒试管苗全日光培养技术, 是一项脱毒苗低耗高效快繁技术, 是对常规组织培养技术的一次革新, 具有广泛的应用价值。随着这项技术的不断完善, 必将促进马铃薯脱毒微型原原种繁育进一步实现规模化、工厂化与商业性生产, 从而有力地推动马铃薯繁种业的产业化发展。

b. 日光培养最佳的培养季节是春、秋两季, 在兰州一般 2~6 月、8 月下旬~11 月都是较好的培养时期。

c. 全日光节能培养室是在没有任何方案可借鉴的情况下设计的, 肯定有许多不足之处, 特别是 7 月份的降温难题, 在安装自动空调设备的条件下, 仍未能寻找出一个理想的解决方案, 需作进一步研究。