

西藏地区马铃薯茎尖脱毒快繁及试管薯生产技术

陈芝兰 栾运芳 次 柏 何 艳

(西藏农牧学院农学系 860000)

马铃薯是生长期短、产量高、适应性强、营养丰富的粮菜兼用作物。我区气候冷凉,日照充足,昼夜温差大,很适合马铃薯栽培。但目前我区马铃薯生产水平不高,产量较低,其中最为关键的限制因子是品种退化,现已公认:马铃薯种薯退化主要是由病毒侵染引起的,在植株体病毒的分布是不均匀的,其茎部生长点不带病毒,通过茎尖脱毒分生组织培养及后期的良繁体系能够获得“无病毒”的“复壮”健康种薯。我国早在 70 年代就开始这一技术的研究和应用,已形成了较为成熟的技术并广泛应用。实践证明,采用脱毒种薯可使产量提高一倍以上。我们在 1996 年引入这一技术开始这方面的研究工作,现将西藏马铃薯茎尖脱毒快繁及试管薯生产技术总结如下。

1 茎尖脱毒

1.1 脱毒材料的选择及催芽

本试验共收集、选择了(我区 4 个、西昌农科所 5 个)种植表现较好的 9 个品种,选取表皮颜色一致、芽眼较浅、表面光滑无龟裂的薯块作脱毒材料,按芽眼切块并放入 0.1% 的高锰酸钾水中浸泡 10h 以打破休眠,然后将其放在喷水的沙盘上置于 25℃ 左右的恒温箱中培养,待芽萌发长至 2~3cm 时,选取强壮的芽切下,放在烧杯中用纱布罩住自来水冲洗 1~2h,尔后用纱布、吸水纸吸干

芽上的水待用。

1.2 茎尖剥离、消毒及接种

剥离茎尖前,先开机 20min 使空气充分过滤消毒,用 75% 酒精擦洗超净工作台,同时对双手也要进行消毒,先用肥皂洗双手,再用 75% 酒精棉球擦拭消毒,解剖针、镊子等器械也沾取 95% 酒精烧灼灭菌。

剥离茎尖时,把冲洗过的芽放在培养皿中,用解剖刀和解剖针剥离,将剥离的芽先放入处理①:70% 酒精中 30s~1min,然后放入 0.1% HgCl₂ 中 30s 或用处理②:直接用 70% 酒精浸 5min,经消毒处理后,立即取出放入无菌水瓶中反复冲洗,取出经消毒的芽放无菌纱布上经解剖刀切取 0.5mm 以下的茎尖,迅速按无菌操作接入培养基培养。9 个品种的脱毒茎尖经两种消毒处理后成活率、污染率见表 1。

表 1 不同消毒处理茎尖成活、污染情况

品种(系)	处 理					
	①			②		
红土豆	1+	1-	1-	0+	0+	0+
农院 3 号	1-	1-	1-	0-	0+	0+
凉薯 97	1-	1-	1-	1+	1+	0+
新米拉	1-	1-	1-	0-	1-	1-
白土豆	1-	0+	0+	0+	0+	0+
农院 2 号	1-	0+	1-	0+	1+	1+
HP ₁	1-	1-	1-	1-	1-	1-
台湾红	1-	1-	1-	1-	1-	1-
HP ₂	0-	0+	1-	1+	0+	1-
污染率	18.5%			59.3%		
成活率	81.5%			55.6%		

注:“0”表示死亡;“1”表示成活;“+”表示污染;

“-”表示未污染。

由表 1 可见：处理①灭菌效果、成活率均明显的高于处理②，这表明同时采用二种消毒剂，尤其经酒精短暂的预处理可增强升汞的消毒效果，降低污染率，而单纯延长消毒时间将造成茎尖大量死亡。在试验中还发现先消毒再剥离茎尖易造成污染，剥离后切取到所需大小的茎尖再消毒易死亡，而剥离消毒完毕再切取茎尖易成活，操作简便易行。

从 1996 年 11 月 14 日至 1997 年 1 月 15 日对收集、选取的 9 个品种进行剥离，共剥

离茎尖 244 个，培养成苗 66 株，成苗率 27.0%。

2 茎尖分化生长

将剥离茎尖按无菌操作的方法移至培养基，于 25℃ 左右，光照强度 1000~3000lx，相对湿度 80%，空气洁净的培养室中培养，5d 后即可转绿。茎尖在不同培养基上的生长情况见表 2。

表 2 不同培养基上茎尖分化生长情况

培养基编号	培养基配方	茎尖生长情况
P-1	MS+NAA ³ mg/L+6-BA ⁵ mg/L	茎尖淡黄，有小芽开始伸长
P-2	MS+NAA ^{0.1} mg/L+6-BA ^{0.5} mg/L	茎尖绿色，无小芽，茎未伸长
P-3	MS+6-BA ² mg/L	茎尖绿色，无小芽，茎伸长
P-4	MS+6-BA ^{0.5} mg/L	茎尖绿色，有小芽，茎明显伸长
P-5	MS+GA ₃ ^{0.1} mg/L	茎尖绿色，有小芽，开始生长
P-6	MS+GA ₃ ^{0.25} mg/L	茎尖绿色，有小芽，开始生长
P-7	MS+GA ₃ ^{0.5} mg/L	茎尖绿色，有小芽变化
P-8	MS+6-BA ^{0.15} mg/L	茎尖淡黄或白，有芽，茎伸长
P-9	MS+6-BA ^{0.25} mg/L	茎尖淡黄或白，茎尖有变化

注：每种培养基均加 3% 的食用白糖，0.6% 的琼脂

由表 2 经对茎尖转绿情况、芽分化及茎伸长等方面比较可见，P-4 表现最好；其次为 P-5、P-6、P-7；其它几种基质表现较差。

一般情况下 40~50d 即可成苗，但茎节长，苗较细弱。

3 病毒鉴定

茎尖分化成苗后，挑取生长健壮的苗送往西南农大进行茎尖病毒鉴定，所采用的方法有：生物学鉴定方法、酶联免疫检测法与电镜观察相结合的方法，主要以酶联免疫检测法为主。分二批共送 36 个株系的茎尖分化苗进行鉴定，这些品（系）为新米拉（1）、台湾红（8）、白土豆（1）、红土豆（2）、坝 10（6）、HP₁（0）、凉薯 97（1）、坝 9，检查发

现脱去 X 病毒的脱毒率为 100%，Y 病毒脱毒率仅为 50%。

4 切段快繁和培养壮苗

把茎尖培养获得的脱毒小苗切成段，每段带一个叶片，叶片向上插入培养基上，3d 左右从叶基处长出新根，伸入培养基中，接着从叶腋处长出新芽，在三周左右就又长成 6~8 个节的小苗，再进行下一次的快繁。在切段快繁过程中，我们发现用 MS+6-BA^{0.5}mg/L 固体培养基培养出的脱毒苗长势弱，节间长。要培养诱导试管薯和田间扦插苗必须先培养壮苗，我们又在 MS 中分别加入每升 0.05mg 的 6-BA、每升 20、30、40mg 的 B₉，经培养观察发现，加 0.05mg/L 6-BA 培养的苗弱，节间长，平均 6 片叶株

高 5.5cm, 而加 20mg/L B₉ 的基质培养的苗平均 6 片叶株高 3.5cm, 苗粗壮。在 B₉ 20~40mg/L 间, 苗长势差异不大, 为节约成本选用 MS+20mg/L B₉ 培养快繁壮苗。

5 脱毒植株的保存

试管苗在离体条件下多次继代, 特别是长期生长在高激素含量的培养基中, 有可能引起芽变, 同时多次转瓶易造成污染。为了延长脱毒后的试管苗使用寿命, 我们分出了部分苗转入保存用培养基, 这样可以大大减少周转次数及污染机率。在我们实验室没有降温设备, 采用在培养基中添加生长延缓剂和改变培养基成分等方法, 使脱毒苗缓慢生长。采用了以下两种培养基:

- ①MS + B₉ 30~50mg/L + 食用白糖 3% + 琼脂 0.6%。
 - ②MS + 6-BA 0.5mg/L + 甘露醇 3% + 食用白糖 3% + 0.6% 琼脂。
- 在 25℃ 左右, 第一种配方可保存 5 个月

左右, 第二种配方可保存一年。

6 试管薯诱导

培养出健壮的试管苗后, 用根系发达、茎秆粗壮、叶色浓绿的试管苗做材料诱导试管薯。

6.1 诱导培养基

(1) 液体培养基: 为了降低成本, 首先选用了 MS + 6-BA 5mg/L + B₉ 200~500mg/L 的液体培养基培养。在液体培养基中用纱布、棉花、滤纸做搭桥避免茎段完全淹没于培养基窒息而死。试验证明: 这几种方法操作时培养瓶要尽量直立, 不能有太大震动, 易造成污染, 而且一旦发生细菌污染不易及时发现很快就会蔓延, 培养后结薯很少。

(2) 固体培养基: 经液体培养后我们改用固体培养基, 1997 年 6 月采用 MS + 6-BA 5mg/L + B₉ 200~500mg/L + 食用白糖 8% + 0.7% 琼脂培养基, 每瓶插茎段为 18 个, 培养 40d 取薯称重, 结果见表 3。

表 3 不同浓度的 B₉ 诱导结薯情况

激素水平	台湾红 (1)		凉薯 97		HP ₄		平均	
	结薯数 (个/瓶)	薯重 (g/个)	结薯数 (个/瓶)	薯重 (g/个)	结薯数 (个/瓶)	薯重 (g/个)	结薯数 (个/瓶)	薯重 (g/个)
B ₉ 200	20	0.073	16	0.0570	15	0.050	18.3	0.060
B ₉ 350	17	0.070	12	0.0297	24	0.082	17.7	0.061
B ₉ 500	26	0.086	10	0.0370	22	0.050	19.3	0.041

由此可见, 随激素 B₉ 浓度升高, 结薯数量不同, 以 B₉ 500mg/L 最高为 19.3/瓶, 但薯重下降, 从综合结薯数、薯重及降低成本等方面考虑以 B₉ 200mg/L 最好。

1998 年 3 月采用 6 种培养基(见表 4) 进行试管薯诱导, 同样每瓶插 18 个茎段, 转暗 4d 调查, 结薯率高低依次为 CCC^{0.5} > CCC^{0.9} > CCC^{1.1}, 而未加矮壮素的基质①、②均未结薯。培养 73d 后检查, ①、②培养

基中培养的品系新米拉、实生薯、白土豆、凉薯 97 等均未结薯, 仅坝 10 每瓶结薯 3 个左右, 且薯块极小, 白土豆抽芽萌发, 究其原因可能是 B₉ 大量吸湿, 浓度大大降低。6 种培养基中的③~⑥号培养基均结薯, 结薯情况见表 5。

由表 5 可见, 结薯率以 CCC^{0.5} 和 CCC^{1.1} 位居第一, 16.6 个/瓶, CCC^{0.7} 每瓶 15 个位居第二, CCC^{0.9} 每瓶 13.6 个最

低；薯重大小依次为 $CCC^{0.7}$ 和 $CCC^{0.9} > CCC^{1.1} > CCC^{0.5}$ ，综合结薯的早迟、多少、

薯重的情况，为降低成本，以选用 $CCC^{0.5}$ 和 $CCC^{0.7}$ 为好。

表 4 结薯培养基配方

编号	简称	配 方
①	01	MS+6-BA ⁵ mg/L+B ₉ 500mg/L+食用白糖8%+0.6%琼脂
②	02	MS+6-BA ⁵ mg/L+B ₉ 300mg/L+食用白糖8%+0.6%琼脂
③	CCC ^{0.5}	MS+6-BA ⁵ mg/L+CCC ^{0.5} mg/L+食用白糖8%+0.6%琼脂
④	CCC ^{0.7}	MS+6-BA ⁵ mg/L+CCC ^{0.7} mg/L+食用白糖8%+0.6%琼脂
⑤	CCC ^{0.9}	MS+6-BA ⁵ mg/L+CCC ^{0.9} mg/L+食用白糖8%+0.6%琼脂
⑥	CCC ^{1.1}	MS+6-BA ⁵ mg/L+CCC ^{1.1} mg/L+食用白糖8%+0.6%琼脂

表 5 不同浓度 CCC 诱导结薯情况

激素水平	新米拉 (6)		坝薯 ¹⁰ (3)		台湾红 (1)		HP ⁴		平均	
	结薯数 (个/瓶)	薯重 (g/个)	结薯数 (个/瓶)	薯重 (g/个)	结薯数 (个/瓶)	薯重 (g/个)	结薯数 (个/瓶)	薯重 (g/个)	结薯数 (个/瓶)	薯重 (g/个)
CCC ^{0.5}	17.0	0.0238	18.5	0.0314	19.0	0.0175	12	0.02401	16.6	0.0242
CCC ^{0.7}	16.0	0.0232	16.0	0.0512	15.0	0.0149	13	0.02000	15.0	0.0273
CCC ^{0.9}	9.0	0.0229	16.5	0.0540	13.0	0.0081	16	0.02400	13.6	0.0273
CCC ^{1.1}	14.0	0.0193	18.5	0.0510	19.0	0.0128	15	0.01770	16.6	0.0252

在我们的试验中可看出：为了短期内生产大量高质量的试管薯，没有外源诱导激素参与是不行的，这与连勇的观点有所出入，在外源诱导剂中以 B₉200mg/L 及 6-BA 和

CCC 作为诱导剂为好。

在试管薯的诱导中还发现，不同株系在相同的诱导条件下，试管薯的薯重（见表 6）及结薯率有很大差异，一般经反复脱毒的株

表 6 在相同基质上不同品（株）系结薯大小情况

品（株）系	基质配方	薯重 (g/50 粒)
坝 10 (6)	MS+6-BA ⁵ mg/L+CCC ^{0.5} mg/L+食用白糖8%+0.6%琼脂	1.9188
坝 10 (4)	MS+6-BA ⁵ mg/L+CCC ^{0.5} mg/L+食用白糖8%+0.6%琼脂	1.8580
坝 9 (2)	MS+6-BA ⁵ mg/L+CCC ^{0.5} mg/L+食用白糖8%+0.6%琼脂	1.7601
凉薯 97 (1)	MS+6-BA ⁵ mg/L+CCC ^{0.5} mg/L+食用白糖8%+0.6%琼脂	1.4918
坝 10 (2)	MS+6-BA ⁵ mg/L+CCC ^{0.5} mg/L+食用白糖8%+0.6%琼脂	1.4743
坝 10 (3)	MS+6-BA ⁵ mg/L+CCC ^{0.5} mg/L+食用白糖8%+0.6%琼脂	1.4698
新米拉 (9)	MS+6-BA ⁵ mg/L+CCC ^{0.5} mg/L+食用白糖8%+0.6%琼脂	1.4378
农院 2 号 (8)	MS+6-BA ⁵ mg/L+CCC ^{0.5} mg/L+食用白糖8%+0.6%琼脂	1.3834
坝 10 (5)	MS+6-BA ⁵ mg/L+CCC ^{0.5} mg/L+食用白糖8%+0.6%琼脂	1.3769
凉薯 97 (6)	MS+6-BA ⁵ mg/L+CCC ^{0.5} mg/L+食用白糖8%+0.6%琼脂	1.2633
坝 9 (1)	MS+6-BA ⁵ mg/L+CCC ^{0.5} mg/L+食用白糖8%+0.6%琼脂	1.2465
实生薯 (1)	MS+6-BA ⁵ mg/L+CCC ^{0.5} mg/L+食用白糖8%+0.6%琼脂	1.1008
新米拉 (6)	MS+6-BA ⁵ mg/L+CCC ^{0.5} mg/L+食用白糖8%+0.6%琼脂	1.2820
白土豆 (3)	MS+6-BA ⁵ mg/L+CCC ^{0.5} mg/L+食用白糖8%+0.6%琼脂	0.8649

高海拔地区马铃薯全生育期地膜覆盖栽培技术

桑得福

(甘肃省定西地区农技站 743000)

1 前言

地膜覆盖农作物的增产机理之一是提高土壤温度, 改善作物的生长发育条件。而马铃薯是一种喜凉作物, 尤以生育后期的温度过高则反而会影响块茎的增长。因此必须严格规范应用马铃薯全生育期地膜覆盖栽培技术, 使其真正发挥其增产作用。1995~1997年我们对该项技术从应用区域、主要技术规

收稿日期: 1998-08-10

格等方面进行试验研究。

2 分析结果

2.1 适种范围的基本生态条件

综合分析3县6点次不同海拔区的产量结果的结论是, 适宜于发展马铃薯全生育期地膜覆盖栽培的最佳生态区域的生态条件为海拔2400~2600m, 年均气温6℃以下, 年 $\geq 10^{\circ}\text{C}$ 的活动积温2000℃以下, 年降雨量500~600mm的高海拔地区。

系结薯情况优于初次脱毒的株系, 这可能是不同品种(系)体内生理代谢有差异, 同时脱毒过程对不同株系体内生理代谢有所影响。

6.2 诱导试管薯的环境条件

在试验中经对诱导结薯阶段每天给予8h的光照处理和接入诱导培养基后, 继续在16h光照条件下培养3d转入暗培养两种处理相比较发现, 后者在结薯率及缩短结薯时间上都有明显提高。

6.3 生长周期

试管薯诱导从诱导培养开始到收获一般要40~50d, 采用250ml三角瓶每瓶18个茎段, 一次可收试管薯15~30粒。

试管薯收获后要用清水多次冲洗, 用滤纸吸去表面的水, 置于4℃冰箱中保存, 待其自然通过休眠后, 取出播种。

7 小结与讨论

a. 在我们的实验条件下, 从剥离茎尖脱毒到生产出脱毒试管薯需6~7月时间。西藏大部分时间气候较干燥, 同时交通不便, 运输蛭石困难, 费用高, 用试管薯生产原原种, 可大大提高成活率, 加快原原种的生产。

b. 在我们的试验中, 茎尖脱毒培养成苗及诱导试管薯所需时间均比资料记载时间长, 结薯量相对偏少。

c. 根据黄楚材等人(1980)的研究, 马铃薯X病毒和S病毒离生长点很近, Y病毒离生长点较远。而我们的脱毒材料送经西南农大检验X病毒的脱毒率为100%, Y病毒的脱毒率为50%, 其原因有待于进一步探明。