

马铃薯脱毒试管苗高效低成本生产技术

薛志和,张芳,郑改平,吴艳莉,吕军,王彩兰,常水利

(榆林市农科所,陕西榆林 719000)

马铃薯是世界上仅次于稻、麦、玉米的四大粮食作物之一。但马铃薯常规繁殖率低,病毒性退化较快,已成为限制马铃薯生产快速发展的主要因素。马铃薯脱毒试管苗的生产就是利用组织培养技术去除病毒,恢复种性。在较短的时间内繁殖出大量高质量的种苗,为马铃薯生产提供高级别脱毒种薯的一项技术。该技术经过我们2003年以来的应用研究,已形成了一套高效低成本的快繁技术。具体操作如下:

1 培养基的配置

马铃薯脱毒试管苗快繁我们选用的基础培养基是MS培养基。在脱毒试管苗快繁过程中,为了降低生产成本,我们简化了MS培养基,去除激素和部分有机物,采用分析纯以下级别的试剂配置母液,食用白糖代替蔗糖,煮沸自来水代替蒸馏水,卡拉胶代替贝利宁、琼脂等措施,配置生产用培养基对马铃薯试管苗进行快速繁殖。

1.1 母液的配置

从一些植物组织的培养基配方中可以看出,各种培养基中包括的组成成分很多,一般均在18种左右,所用药品也很不一致,配置培养基时需进行大量的称量,而且有些用量过少的也不易称量准确,耗时、费工又收不到良好的效果。为了节省时间,准确称量药品,配置合格的培养基,我们常将培养基成分按类分成几组,混合配成不同浓度的浓缩液或称储备液或母液,保存于冰箱中。该母液最好1~2月内使用完毕,不宜过长时间保存。用时按所需比例稀释为所需浓度。我们常将大量、微量、铁盐和有机物分别配成100倍、100倍、200倍、200倍母液。

1.2 生产用培养基的配置

称取卡拉胶5g/l先用冷水溶解,然后加自来水至2/3处,加热,待水快开时加食用白糖30g/l,不断搅拌溶解。水开后关掉电源,依次取所需的大量元素、微量元素、铁盐及有机物,加入容器中,再加煮沸自来水至所需体积。用精密pH试纸或pH仪测量pH值,用0.1N盐酸或0.1N氢氧化钠调

节pH值至5.8~6,然后分装培养基于培养瓶内,一般培养基高度8~10mm左右。在分装过程中注意不要把培养基倒在瓶口上,以防引起污染。然后用聚丙烯专用封口膜封口,也可用塑料瓶盖或其它材料封口。把封好的瓶放入高压灭菌锅消毒,当压力升至0.5kg/cm²时,缓慢打开排气阀排出空气,当冷空气排尽,压力表指针回到0位时,关闭排气阀重新升温,当压力达到1.1kg/cm²,温度升至121℃时,再保持15~20min,灭菌完毕后,打开放气阀排出蒸汽。排气时应由小到大逐步放气或自然冷却,以免放气过猛造成封口纸脱落或瓶子破裂。待压力下降至0时,打开锅盖取出培养基。每批快繁苗到了快出苗移栽时,为了降低成本,提高效率,我们通常采用液体培养基,每瓶培养基用量是固体的1/3。用液体培养试管苗生长既快又健壮,而且还可省去栽苗时清洗苗根部的残留培养基,既经济又实惠。

2 脱毒苗快繁(茎段快繁)

将消好毒的培养基搁置5~7d,确认无污染时,再用于脱毒苗的快繁,以排除由于培养基的菌类污染而导致的脱毒苗污染。

(1)接种前2~3d用稀释的来苏水擦净无菌室的地面和台面,开始工作前0.5h将无菌室和超净工作台的紫外灯开启。工作时先用硫磺皂洗手2~3遍,然后再用75%的酒精擦拭手和工作台面,达到无菌状态操作。

(2)从培养室拿出来的接种材料在进入无菌室前用75%的酒精喷洒培养瓶表面,接种用具剪子、镊子等浸入95%的酒精中,然后在酒精灯灼烧灭菌,等冷却后再用,以免灼伤接种材料。

(3)马铃薯试管苗转接时要用瓶转瓶的办法,即先用剪刀在基础苗瓶中将其剪成带一个腋芽的茎段,然后用剪子从瓶内取出接在新培养基的瓶中,以减少污染。通常直径6cm的培养瓶中,至少栽有13~15个茎段,每个茎段长1cm左右,至少有一个节(节上有叶片),茎顶部的节间短、节密集,应多切几段,放入培养瓶中的茎段不要集中在

一起,用定植钩使茎段均匀地栽植在培养基上。对接好茎段的培养瓶及时编号,并注明每次扩繁日期、人名、品种,7d后调查污染情况。

3 脱毒苗的培养

3.1 日光灯培养

将接好的苗瓶整齐摆放在已消毒的培养室中,一般瓶与瓶之间留一点空隙,利于光照。具体培养条件为:以每天12~16h光照,光强2000~3000lx左右(相当于两只40瓦日光灯下30cm处的光强),温度20~25度为宜,相对湿度70%~80%为宜。

3.2 自然光培养

除了节省人工培养光照所需大量电费外,还

具有明显优点。首先日光光质对植物光合作用来说显著优于人工光源光质,适于脱毒苗生长发育,且昼夜温差远远大于日光灯培养室,十分有利于脱毒苗光合产物的积累,生长快,特别到了后期练苗阶段,幼苗叶色浓绿,叶面肥大,茎秆粗壮,植株生长整齐健壮,移栽成活率高,生长好。不足之处是受外围环境影响较大,培养室不好彻底消毒,瓶苗污染率偏高。

4 出苗

最后一批液体苗长到15~20d时,为保证成活一定要及时出苗。将瓶苗掏出放在准备好的盘子里,裹一层保鲜膜,然后洒点水,2~3d内一定栽完,才能确保较高的成活率。

(上接第99页)

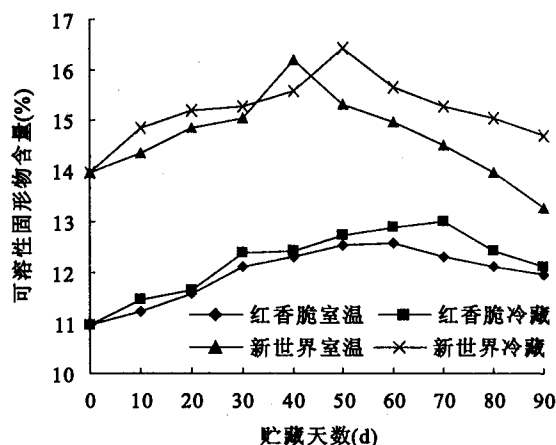


图4 苹果果实不同贮藏温度下可溶性固形物含量的变化

2.5 苹果果实不同贮藏温度下失重率的变化

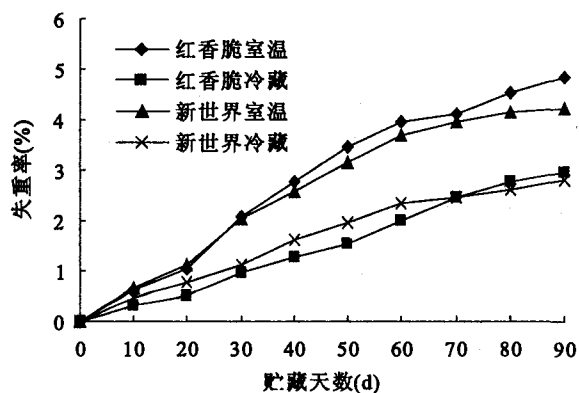


图5 苹果果实不同贮藏温度下失重率的变化

从图5可以看出,在贮藏过程中新世界和红香脆苹果果实在冷藏与室温条件下的失重率均呈上

升趋势,但冷藏处理可显著降低果实的失重率。贮藏初期,两者失重率的上升幅度较为平缓,中期上升幅度较大,后期上升幅度再次放缓。至贮藏结束时,冷藏处理新世界与红香脆果实失重率分别为2.8%与2.96%,而室温下为4.23%与4.86%。表明冷藏条件下二者的失重率明显低于室温条件下,其差异主要是室温条件蒸腾失水较多。

3 结论与讨论

0~1℃条件下较好的保持了新世界和红香脆苹果的果实品质,显著抑制果实的呼吸速率和乙烯产生速率,与粉红女士苹果^[4]上的研究结果相似。新世界与红香脆苹果在冷藏条件下均推迟了呼吸与乙烯高峰的到来时间,降低了跃变峰值。室温贮藏条件下新世界与红香脆苹果贮藏90d后果实硬度分别下降了4.60kg/cm²与3.36kg/cm²;冷藏条件下新世界果实硬度下降了2.58kg/cm²,红香脆果实硬度下降了1.98kg/cm²;二者的可溶性固形物在不同的贮藏条件下含量无变化无非常明显的差异;结果表明冷藏条件很好的保持了新世界与红香脆苹果的果实品质,有效的延长果实的贮藏期;同时从测定的各项指标还可看出红香脆苹果耐贮性优于新世界苹果。

参考文献:

- [1] 束怀瑞. 苹果学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1999.
- [2] 赵艺译. 热空气处理对红富士苹果贮藏品质及其生理指标的影响[J]. 南京农业大学学报, 2006, 29(3): 93~97.
- [3] 王小会, 任小林. 1-MCP处理对“美国8号”苹果采后生理的影响[J]. 食品研究与开发, 2007, 28(2): 144~147.
- [4] 唐燕, 马书尚. 1-MCP对嘎拉苹果呼吸、乙烯产生及贮藏品质的影响[J]. 果树学报, 2004, 21(1): 42~45.
- [5] Fan X, Mattheis J P, Blankenship S M. Development of apple superficial scald, soft scald, core flush and greasiness is reduced by 1-MCP [J]. Agri Food Chem, 1999, 47(8): 3063~3068.