

# 无糖组织培养技术在马铃薯种苗快繁中的应用

冯洁<sup>1</sup> 曹琳琳<sup>2</sup> 王越<sup>2</sup> 王力明<sup>2</sup>  
苗佳琪<sup>2</sup> 杜鹃<sup>1</sup> 柳俊<sup>1</sup> 蔡兴奎<sup>2</sup>

1. 华中农业大学生命科学技术学院/农业农村部马铃薯生物学与生物技术重点实验室, 武汉 430070;  
2. 华中农业大学园艺林学学院/园艺植物生物学教育部重点实验室, 武汉 430070

**摘要** 为提高马铃薯试管苗质量, 优化种苗生产, 改良马铃薯脱毒种薯繁育技术体系, 采用无糖组织培养技术, 以马铃薯早熟品种“华薯1号”的脱毒试管苗为材料, 以MS培养基附加4%蔗糖培养基为对照(CK), 比较无糖培养技术对试管苗生长发育的影响, 并探究无糖组培下不同培养基、支撑物及接种方式对马铃薯植株生长发育的影响。结果表明: 与传统的组织培养相比, 无糖组织培养下试管苗生长速度快, 试管苗更健壮, 在马铃薯脱毒种苗生产上更具优势。无糖组织培养条件下, 去除MS培养基中的有机成分, 仅包含无机成分, 对脱毒种苗的生长无显著影响, 但更能有效降低污染。以蛭石为支撑物代替琼脂的试验结果显示, 以蛭石为支撑的脱毒种苗生长速度快, 节间较长, 有“徒长”迹象。在以蛭石为支撑物培养条件下, 比较单双节段的扦插试验结果显示, 双节段扦插的种苗生长状况显著优于单节段扦插, 且双节段扦插成活率更高, 节段较大便于机械手操作。进一步将无糖组织培养试管苗扦插至网室生产微型薯, 与传统的有糖培养试管苗相比, 两者微型薯的结薯数量和大小均无显著差异。本研究建立的新型无糖组织培养技术, 可缩短马铃薯种苗的培养周期, 降低生产成本, 简化微型薯生产扦插繁育程序, 为实现马铃薯种苗机械化扦插奠定了基础。

**关键词** 无糖组织培养; 马铃薯种苗; 试管苗; 扦插; 快繁; 微型薯生产

**中图分类号** S 532 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2019)06-0062-08

马铃薯(*Solanum tuberosum* L.)属于茄科茄属一年生双子叶草本植物, 原产于南美洲安第斯山脉的秘鲁, 距今已有7 000多年的栽培历史<sup>[1]</sup>。由于其适应性广、耐贫瘠等优点, 成为继水稻、玉米、小麦后的第四大粮食作物和人类消费的第三大作物<sup>[2]</sup>, 种植面积广, 营养丰富, 在保障世界粮食安全中发挥着重要作用。

马铃薯连续种植几年后, 由于病毒病的侵染和积累, 会出现长势衰退、产量和品质降低等退化现象。马铃薯脱毒种薯的繁育可以从根本上抑制病毒病的发生和蔓延, 是解决种薯种性退化、产量降低、品质下降的最有效措施<sup>[3]</sup>。脱毒试管苗是马铃薯脱毒种薯繁育的重要材料, 快速繁殖健壮的试管苗是马铃薯脱毒种薯生产的基础环节, 保证在有限的时间内培育出茎秆粗壮、有效茎节数多的试管苗, 对马铃薯种薯的生产具有重要意义。

马铃薯试管苗生产通常采用密闭的培养瓶, 以

琼脂作为支撑物, 培养基中添加蔗糖供植株生长, 其繁殖率极高, 扩繁速度比常规方法快数万倍到数百万倍, 能够在短时间内生产出大批量的无毒试管苗, 有效保持了优良品种的特性<sup>[4]</sup>; 将无性繁殖从室外转向室内, 免受自然环境的影响, 达到工厂化生产的目的; 植株较小, 便于生产运输。

但在试管苗的传统组织培养过程中, 仍存在一些不足。由于培养基中含有大量的糖, 在整个组培生产过程中容易引起微生物污染, 使植株不能正常生长甚至死亡, 造成大量人力和物力的损失。由于使用的是密闭的小容器, 容器内空气不流动, 不同激素的积累变化使得组培苗外部形态和内部生理发生变化。湿度大、光照弱, 造成组培苗生长细弱, 表现出一些异常的形态、解剖及生理特征, 如叶片表层结构发育差、气孔调节异常、叶片小、叶绿素含量低、玻璃化、黄化、畸形和变异等<sup>[5-7]</sup>。由于在密闭容器中的异养生长, 种苗质量相对较差, 所以在进行室外移

收稿日期: 2019-05-23

基金项目: 国家马铃薯产业技术体系专项(CARS-09-P08); 湖北省科技创新重大项目(2017ABA145)

冯洁, 硕士研究生, 研究方向: 马铃薯种薯繁育, E-mail: 905468166@qq.com

通信作者: 蔡兴奎, 博士, 副教授, 研究方向: 马铃薯种质资源和生物技术, E-mail: caixingkui@mail.hzau.edu.cn

栽时必须经过驯化阶段,继而向自然环境转变,该过程需精细管理,出现问题则会导致较高的死亡率。

无糖组培快繁技术(sugar-free micropropagation)又称为光自养微繁殖技术(photoautotrophic micropropagation),是指容器中的小植株在人工光照下,吸收 CO<sub>2</sub> 进行光合作用,以完全自养的方式进行生长繁殖。通过调节 CO<sub>2</sub> 浓度、光照、温度、湿度等环境因子,使小植株由异养型转变为自养型,达到快速繁殖优质种苗的目的<sup>[8]</sup>。

本试验采用上海离草科技有限公司生产的强制性换气无糖培养盒,探究无糖组织培养下不同培养基、支撑物及接种方式对马铃薯植株生长发育的影响,进一步以有糖培养的试管苗为对照,比较无糖培

养快繁的马铃薯种苗对其微型薯数量和大小分布的影响,旨在为提高马铃薯试管苗质量,优化种苗生产、改良马铃薯脱毒种薯繁育技术体系提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料和用具

供试材料为马铃薯栽培品种“华薯 1 号”在 MS 培养基上生长 3 周的脱毒试管苗。用上海离草科技有限公司的无糖组培快繁装置作为无糖培养的容器(图 1)。无糖培养盒尺寸(长×宽×高):27.3 cm×21.6 cm×15.8 cm,对照采用 6.35 cm×6.35 cm×9.15 cm(长×宽×高)的透明培养盒。

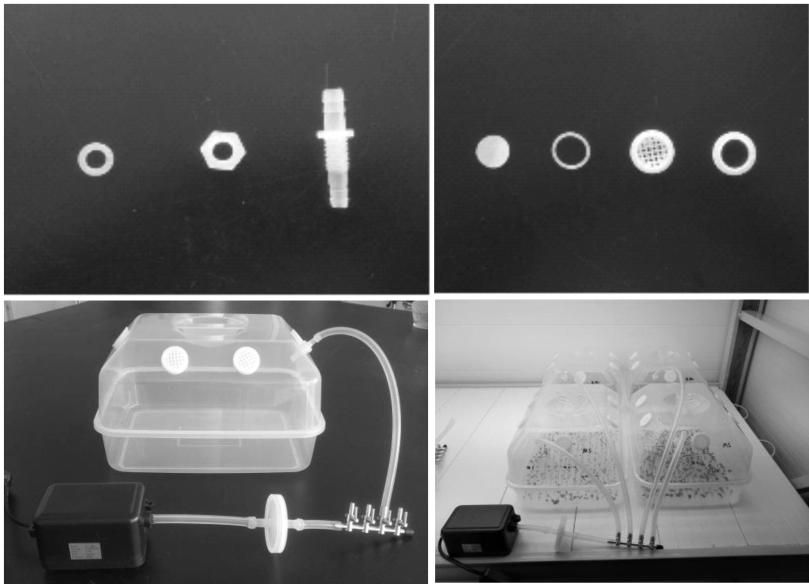


图 1 无糖组织培养容器与装置

Fig.1 Vessels and devices of sugar-free micropropagation

1.2 培养基配制及接种密度

以传统 MS 培养基附加 4%蔗糖培养基为对照(CK),培养基经过高温高压灭菌;无糖组织培养采用 2 种培养基:(1)MS 无机培养基(inorganic ion combination, IIC),培养基全部由无机盐构成,包括大量元素、铁盐、微量元素 3 个部分;(2)MS 完全培养基,培养基 pH 值为 5.8~6.0,无糖培养基不进行高温高压灭菌。

按照培养密度 5 000 株/m<sup>2</sup> 接种,传统培养盒每盒接种 20 个节段(4×5);无糖培养盒每盒接种 300 个节段(20×15)。

1.3 试验设计

1)无糖培养与有糖培养试管苗对比研究。以传

统 MS 培养基附加 4%蔗糖培养基为对照(CK),无糖培养设置 2 种处理,采用 2 种培养基:(1)IIC;(2)MS,均以 0.7%琼脂为支撑。

2)无糖培养不同支撑物对试管苗的影响。无糖培养液为 MS 无机培养基 IIC。支撑物设置 2 种处理:(1)琼脂;(2)蛭石。培养基不进行高温高压灭菌,蛭石经过高温高压灭菌后使用。

3)无糖培养以蛭石为支撑物单双节接种对试管苗的影响。无糖培养液采用 MS 无机培养基 IIC,以蛭石为支撑物,蛭石经过高温高压灭菌,无糖培养基不进行高温高压灭菌。将无菌试管苗和培养盒置于超净工作台,接种方式设置 2 种不同处理:(1)按照传统的单节段方式进行接种;(2)双节段接种,一节

在蛭石中,一节在蛭石外。

1.4 试管苗培养条件

培养条件为光周期 16 h/8 h,光照强度为 2 500~3 000 lx;培养温度(20±1)℃,无糖培养第 5 天开始通气,通气时间 12 h/d(每隔 15 min 通气 15 min),通气流量为(2.4±0.2) L/min。

1.5 试管苗测量指标与统计分析

培养 3 周后,每个处理随机选择 100 株进行测量,测量指标为试管苗株高和节间数(去除顶芽和原始节段)、由下到上前 3 节的节间长度、茎粗(基部以上 2 cm 左右)及除去根部的植株鲜质量,测量工具为游标卡尺和电子天平。测量数据利用 SAS 9.2 软件的 *t* 检验或方差分析,采用 Duncan's 新复极差法进行多重比较。

1.6 试管苗网室微型薯生产试验

微型薯生产试验地点为华中农业大学国家蔬菜改良中心(华中分中心)温网室。培养 3 周后,将不

同方式培养的试管苗在温网室内扦插繁育微型薯。传统有糖培养试管苗在强光下炼苗 3~5 d 后进行扦插,无糖培养试管苗不经过炼苗直接扦插。以常规种植密度 300 株/m<sup>2</sup>进行扦插,3 种不同培养方式的试管苗为 3 个处理。每个处理小区面积为 0.765 m<sup>2</sup>(0.85 m×0.90 m),3 次重复,随机区组设计。

收获时统计每小区微型薯的质量及薯数,按照≤3、3.01~5、5.01~10 g 和≥10 g 4 个级别进行分级。统计结果用 Excel 2016 及 SAS 9.2 进行方差分析,采用 Duncan's 法进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 无糖组织培养对马铃薯试管苗生长的影响

比较传统有糖组织培养和无糖组织培养 2 种培养方式的试管苗生长状况,可见无糖组织培养的试管苗较传统有糖培养的更粗壮、叶片更大、颜色更绿,其表型见图 2。



图 2 不同培养方式种苗生长状况对比图

Fig.2 Effects of different culture methods on potato seedlings growth

培养 3 周时,MS 无糖培养种苗的株高、节间数、茎粗和去根鲜质量等反映种苗生长状况的指标均极显著优于传统有糖的对照。MS 无糖组织培养条件下试管苗株高达 66.03 mm,极显著高于对照(CK)的 42.48 mm;平均单株节间数达 4.36 个,极显著高于对照的 3.29 个;平均茎粗达 0.89 mm,极显著高于对照的 0.74 mm;去根鲜质量达 0.15 g,极

显著高于对照的 0.06 g(表 1)。说明以通气代替蔗糖的无糖培养技术适合马铃薯脱毒种苗的繁育,马铃薯植株在光合自养条件下,自身能够很好地合成有机物。同时,培养过程中不使用蔗糖,可有效降低种苗培养的污染率,因此,马铃薯种苗无糖组织培养快繁无需严格的无菌环境。

进一步比较 MS 无糖和 MS 无机(IIC)处理对



马铃薯种苗生长状况的影响,研究结果显示,2 种无糖培养的脱毒种苗在株高、节间数和去根鲜质量等指标间差异不显著。但 IIC 处理的脱毒种苗第 1、第 2 节节间长度显著高于 MS 无糖培养,茎粗 0.82 mm,显著低于 MS 无糖培养的 0.89 mm(表 1)。说明在无糖培养条件下,进一步去除 MS 培养基中的有机成分,对马铃薯脱毒种苗的快繁影响不显著,脱毒种苗生长稍弱,但进一步降低了培养过程中的污染率,可以选择 MS 无机培养基 IIC 作为马铃薯脱毒种苗无糖培养的培养基。

表 1 不同组织培养方式对马铃薯种苗生长的影响  
Table 1 Effects of different culture methods on potato seedlings growth

指标 Index		MS 无糖 MS sugar-free	MS 无机 IIC	有糖培养对照(CK) MS with sucrose
株高/mm Plant length 节间数 Internode number 节间长度/mm Internode length	第 1 节 First	66.03±14.04aA	62.41± 13.03aA	42.48±11.56bB
	第 2 节 Second	4.36±1.37aA	3.86±1.36abAB	3.29±1.09bB
	第 3 节 Third	7.85±4.06bA	10.93± 7.52aA	8.84±5.18abA
		9.86±6.84bB	14.25± 7.63aA	13.78±6.41aA
茎粗/mm Stem diameter		14.5±7.13ab	16.17± 7.65a	12.85±6.66b
鲜质量/g Fresh weight		0.89±0.16aA	0.82±0.16bAB	0.74±0.15cB
		0.15±0.07aA	0.15± 0.07aA	0.06±0.04bB

注:表中大小写字母表示方差分析后的差异显著性结果;大小写字母分别表示 0.01 和 0.05 水平。Note:Different capital and small letters respectively indicate significance at 0.01 and 0.05 level in table.

2.2 无糖培养不同支撑物对试管苗的影响

传统有糖培养固体培养基一般选用琼脂为支撑物。琼脂价格较贵,而且是一种有机物,有可能引起污染。从节约成本和方便后期的种苗机械扦插考虑,以蛭石代替琼脂进行了试验。研究结果显示,蛭石培养的种苗株高达到 91.96 mm,显著高于琼脂培养的 57.38 mm。2 种处理的种苗节间数之间差异不显著;株高的增加,主要表现在节间长度的增加,蛭石培养的种苗在前 3 节节间长度均极显著高于琼脂培养的种苗。茎粗方面,蛭石培养种苗为 0.84 mm,显著低于琼脂培养种苗的 0.91 mm,具体结果见表 2。因此,以蛭石为支撑物培养的种苗表现有“徒长”迹象(图 3),在马铃薯脱毒种苗繁育过程中,需控制种苗繁育时间。试验过程中还观察到,2 种培养方式种苗的成活率相差不大,以蛭石为支撑物的种苗培养成活率为 98.67%,琼脂培养的种苗成活率为 97.67%。

2.3 单双节段接种对马铃薯种苗生长的影响

将多孔性无机材料蛭石引入组织培养,以蛭石为支撑物开展无糖培养,为马铃薯种苗机械化接种繁育提供可能。对于机械操作的机械臂,双节段比单节段的可操作性更强,因此,设计了单双节段接种对马铃薯种苗生长的影响试验。

不同节段接种的马铃薯种苗生长情况见图 4。从图 4 可以看出,单双节段接种的马铃薯种苗从形态上分析差异不大,但双节段扦插的种苗缓苗更快,生长速度显著高于单节段扦插。进一步分析不同处理种苗的生长状况发现,培养 21 d 时,双节段扦插种苗的株高达 107.5 mm,极显著高于单节段扦插种苗的 91.96 mm;双节段扦插的种苗茎粗和去根鲜质量也极显著大于单节段扦插;综合考虑,双节段扦插更适合马铃薯脱毒种苗的繁育。双节段扦插种苗株高增加主要表现在缓苗更快、生长速度快、节间数增加(表3)。另外,试验过程中还观察到,在以蛭石为

表 2 不同支撑物对马铃薯种苗生长的影响  
Table 2 Effects of different supports on potato seedlings growth

指标 Index		琼脂 Agar	蛭石 Vermiculite	t 值 t value	P 值 P value
株高/mm Plant length 节间数 Internode number 节间长度/mm Internode length	第 1 节 First	57.38±14.98	91.96±22.70	-12.72 **	<0.000 1
	第 2 节 Second	4.41±1.46	4.58±1.51	-0.81	0.420 2
	第 3 节 Third	14.57±9.66	20.76±14.69	-3.52 **	0.000 6
		14.74±7.44	26.88±11.65	-8.76 **	<0.000 1
茎粗/mm Stem diameter		10.79±7.88	22.03±17.67	-5.81 **	<0.000 1
鲜质量/g Fresh weight		0.91±0.29	0.84±0.18	1.98 *	0.049 5
		0.09±0.04	0.13±0.06	-4.69 **	<0.000 1

注:\*表示在 0.05 水平上显著;\*\*表示在 0.01 水平上显著。下同。Note:\* represents significant difference at α=0.05 level;  
\*\* represents significant difference at α=0.01 level.The same as below.



图 3 无糖培养不同支撑物对马铃薯种苗的影响

Fig.3 Effects of different supports on potato seedlings growth at sugar free condition

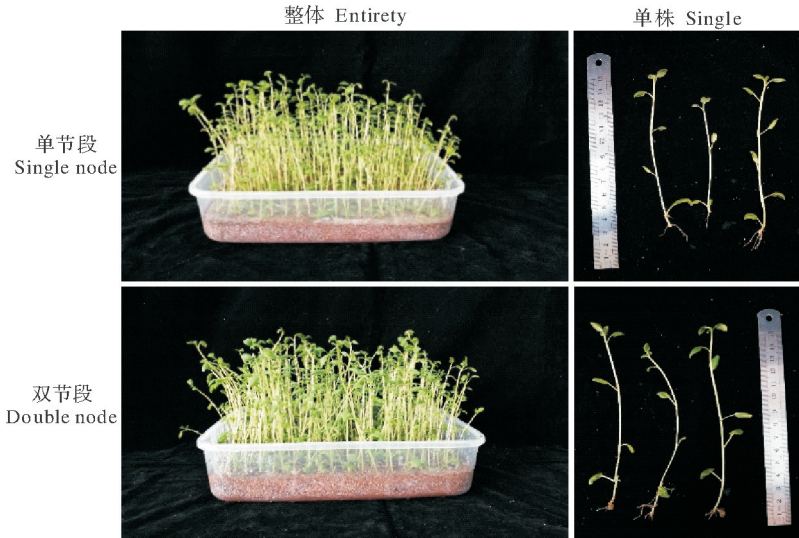


图 4 单双节段接种对马铃薯种苗生长的对比图

Fig.4 Comparison diagram of different inoculation nodes on potato seedlings growth

表 3 不同节段接种对马铃薯种苗生长的影响

Table 3 Effects on potato seedlings growth of different inoculation nodes

指标 Index		双节段 Double node	单节段 Single node	t 值 t value	P 值 P value
株高/mm Plant length		107.5±26.11	91.96±22.70	4.49**	<0.000 1
节间数 Internode number		5.13±1.48	4.58±1.51	2.60*	0.010 1
节间长度/mm Internode length	第 1 节 First	22.55±13.41	20.76±14.69	0.90	0.371 3
	第 2 节 Second	22.77±9.17	26.88±11.65	-2.77**	0.006 2
	第 3 节 Third	22.92±11.96	22.03±17.67	0.42	0.676 3
茎粗/mm Stem diameter		1.00±0.24	0.84±0.18	5.28**	<0.000 1
鲜质量/g Fresh weight		0.19±0.15	0.13±0.06	3.69**	0.000 3

支撑物的无糖组织培养条件下,双节段扦插的种苗成苗率达 99.33%,单节段扦插的种苗成苗率为 98.67%,两者差异不大,但双节段扦插方式更利于

机械臂的操作。  
综上,无糖培养技术适合马铃薯脱毒种苗的快速繁殖,无糖条件下,马铃薯植株通过光合自养能够

合成自身所需的有机物,脱毒种苗生长速度快,试管苗更健壮,在快速繁苗上具有明显优势。进一步去除 MS 培养基中的有机成分(IIC 培养基),也适宜马铃薯的脱毒种苗生产,可以进一步降低污染率;以蛭石为支撑物代替 MS 培养基中的琼脂,虽然马铃薯种苗有“徒长”现象,但通过调节培养时间可以控制,最主要的优势是解决了试管苗扦插繁育微型薯的过程中需剪苗或清洗培养基的过程,使马铃薯试管苗扦插繁育到微型薯诱导形成一步法繁育工艺。在以蛭石为支撑物的试验条件下,双节段扦插更有利于马铃薯种苗的机械化繁育。

2.4 微型薯结薯分析

无糖培养技术在马铃薯种苗快繁上优势明显,但无糖培养条件下生产的种苗是否影响其微型薯的

形成? 以传统的有糖培养试管苗为对照,将 2 种无糖培养的试管苗扦插在网室的蛭石内进行微型薯生产,扦插后 20 d,对不同培养方式的试管苗生长情况(图 5)进行了调查。结果表明,无糖培养的马铃薯种苗扦插至网室蛭石内生产微型薯,植株较传统有糖培养的试管苗缓苗更快,植株更加健壮。收获后统计了单位面积的微型薯数量和各个级别的微型薯数量,结果(表 4)显示,MS 无糖培养和无机培养(IIC)生产的试管苗其单位面积微型薯数量与对照试管苗无显著差异,为 648.4~682.8 粒/m<sup>2</sup>。进一步分析不同处理生产的种苗对其各个级别微型薯数量的影响,结果显示,无糖培养生产的试管苗其各级别微型薯数量与对照有糖培养均无显著差异(图 6)。

表 4 不同生产方式的种苗对其单位面积结薯数的影响

处理 Treatment	Table 4 Effect on the mini-tuber number of different treatments seedlings			粒/m <sup>2</sup> Mean
	重复 I Repeat I	重复 II Repeat II	重复 III Repeat III	
有糖培养对照(CK) MS with sucrose	631.37	688.89	643.14	654.47a
MS 无糖培养 MS sugar-free	678.43	699.35	670.59	682.79a
MS 无机 IIC	694.12	630.07	620.92	648.37a

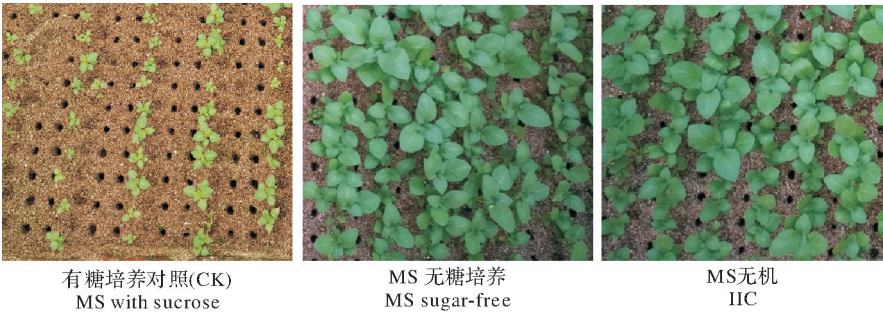


图 5 不同培养方式的马铃薯种苗扦插后生长状况差异(20 dpi)  
Fig.5 Comparison of potato seedlings growth status at 20 days

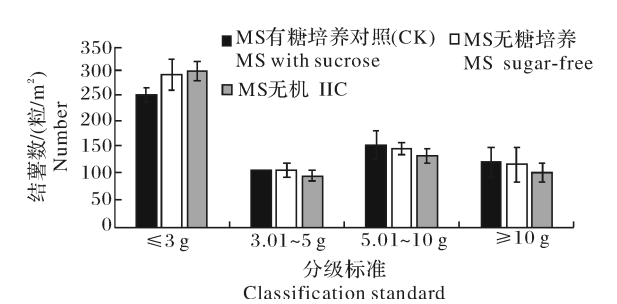


图 6 不同处理种苗其各级微型薯数量分布  
Fig.6 The distribution of classified mini-tuber number in different treatment seedlings

3 讨 论

无糖培养条件下植株类似于在自然环境下的生长,在生理特征上与传统培养差异明显。Zobayed等<sup>[9]</sup>在马铃薯相关试验中发现,在光合自养的条件下气孔密度比兼养型微繁殖增加了 2 倍多,气孔功能发育正常;而且叶片和栅栏组织层相对较厚,蜡质的含量是兼养条件下的 7 倍。李朝周等<sup>[10]</sup>比较了葡萄试管苗、砂培苗和温室营养袋苗的相关生理指标,发现试管苗叶气孔特性方面较差、叶绿素含量较低,而其他 2 种苗在光合相关特性表现正常。自养



型生长方式使得无糖培养条件下脱毒苗生长速率加快、更加健壮。刘水丽等<sup>[11]</sup>研究了无糖培养条件下 3 种大豆组培苗与有糖组培苗的生长状况,发现两者生根率均为 100%,无糖组培苗生长更健壮、叶片颜色更加浓绿,无糖培养提高了大豆组培苗对环境的适应能力,促进了组培苗的生长发育。杨玉田等<sup>[12]</sup>发现,甘薯在无糖培养 28 d 时,叶片较对照大、叶色浓绿、幼苗茁壮。

马铃薯脱毒种苗快繁是马铃薯微型薯生产中的重要环节,在保证高质量的前提下,降低成本有利于脱毒种苗与种薯的产业化发展。现从以下几个方面对比无糖组织培养和传统培养的成本差异:在生产管理方面,无糖培养光自养条件下,植物自身有合成维生素和激素的能力,没有必要加入这些有机物<sup>[13]</sup>;马铃薯无糖培养使用的营养液可以只添加大量元素、微量元素和铁盐,省去了糖和有机成分,同时可适当降低琼脂的含量,在培养基成分上降低了成本;无糖培养基不添加糖,很大程度上解决了微生物污染问题<sup>[14]</sup>;而传统培养中由于大量糖的添加,即使严格规范操作,仍会出现因多种因素造成的污染;人力与物资能耗方面,无糖培养对于接种的技术要求不是特别高,可以降低组培接种无菌操作及无菌环境的严格性。组培生产工艺简单化,可以一定程度上降低操作技术的难度,培养基也可不经过高温高压灭菌,在接种操作和灭菌锅能耗上成本稍低;在生产周期方面,无糖培养的马铃薯试管苗生长速度快,生长周期可较传统培养缩短 1/3,且植株健壮,可以不经驯化阶段直接移栽,缩短了整个培养周期,减少了培养过程中的能耗、空间、时间成本。

无糖培养中,加大光照强度,增加容器内换气次数,提高了植株的光合速率,使生长速度加快,幼苗健壮。本试验通入气体的初始时间为接种后第 5 天;过早通气,会使叶片变黄、植株萎蔫,这可能是刚扦插的植株长势较差,光合作用能力弱,过早通入气体使得培养盒内的湿度下降,使植株容易萎蔫<sup>[15]</sup>;同样,过晚通气也会使得光合作用减弱。适合马铃薯生长的最佳起始通气时间需进一步研究。本研究表明植物无糖培养技术可以用于马铃薯种苗快繁,但是关于 CO<sub>2</sub> 浓度、光照强度对其光合速率的影响及适宜马铃薯组培苗光合速率的最佳 CO<sub>2</sub> 浓度、最佳通气量等还需进一步研究。无糖培养使马铃薯组培苗在株高、节间数等农艺性状上及生理状态上与

传统组织培养相比显示出一定的优势。按照传统试管苗的扦插管理,其生产的微型薯在数量和分布上与传统有糖组培苗并无显著差异,但无糖培养的种苗其株高和节间数显著大于传统有糖培养组培苗,增加扦插深度或者改变扦插方式是否会影响微型薯的产量也值得探究。

## 参 考 文 献

- [1] SPOONER D M, BERG R G V D, RODRÍGUEZ A, et al. Wild potatoes (*Solanum* section *petota*; Solanaceae) of north and central America[J]. Systematic botany monographs, 2004, 68: 1-209.
- [2] ZAHEER K, AKHTAR M H. Potato production, usage, and nutrition: a review[J]. Critical reviews in food science and nutrition, 2016, 56(5): 711-721.
- [3] 熊潇垚. 商洛市马铃薯脱毒种薯繁育推广研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2015.
- [4] BUTT S J, VARIS S, NASIR I A, et al. Micropropagation in advanced vegetable production: a review [J]. Advancements in life sciences, 2015, 2(2): 48-57.
- [5] CHAKRABARTY D, PARK S Y, ALI M B, et al. Hyperhydricity in apple: ultrastructural and physiological aspects [J]. Tree physiology, 2006, 26(3): 377-388.
- [6] DEWIR Y H, CHAKRABARTY D, ALI M B, et al. Lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities of *Euphorbia mil-lii* hyperhydric shoots [J]. Environmental and experimental botany, 2006, 58(1/2/3): 93-99.
- [7] IVANOVA M, VAN STADEN J. Natural ventilation effectively reduces hyperhydricity in shoot cultures of *Aloe polyphylla* Schönland ex Pillans [J]. Plant growth regulation, 2010, 60(2): 143-150.
- [8] XIAO Y, NIU G, KOZAI T. Development and application of photoautotrophic micropropagation plant system [J]. Plant cell, tissue and organ culture, 2011, 105(2): 149-158.
- [9] ZOBAYED S M A, AFREEN-ZOBAYED F, KUBOTA C, et al. Stomatal characteristics and leaf anatomy of potato plantlets cultured *in vitro* under photoautotrophic and photomixotrophic conditions [J]. *In vitro* cellular & developmental biology-plant, 1999, 35(3): 183-188.
- [10] 李朝周, 张利平, 曹改义. 葡萄试管苗炼苗过程光特性的变化 [J]. 甘肃农业大学学报, 1995, 30(4): 303-306.
- [11] 刘水丽, 杨其长. 无糖培养条件下 3 种大豆组培苗生长差异研究 [J]. 大豆科学, 2007, 26(2): 163-166.
- [12] 杨玉田, 郭兴臻, 朱宗贵, 等. 无糖培养技术在甘薯快繁培养中的应用效果 [J]. 山东农业科学, 2000(5): 18.
- [13] 肖玉兰. 植物无糖组培快繁工厂化生产技术 [M]. 昆明: 云南科技出版社, 2003.

[14] 淡明,李松,卢曼曼,等. 无糖组织培养在甘蔗快繁中的应用 [J]. 安徽农业科学,2017,45(29):29-30.

[15] 屈云慧,熊丽,张素芳,等. 彩色马蹄莲组织苗无糖生根培养的环境控制[J]. 植物遗传资源学报,2004,5(2):166-169.

Application of sugar-free micropropagation on  
potato seedlings rapid propagation

FENG Jie<sup>1</sup> CAO Linlin<sup>2</sup> WANG Yue<sup>2</sup> WANG Liming<sup>2</sup>  
MIAO Jiaqi<sup>2</sup> DU Juan<sup>1</sup> LIU Jun<sup>1</sup> CAI Xingkui<sup>2</sup>

1.College of Life Science and Technology, Huazhong Agricultural University/  
Key Laboratory of Potato Biology and Biotechnology,

Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Wuhan 430070, China;

2.College of Horticulture & Forestry Sciences/MOE Key Laboratory of Horticultural  
Plant Biology, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China

**Abstract** A new technology called sugar-free tissue culture technology was used to increase the quality of potato test-tube seedlings and optimize the production, and to improve the technical system of virus-free seed potato breeding. The virus-free test-tube seedlings of early-maturing potato cultivar “Huashu 1” and the traditional MS medium with 4% sucrose was used as the test and control (CK) to compare two different culture methods. The effects of different media, supports and inoculation methods on the growth and development of potato plants in sugar-free tissue culture were studied. The results showed that the test-tube seedlings under sugar-free tissue culture grew faster and were more robust, and had more advantages in the production of virus-free potato seedlings compared with the traditional tissue culture. Under sugar-free tissue culture conditions, further removal of organic components from MS medium, only containing inorganic components, had no significant impact on the growth of virus-free seedlings, but more effective in reducing pollution. The results of using vermiculite as support instead of agar showed that the virus-free seedlings supported by vermiculite grew faster, had longer internodes and showed signs of “elongation”. The results under the condition of vermiculite as support culture showed that the seedling growth of double-segment cutting was significantly better than that of single-segment cutting. The survival rate of double-segment cutting was higher, and the segment was larger and easy to operate. The test-tube seedlings under sugar-free tissue culture were further cutting into the net room to produce mini-tubers, of which the number and size had no significant changes compared with that from test-tube seedlings under the traditional sugar culture. The new sugar-free tissue culture technology shortens the cultivation period of potato seedlings, reduces the production cost, simplifies the cutting propagation procedure of minituber production. It will lay a foundation for the realization of mechanized cutting of potato seedlings.

**Keywords** sugar-free micropropagation; potato seedlings; test-tube seedlings; cutting; rapid propagation; minituber production

(责任编辑:张志钰)