

国外考察

丹麦马铃薯脱毒种薯生产技术

汪伟成

(内蒙古呼盟种子分公司)

得。

1 马铃薯组织培养技术

丹麦马铃薯组织培养技术主要表现在3个方面:一是脱毒种薯生产程序;二是加速优良品种的繁育速度;三是保存种质资源。这三项工作全部在国家植物病理研究所进行。自1961年便开始实施生产健康种薯的计划,1970年有50个品种实现种薯无毒化,1986年所有栽培品种种薯均由无病茎尖培养所

1.1 茎尖剥离切割和茎段繁殖技术

丹麦马铃薯茎尖剥离切割材料取自品种性状典型的块茎。将块茎顶芽端切下种植,对其植株进行PSTV检测;块茎脐部切下进行环腐病鉴定,淘汰含有PSTV和环腐病的块茎。将不带有PSTV和环腐病的块茎进行芽培。经芽培获得健壮种芽的块茎于30%的Korsoline消毒液中进行消毒20分钟(此

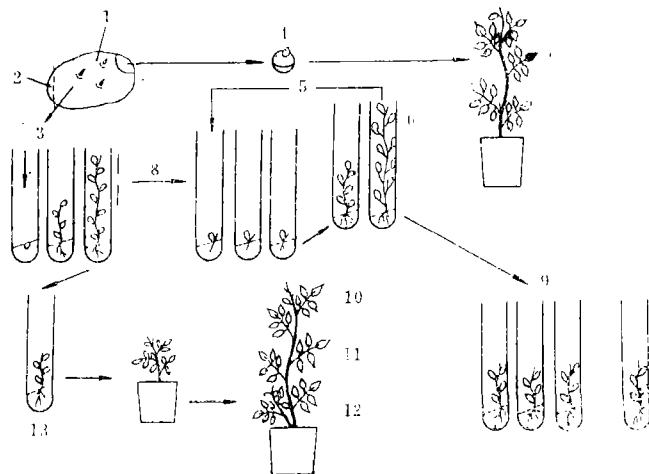


图1 马铃薯组织培养与病害鉴定

注:1—选择品种性状典型的块茎;2—环腐病检测;3—茎尖切割;
4—萌芽;5—切段繁殖;6—保存培养;7—PSTV检测;8—切
段;9—繁殖健康苗;10—指示植物鉴定;11—ELISA、
ISEM;12—细菌鉴定;13—基部用于检测

消毒液不经无菌水冲洗即可茎尖剥离)。在无菌条件下,切下含有2个叶原基的茎尖分

生组织,大小约0.1~0.2 mm。剥离时采用冷光源照明减少茎尖因热光源照射失水过多

而死亡, 以此提高成活率。切下的茎尖接种在茎尖培养基上。

待茎尖试管苗长成6~8个叶的成株后, 进行切段繁殖, 每株切5~7段(不含茎顶段和基部弱节段)。繁殖至一定数量后, 即进行病毒鉴定, 淘汰带毒株系, 无毒株系即可进行扩繁用于生产或进入保存培养室中(见图1)。

1.2 培养基及培养条件

1.2.1 培养基

丹麦马铃薯茎尖、茎段试管苗的培养均采用固体培养基, 但两者琼脂含量不同, 茎尖培养基较软。且两种培养基的成分含量、种类也不一样(见表1和表2)。经过多年试

表 1 马铃薯茎尖培养基成分
(单位: 毫克/升)

成 分	浓 度
NH ₄ NO ₃	1650
KNO ₃	1900
CaCl ₂ ·2H ₂ O	440
MgSO ₄ ·7H ₂ O	500
KH ₂ PO ₄	170
FeSO ₄ ·7H ₂ O	27.8
H ₃ BO ₄	1.0
MnSO ₄ ·4H ₂ O	0.5
KI	0.01
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.03
ZnSO ₄ ·7H ₂ O	1.0
AlCl ₃	0.03
NiCl ₂ ·6H ₂ O	0.03
NaFe EDTA	38.0
烟酸	1.0
维生素B ₁	1.0
D-泛酸钙	0.5
核黄素	0.1
氨基苯甲酸	1.0
叶酸	0.01
生物素	0.1
吡哆丁酸	0.2
硫酸腺嘌呤	80
肌醇	100
蔗糖	20000
琼脂	7500
pH	5.3~5.5

验得到适合两种不同培养要求的培养基, 两培养基有一共同特点, 即各种成分齐全, 这

表 2 马铃薯试管苗茎段培养基成分
(单位: 毫克/升)

成 分	浓 度
NH ₄ NO ₃	1650
KNO ₃	1900
CaCl ₂ ·2H ₂ O	440
MgSO ₄ ·7H ₂ O	500
KH ₂ PO ₄	170
H ₃ BO ₄	6.2
NaSO ₄ ·4H ₂ O	22.3
ZnSO ₄ ·4H ₂ O	3.6
KI	0.83
Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0.25
CoCl ₂ ·6H ₂ O	0.025
CuSO ₄ ·5H ₂ O	0.025
NaFe EDTA	38.0
甘氨酸	2.0
烟酸	0.5
维生素B ₆	0.5
维生素B ₁	0.1
吡哆丁酸	1.0
水解酪蛋白	1000
肌醇	100
蔗糖	30000
琼脂	9500
pH	5.0~5.2

样有利于提高脱毒茎尖培养成活率和培养切段壮苗。茎尖培养基 pH 值为5.3~5.5, 茎段培养基 pH 值为5.0~5.2。

培养基配制前, 针对不同培养要求将培养基成分分成若干组(组间混合不会改变成分性质), 即配制成若干母液, 母液稀释 10 或 100 倍即是培养基各成分的含量。培养基配制过程是: 配制母液→加液体成分→加

固体成分→定容→调 pH 值→高压灭菌→分装（或存放待用）→4 天后使用。

1.2.2 培养条件

在丹麦植物病理研究所, 马铃薯茎尖和茎段繁殖均采用 150×20 mm 的试管进行培养。每试管装培养基 5ml, 接种一茎尖或一茎段, 封口采用塑料封口盖, 该盖内侧有脊, 试管内外可进行空气交流, 这种塑料盖易消毒, 操作方便。

茎尖培养和切段 殖培养的温度为 20~22℃, 光照强度 1500~2000 勒克斯, 光照时间为每天 16 小时。上述条件下, 茎尖接种后 15~17 周, 即可长成 6~8 个叶片的茎尖苗; 茎段经 6~8 周的培养长成 6~8 个叶片的成株苗。保存种苗的培养条件是培养温度为 10~12℃, 光照强度 2000~3000 勒克斯, 光照时间 16 小时, 保存培养条件下, 试管苗生长缓慢、健壮。丹麦植物病理研究所已有保存 13 年的无毒试管苗。

2 马铃薯育种及脱毒种薯生产

丹麦马铃薯育种和种薯繁育体系健全, 制度严格, 为马铃薯生产源源不断地提供新的优质品种和健康的脱毒薯。

2.1 马铃薯育种

丹麦 Vandel 育种站具有悠久的历史。这里每年播种 40000 个实生种子, 可育出若干个适合不同需要的优良品种。1 个品种从杂交到推广需 3~10 年的时间, 新育成的品种表现产量高, 或抗病出窖, 或品质优良等。育成的新品种需经政府部门进行多方面的试验、评定后, 方可在国内外推广, 并要纳入脱毒种薯生产计划。

2.2 脱毒种薯生产体系

丹麦马铃薯脱毒种薯生产共分成 8 个级别, 10 代种薯 (见表 3)。国家植物病理研究

表 3 丹麦马铃薯种薯生产体系

种薯级别	生产地	年 限	原 代	质量管理部门
核心种	国家植物病理研究所	1	茎尖剥离, 切段繁殖, 保存培养	国家植物病理研究所
		2	试管苗繁殖 第一块茎世代生产	
原原种	S S	马铃薯研究中心	第三块茎世代	国家植保委员会
			第三块茎世代	
	S	国家植保委	第四块茎世代	种薯局及 管理局
	S E E	员确定的专 业农户	第五块茎世代	
原 种	S E		第六块茎世代	植保站
	E E	植保站管理	第七块茎世代	
	E	的专业农户	第八块茎世代	
	A A		第九块茎世代	
合格种	A		第十块茎世代	

所生产脱毒苗和第1块茎世代, 为马铃薯研究中心提供核心种薯, 并负责核心种薯质量的管理; 原原种SS级两代种薯由马铃薯研究中心生产, 国家植保委员会管理这两代种薯做质量; 原原种S、SEB、SE级种薯由国家植保委员会确定的专业农户生产, 其质量由马铃薯种薯管理站负责管理; 原种EE、E级和合格种AA、A级种薯由植保站管理的专业农户生产, 质量由植保站管理。所有种薯生产专业农户必须经政府植保部门的严格挑选, 指定专业农户逐级生产和提供各级种薯。

丹麦脱毒种薯生产体系4个特点: ①各级种薯的生产都有相应的管理部门对其质量进行监督管理。②不同级别的各级种薯连续更换其种植地。③原原种S级以下各级种薯都由政府植保部门指定的各级种薯生产专业农户进行生产; ④全部供应生产的马铃薯的种薯都由脱毒种薯生产体系提供。

2.3 种薯生产技术

2.3.1 核心种和原原种SS级种薯的生产

核心种的生产是在国家植物病理研究所和马铃薯研究中心进行。根据生产需要制定马铃薯试管苗繁殖计划, 从新剥离的无毒株系或保存培养室中取出种苗进行切段扩繁和培养室培养。当试管苗繁殖至要求的数量时, 在植物病理研究所的防蚜温室中切段育苗, 育苗基质是经过消毒的泥炭土, 将试管苗每株切成5~7段, 每段含有1个叶片, 然后将茎段扦插育苗盘的基质中, 营养面积7cm×7cm, 保温8~10天, 经4周育苗时间, 完成育苗阶段。

将育成的壮苗移栽到深约15cm的盒子中, 栽植深约12cm, 然后将盒子移入马铃薯研究中心的防蚜网室中进行生产, 网室内灌溉、施肥均在网室外进行控制。3个月

后, 第1世代块茎即可收获。收获的块茎再

2.3.2 原原种S级以下各级种薯的生产

a. 原原种S级以下各级种薯均由专业农户繁殖。农场主必须向政府植保部门提出申请, 并得到委托繁殖的批准后, 才能进行种薯的生产。农场主的地块需要进行检验, 如其地块含下列一种病虫害, 即取消其资格: 马铃薯环腐病, 马铃薯枯萎病、马铃薯癌肿病、胞囊线虫和马铃薯甲虫。同时还要考察农场主种植马铃薯的经验和技术、地块的地理位置、灌溉条件以及种薯分级车间、种薯窖等设施条件, 以此确定生产不同级别的种薯。目前, 丹麦已确定478个农户可进行种薯生产, 其中12户繁殖原原种, 有152户繁殖原种、314户繁殖合格种。

b. 原原种实行5年轮作, 其余级别的种薯实行4年轮作; 原原种隔离区为50米, 原种为25米, 合格种为15米; 各级种薯均采用整薯播种, 加大行距, 合理进行施肥, 全部实行机械化田间作业。

c. 各级种薯在生育期间都要经政府不同管理部门进行田间检验, 依据不同级别生育期间要检验2~3次, 收获后还要进行病毒鉴定(ELISA法)。

d. 收获前要进行灭秧, 在收获、贮存、运输和分级过程中严防机械损伤, 种薯大小分级后要检查块茎带病、破伤和变形情况, 贮存、分级采用地上调空库, 温度控制在3~4℃。各级种薯入库前, 种薯库、运输工具及库内设备都要进行消毒处理, 防止各种病害的传染。

3 马铃薯种薯生产的检验

不同级别的种薯由不同级别的政府植保部门进行几方面检验, ①种植前对地块进行病

虫害检验; ②种薯生育期间的田间病虫害检验和生产程序的检查; ③收获后检验等。各级检验部门都严格执行检验标准, 在丹麦这已形成法律制度, 如有违背即取消种薯繁殖专业户资格。各检验方法如下。

3.1 种薯生产的地块检验

农场主向政府植保门提出申请, 在获得委托繁殖批准前, 政府植保部门要对其准备进行种薯生产的耕地进行病虫害检验。主要检验的病虫害有: 马铃薯环腐病、马铃薯萎蔫病、马铃薯癌肿病、胞囊线虫和马铃薯甲虫等。如检验出有上述其中的1种病虫害, 则无权繁殖各级种薯。

3.2 种薯生育期间的田间检验

包括两个内容: 一是田间病虫害的检测, 二是种薯生产程序的检查。不同级别的种薯由不同的政府部门进行田间检验。根据各级种薯的熟期决定是田间检验的时间。田间检验一般每年2~4次, 不同级别的种薯检验的次数也不一样, 级别越高检验的次数越多。各级种薯田间检验标准见表4。原原种SEE级以前的各级种薯, 田间检验不允许带有任何病害, 原原种SE级种薯病毒株率不准超过0.2%, 原种EE和E级种薯病株率不准超过0.4%, 合格种薯AA和A级病毒株率不准超过1%。

表4 原原种及原种和合格种田间检验标准

	原原种 SE级	原种 EE和E级	合格种 AA和A级	合格种 B级*
品种混杂 (%)	0	0	0.05	0.05
卷叶病 (%)	0.1	0.2	0.5	1.0
花叶病 (%)	0.1	0.2	0.5	1.0
黑胫病 (%)	0.3	0.5	1.0	2.0
变型率 (%)	0.01	0.05	0.25	—

* B级种薯不能出口

田间检验的另一项主要工作是检查农场主是否按种薯繁殖操作规程生产种薯。田间检验前专业农户必须向政府植保部门申报耕地轮作年限, 前茬作物, 及上一级种薯的来源。还要对专业农户是否进行收获前灭秧进行检查, 根据具体年分蚜虫发生情况规定时间要求种薯繁殖农户进行收前灭秧, 除合格种A级外, 如其它各级种薯的生产未按要求灭秧, 即将该级种薯降低一级进行处理。并检查隔离距离。

3.3 收获后的病毒鉴定和块茎抽查

收获后检测在室内进行, 具体方法是血清学鉴定的ELISA法检验原原种、原种、易感病毒病品种的合格种以及未按要求进行

提前灭秧的各级种薯。每15亩或每块地取100个块茎, 防虫温室种植后鉴定植物叶片。具体标准见表5。原原种SS、S、SEE级种薯抽样鉴定病株率不得超过2%, SE级种薯病株率总计不得超过6%, 其它各级不进行PVX、PVS和PVM鉴定, 只进行PVY和PLRV鉴定, 病株率允许值见表5。

各级种薯收获后, 还要对块茎进行质量抽样检验, 检验块茎的病虫害率, 品种纯度、块茎的机械性和生理性伤害率以及杂质含量。纯检验块茎不得带有各级种薯生产前对其地块检验的病虫害。其它各项检验标准见表6。其中a、b、c、d四项相加总计不得超过6%

表 5 各级种薯收获后病毒鉴定标准 (ELISA法)

		SS, S, SEE	SE	EE, E	AA	A	B
PVX	(%)	0	0	—	—	—	—
PVS+PVM	(%)	1	5	—	—	—	—
PVY+PLRV	(%)	1	1	2	4	8	10

注：—代表该病毒不进行检测

表 6 各级种薯块茎检验标准

a. 湿腐和干腐率 (%)	1.00
b. 马铃薯疮痂病率 (块茎表皮有1/3以上疮痂病) (%)	5.00
c. 缺陷块茎率 (沟裂薯, 畸形薯、伤薯) (%)	3.00
d. 块茎品种混杂率 (原原种和原种) (%)	0
块茎品种混杂率 (合格种) (%)	0.05
e. a~d累加值	6.00
f. 土块及杂质含量 (%)	2.00

4 病虫害鉴定技术

从茎尖剥离到各级种薯的生产中要经过多次病虫害检验鉴定, 级别越高, 鉴定次数越多, 检验的病虫害种类亦越多。检验的病虫害有: 病毒 PVX, PVY, PVS, PVM, PVA, PLRV、类病毒PSTV、环腐病、胞囊线虫等。

4.1 病毒鉴定

a. 血清学方法 采用酶联免疫吸附测定法 (ELISA), 丹麦采用的是双抗体 ELISA法。该法灵敏快速, 可用于室内试管病毒检测和收获后大量样品的鉴定。使制备好的特异性抗体球蛋白与抗原相结合, 用酶标记的抗体球蛋白处理, 然后加入酶反应底物, 根据溶液色泽变化用肉眼或酶标读数仪来判断结果。该法可作定量测定。

b. 免疫吸附电泳法 (ISEM) 该法主要用于茎尖茎和准备进行扩繁用以生产的保存种苗的病毒检测。这种方法是把特异性抗体先吸附在铜网上, 加上抗原, 第二次再加

上抗体, 最后用醋酸铝染色, 再用电子显微镜进行观察结果。由于借助电子显微镜, 更由于抗体“捕获”了抗原, 使得用 ISEM 法可鉴定出微量的病毒, 该法也比较简便、直观、快速, 且灵敏度高、专化性强。用 ISEM 法鉴定茎尖苗和保存种苗, 可保证核种的高质量。

c. 指示植物法 这种方法只适用于鉴定靠汁液传染的病毒, 将被鉴定植物株叶片汁液接种到指示植物上, 保持一定温度, 一定时间, 根据指示植物症状判断结果。该法主要用于 PSTV 的检测和其它靠汁液传染的病毒。

4.2 类病鉴定

丹麦主要用指示植物法鉴定类病毒 PSTV。指示植物番茄可分辨出强系和弱系。目前, 他们也研究采用电泳法 (PAGE) 鉴定 PSTV。丹麦是采用无 PSTV 的材料进行茎尖剥离切割, 因此对欲进行茎尖剥离的块茎鉴定其是否带有 PSTV, 检测后淘汰带有 PSTV 的块茎。选留无 PSTV 的块茎进行茎尖剥离。

4.3 环腐病的鉴定

主要采用免疫荧光法鉴定细菌性病害环腐病, 该法是用荧光标记抗体处理加抗血清的制备好的待测样品, 由荧光显微镜观察, 最后判断结果。该法比较灵敏、直观。同时也配合采用指示植物法鉴定马铃薯环腐病。对茎尖剥离材料必须经环腐病核测, 淘汰带病块茎, 在丹麦还要对各级种薯和商品进行环腐病抽样检测。无论那一级种薯, 如发现环腐病, 即取消种植该级种薯的农场主的种薯繁殖专业户资格。

4.4 线虫的检验

进行种薯生产的地块必须经线虫检验, 15亩取一样品送到国家植保委员会的线虫检验室检测。田间取样必须有代表性, 到实验室后进行分离过滤后, 由镜检判断结果。如发现地块有胞囊线虫, 即下予批准委托该地

块的农场主繁殖种薯。

5 值得我国借鉴的几方面

a. 丹麦的脱毒种薯生产是采用多世代进行繁殖, 每年只需种苗3000~5000株, 就能满足全国36000多公顷的马铃薯生产的需要, 并且还有部分种薯用于出口。这样由于种苗数量需求量相当少, 加上采用茎段扦插育苗技术, 可大大降低种薯生产成本, 并可提高种苗繁殖和育苗质量。这在我国目前的经济、设备条件下值得引鉴。

b. 丹麦马铃薯种薯生产体系健全, 种薯检验制度完善, 执行标准严格, 带有强制性, 并已形成法律制度。为强化各级种薯保种措施, 生产优质种薯提供了条件。

c. 全部新育成的品种都纳入脱毒种薯生产程序, 有利于加强种薯生产的管理, 减少各种病源, 提高种薯质量。

(上接175页)

去落后的栽培管理方法。由于没有专门的技术力量进行研究、推广高产栽培方法, 大部分地区还采用古老的栽培方式。一是种植密度太大。据对三县的调查, 每亩密度在7000窝以上的占60%, 最高密度达到11696窝, 每亩密度在4000~6000窝之间的占30%左右, 4000窝以下的只占10%。由于密度过大, 在同等肥力水平下有争水、争肥、争光矛盾, 造成窝重降低, 大、中薯比例小, 结薯多而小, 单主下降。从产果结果看控制在4000~6000窝之内, 才能达到高产目的。二是施肥水平偏低, 特别是磷、钾肥不足, 达不到高产马铃薯的施肥水平。由于山区种植面积较大, 有机肥相应不足, 大部分农户只施一部分农家肥或用山上的草皮树叶等充数, 很少施用磷肥和钾肥。据留坝县试验, 亩产要达到2000公斤以上, 每亩必须施用农

家肥2500公斤以上, 磷肥30~40公斤, 钾肥12.5~15公斤。三是耕作粗放, 表现在前期只打闷草而后期再不除草, 使后期发生严重的草荒, 或不起垄进行平窝种植, 不但不利于薯块膨大, 而且后期遇到阴雨易发生烂薯现象。还有极少部分人随犁点种, 倒苗后牛耕人捡, 更谈不上精心管理、造成各方面极大的浪费。必须改变以上粗放的栽培方法, 是提高单产的又一个重要途径。

总之, 我区马铃薯脱毒种薯试验推广工作虽然起步较晚, 但发展势头较猛, 从上到下都充分认识到脱毒马铃薯推广是提高其单产、总产水平、解决中、高山区农民吃粮问题的重要途径。我们期望全区马铃薯生产在短期内有一个较大的发展和提高, 为全区粮食生产再上一个新台阶而做出新贡献。