

中图分类号: S532 文献标识码: B 文章编号: 1672-3635(2015)03-0141-05

栽培生理

‘陇薯3号’和‘陇薯7号’试管结薯关键条件优化

齐恩芳*, 王一航, 文国宏, 贾小霞

(甘肃省农业科学院马铃薯研究所, 甘肃 兰州 730070)

摘要: 应用不同光照、温度、培养基等条件诱导‘陇薯3号’和‘陇薯7号’试管结薯, 结果表明, 自然光照室温培养、自然光照室温培养7 d转黑暗恒温培养以及黑暗恒温培养条件均能诱导2个品种结薯。自然光照室温条件下, ‘陇薯7号’试管薯单瓶薯数、单瓶薯重及大薯数均极显著高于其他培养条件 ($P < 0.01$)。与‘固体+液体’、‘固体’培养基相比, ‘液体+液体’培养基结薯时间早, 数量多, 大薯率高。

关键词: 马铃薯; 试管薯; 自然光照诱导; 培养基

Optimization of Key Conditions to Induce Potato Microtuber of 'Longshu 3' and 'Longshu 7'

QI Enfang*, WANG Yihang, WEN Guohong, JIA Xiaoxia

(Potato Institute, Gansu Academy of Agricultural Sciences, Lanzhou, Gansu 730070, China)

Abstract: The inducing trials of potato microtubers 'Longshu 3', and 'Longshu 7' were carried out under different culture conditions of light, temperature and medium. The results showed that the two varieties could form microtubers under the culture condition of natural lighting and room temperatures, or darkness and constant temperature, or switching to darkness and constant temperature after seven days of natural lighting and room temperatures culture. Tuber number per bottle, tuber weight per bottle and big tuber number of 'Longshu 7' under the condition of natural lighting and room temperatures were significantly higher than other conditions ($P < 0.01$). "Liquid + liquid" medium produced more and heavier microtubers, and also higher rate of big potato and earlier microtuber formation than "solid + liquid" medium and "solid" medium.

Key Words: potato; microtuber; natural light inducing; medium

离体条件下诱导形成的试管薯不仅具有试管苗的所有优点, 而且体积小、重量轻, 繁殖期间杜绝了外来病菌的再次侵染, 便于贮藏、运输和种植。马铃薯试管薯的诱导与生产, 对于马铃薯种质保存、种子交换、脱毒薯生产及在马铃薯基因工程研究中作为基因转移的受体等方面都有重要意义。试管薯的形成受诸多因素的影响, 如基因型、试管苗的健壮程度、矿质营养、碳源、外源激素、植物生长延缓剂以及环境因素(温度、光

照)^[1-3]等, 关于试管薯诱导已有很多成功的实例, 但对于自然条件下马铃薯试管结薯的研究还未见报道, 利用自然光培养室生产试管薯, 设备简单, 节约成本, 可充分利用自然空间工厂化批量生产试管薯。

本试验以‘陇薯3号’和‘陇薯7号’为材料, 研究了自然光照、温度、培养基等试管薯生产关键条件的诱导效果, 进一步探索高效优质低成本规模化生产试管薯的新途径。

收稿日期: 2014-12-29

基金项目: 国家自然科学基金地区基金(31360353); 甘肃省农业生物技术研究与应用开发项目(GNSW-2014-13)。

作者简介: 齐恩芳(1974-), 女, 硕士, 副研究员, 主要从事马铃薯组培脱毒及品种资源研究。

*通信作者(Corresponding author): 齐恩芳, E-mail: qefang@126.com。

1 材料与方法

1.1 试验材料

甘肃省农业科学院马铃薯研究所保存的 陇薯3号 和 陇薯7号 脱毒试管苗。

1.2 试验地点及时间

试验在甘肃省农业科学院马铃薯研究所脱毒中心进行，试验时间在冬季(11月至次年2月)，该时期昼夜温差大，日照时间8 h左右。

1.3 试验方法

1.3.1 试管苗培养

在无菌条件下，将试管苗切成带1个叶节的茎段，接种于装有40 mL MS 固体培养基和25 mL MS 液体培养基(脱脂棉支撑)的250 mL 消毒果酱瓶中，每瓶15株，在自然光培养室培养21 d，长成壮苗后用于试管薯诱导试验。

1.3.2 试管薯诱导

采用两因素三水平随机区组试验设计，共9个处理(表1)。A为光温条件，A₁：自然光照室温培养，A₂：自然光照室温培养7 d转黑暗恒温培养，A₃：黑暗恒温培养。B为培养基类型，B₁：“液体+液体”培养基，B₂：“液体+固体”培养基，B₃：固体培养基。

表1 试验设计
Table 1 Experimental design

光温条件(A) Conditions of light and temperature	培养基(B) Medium		
	B ₁	B ₂	B ₃
A ₁	A ₁ B ₁	A ₁ B ₂	A ₁ B ₃
A ₂	A ₂ B ₁	A ₂ B ₂	A ₂ B ₃
A ₃	A ₃ B ₁	A ₃ B ₂	A ₃ B ₃

上述光温条件中，自然光照室温培养在自然光照培养室进行，昼夜温度范围为5~22℃，光照时间8 h左右，试验材料置于培养架最下层，光照强度约1 000~4 000 lx；黑暗恒温培养在暗室(空调控温)进行，温度17±1℃。3种培养基类型为：将液体诱导培养基(MS+8%白糖+5 mg/L 6-BA)分装入500 mL三角瓶中，灭菌后按每瓶40 mL直接倒入液体培养的试管苗培养瓶诱导试管薯，简称“液体+液体”；倒入固体培养的试管苗培养瓶诱导试管薯，简称“固体+液体”；将固体培养的试管苗切

段转接入装有40 mL固体诱导培养基(MS+4.5 g/L琼脂+8%白糖+5 mg/L 6-BA)的培养瓶中，简称“固体”。

1.4 测定指标及数据处理

培养期间记录结薯时间及薯块膨大相关数据，于诱导培养56 d后测定薯块直径(mm)、单瓶结薯数(d>3 mm)、单瓶薯重(g/瓶)、单薯重(g/个)、成薯指数(结薯数/接种株数)、大薯数(d>5 mm)和大薯率。

数据采用SPSS软件进行二因素方差分析(LSD法)。

2 结果与分析

2.1 培养条件对 陇薯3号 试管薯诱导效果的影响

从表2分析的结果可知，A因子对 陇薯3号 试管结薯的各项指标均无显著影响；B因子对单瓶薯重、平均单薯重、薯块平均直径、大薯数及大薯率有影响，B₁处理的单瓶薯重、平均单薯重及薯块平均直径极显著高于B₂、B₃；大薯数及大薯率极显著高于B₃，与B₂差异不显著。

A×B交互作用对单瓶薯数和成薯指数无显著影响，但对单瓶薯重、平均单薯重及薯块平均直径影响显著(P<0.05)(表2)。其中A₁B₁(“液体+液体”培养基，自然光照室温培养)为最优条件，A₁B₁条件下平均单薯重0.30 g，显著高于A₁B₂、A₁B₃、A₂B₃和A₃B₃；薯块平均直径为7.83 mm，显著高于A₁B₂、A₁B₃、A₂B₁、A₂B₃、A₃B₂和A₃B₃；在A₂B₁、A₂B₂和A₃B₂培养条件下的平均单薯重均显著高于A₁B₃、A₂B₃和A₃B₃；在A₂B₂培养条件下的薯块平均直径也显著高于A₁B₃、A₂B₃和A₃B₃。 陇薯3号 试管结薯情况见图1A。

2.2 培养条件对 陇薯7号 试管薯诱导效果的影响

从表3分析的结果可知，A因子对 陇薯7号 试管薯的单瓶薯数、成薯指数、单瓶薯重及大薯数有影响，A₁处理极显著高于A₂、A₃处理。B因子对单瓶薯重、平均单薯重、薯块平均直径、大薯数及大薯率均有影响，以B₁最优，与B₃间差异极显著。B₁与B₂之间，薯块平均直径差异极显著，平均单薯重差异显著，其余指标差异不显著。B₂与B₃间，薯块平均直径、大薯率差异极显著；单瓶薯重、平均单薯重及大薯数差异显著。

A×B交互作用对单瓶薯数、成薯指数、平均单薯重、薯块平均直径、大薯数及大薯率均无显著

表2 不同培养条件对‘陇薯3号’试管薯诱导与发育的影响

Table 2 Effects of different cultural conditions on induction and development of 'Longshu 3' microtuber

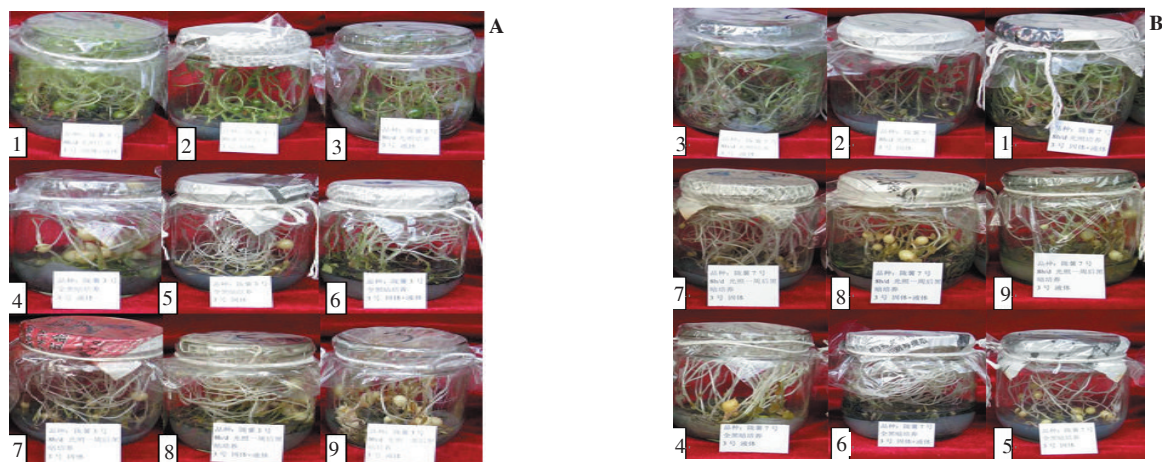
处理 Treatment	单瓶薯数 ($d > 3\text{ mm}$) (个) Tuber number per bottle (No.)	成薯指数 (结薯数/接种株数) Tuber formation index (tuber number/shoot number)	单瓶薯重 (g) Tuber weight per bottle	平均单薯重 (g) Average weight per tuber	薯块平均直径 (mm) Average tuber diameter	大薯数 ($d > 5\text{ mm}$) Big tuber number	大薯率 (%) Big tuber percentage
A ₁ B ₁	24.75	1.65	7.42 a	0.30 a	7.83 a	23.25	94.41
A ₁ B ₂	20.75	1.38	3.78 bc	0.16 cd	6.10 b	16.25	74.72
A ₁ B ₃	16.25	1.08	1.69 c	0.11 d	5.27 d	8.25	55.14
A ₂ B ₁	14.50	0.96	3.53 b	0.23 ac	6.24 b	11.50	83.49
A ₂ B ₂	21.00	1.40	4.83 abc	0.22 ac	6.84 abc	17.25	81.18
A ₂ B ₃	13.75	0.91	1.46 c	0.11 d	5.29 d	7.50	54.93
A ₃ B ₁	22.00	1.46	5.60 ab	0.25 ab	7.37 ab	20.25	92.29
A ₃ B ₂	13.00	0.86	2.81 b	0.23 ac	6.18 bd	11.25	79.48
A ₃ B ₃	14.00	0.93	1.19 c	0.08 d	4.93 d	6.00	47.09
<i>P</i> _{A-B} 值	0.125	0.123	0.013	0.045	0.020	0.053	0.875
A ₁	20.58	1.37	4.30	0.19	6.40	15.92	74.76
A ₂	16.41	1.09	3.24	0.19	6.13	12.08	73.20
A ₃	16.33	1.09	3.20	0.19	6.16	12.50	72.95
<i>P</i> _A 值	0.138	0.135	0.122	0.990	0.560	0.155	0.973
B ₁	20.41	1.36	5.48 A	0.26 A	7.15 A	18.33 Aa	90.06 Aa
B ₂	18.25	1.21	3.80 B	0.21 B	6.38 B	14.92 Aa	78.46 Aa
B ₃	14.66	0.97	1.45 C	0.10 C	5.17 C	7.25 B	52.39 B
<i>P</i> _B 值	0.640	0.620	0	0	0	0	0

注：同列标不同大写字母表示差异极显著 ($P < 0.01$)，不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。下同。
Note: Different capital letters indicate significant difference at $P < 0.01$; different small letters indicate significant difference at $P < 0.05$. The same below.

表3 不同培养条件对‘陇薯7号’试管薯诱导与发育的影响

Tab 3 Effect of different cultural conditions on induction and development of 'Longshu 7' microtuber

处理 Treatment	单瓶薯数 ($d > 3\text{ mm}$) (个) Tuber number per bottle (No.)	成薯指数 (结薯数/接种株数) Tuber formation index (tuber number/shoot number)	单瓶薯重 (g) Tuber weight per bottle	平均单薯重 (g) Average weight per tuber	薯块平均直径 (mm) Average tuber diameter	大薯数 ($d > 5\text{ mm}$) Big tuber number	大薯率 (%) Big tuber percentage
A ₁ B ₁	25.00	1.66	6.74 a	0.26	6.26	20.50	81.90
A ₁ B ₂	21.00	1.40	4.34 ab	0.20	5.61	14.25	69.47
A ₁ B ₃	14.50	0.96	2.26 bc	0.16	4.76	6.25	47.68
A ₂ B ₁	11.50	0.76	2.20 bc	0.17	6.33	10.75	94.97
A ₂ B ₂	12.25	0.81	2.09 bc	0.17	5.68	8.50	72.09
A ₂ B ₃	7.75	0.51	0.71 c	0.10	5.18	3.50	59.00
A ₃ B ₁	5.25	0.35	1.12 c	0.29	7.04	4.75	96.66
A ₃ B ₂	4.75	0.31	0.73 c	0.15	5.88	3.25	71.42
A ₃ B ₃	10.00	0.66	0.68 c	0.06	4.38	2.75	26.49
<i>P</i> _{A-B} 值	0.099	0.098	0.042	0.245	0.280	0.088	0.447
A ₁	20.16 A	1.34 A	4.45 A	0.21	5.54	13.66 A	66.35
A ₂	10.50 Ba	0.70 Ba	1.67 Ba	0.15	5.73	7.58 Ba	75.36
A ₃	6.66 Ba	0.44 Ba	0.84 Ba	0.17	5.77	2.75 Bb	64.86
<i>P</i> _A 值	0	0	0	0.132	0.699	0	0.476
B ₁	13.91	0.92	3.35 Aa	0.24 Aa	6.54 A	12.00 Aa	91.18 A
B ₂	12.66	0.84	2.39 AaBb	0.18 AbBc	5.73 B	8.66 AaBb	70.99 A
B ₃	10.75	0.71	1.21 Bc	0.11 Bd	4.77 C	4.16 Bc	44.39 B
<i>P</i> _B 值	0.397	0.398	0.001	0	0	0	0



- 1.自然光照室温/固+液 Natural lighting and room temperatures/solid + liquid; 2.自然光照室温/固 Natural lighting and room temperatures/solid;
- 3.自然光照室温/液+液 Natural lighting and room temperatures/liquid + liquid; 4.黑暗恒温/液+液 Darkness and constant temperature/liquid + liquid;
- 5.黑暗恒温/固 Darkness and constant temperature/solid; 6.黑暗恒温/固+液 Darkness and constant temperature/solid + liquid;
- 7.光照7 d转黑暗/固 Switching to darkness and constant temperature after 7 days of natural lighting and room temperatures culture/solid;
- 8.光照7 d转黑暗/固+液 Switching to darkness and constant temperature after 7 days of natural lighting and room temperatures culture/solid + liquid;
- 9.光照7 d转黑暗/液+液 Switching to darkness and constant temperature after 7 days of natural lighting and room temperatures culture/liquid + liquid;

图1 ‘陇薯3号’(A)和‘陇薯7号’(B)诱导试管薯

Figure 1 ‘Longshu 3’ (A) and ‘Longshu 7’ (B) microtuber induction

影响,但对单瓶薯重影响显著。其中 A_1B_1 (‘液体+液体’培养基,自然光照室温培养)条件下‘陇薯7号’试管薯单瓶薯重为6.74 g,与 A_1B_2 差异不显著,但显著高于其他处理; A_1B_2 处理也显著高于 A_2B_3 、 A_3B_1 、 A_3B_2 和 A_3B_3 。‘陇薯7号’试管结薯情况见图1B。

3 讨论

光周期是马铃薯结薯的主要诱导因子。无光条件可促进光合产物向块茎中分配,减少光合产物在地上茎中的分配,但黑暗处理时间过长会造成植株生活力下降,从而影响营养的吸收和转化,最终降低结薯能力,故光周期必须适宜,才能诱导试管结薯。在该领域已有较多的研究^[4-7],认为诱导期间进行一定阶段光照处理有利于试管薯的形成,柳俊和谢从华^[8]也认为,黑暗处理和短日照条件对试管块茎的形成是有利的,黑暗处理有利于匍匐茎的发生,短日照有利于试管薯的膨大。刘梦芸等^[9]研究发现,长时间的暗处理使块茎形成显著提早,但结薯数少,植株茎叶生长受阻,块茎淀粉含量降低。沈清景等^[10]研究表明,全黑暗条件对试管薯形成、结薯数量和平均鲜重具有极显著的促进作用。Gopal等^[11]研究认为,较短光周期,

较低光照强度对不同基因型的品种的适应性较好,能获得较多的试管薯个数和较高的产量。以上研究中的短日照处理均是在室内日光灯补充光照,利用日光作为光源补充诱导结薯的研究未见报道。本试验利用自然光照作试管薯诱导中光照处理,研究发现,短日照条件与全黑暗均能诱导2品种结薯,而且块茎形成对发育阶段无特殊要求,刚刚生长1片叶的植株就能形成块茎(图1A和1B)。就本试验而言,从结薯数与结薯大小来看,自然光照室温条件更有利于‘陇薯7号’试管薯的形成,其产量还高于黑暗培养。这可能是由于本试验在冬季进行,属短日照期,且自然光培养室光照弱,整体环境适于试管薯的诱导。

温度影响试管薯形成。低温可诱导马铃薯块茎形成,高温则可以完全抑制^[12]。田间试验证明,马铃薯块茎田间形成的适宜温度为15.6~18.3℃,高于21.1℃,块茎生长速度下降^[13]。马铃薯试管薯是在试管微环境条件下生长发育的,对温度条件的要求更严格,连勇等^[14]认为,对试管薯形成大小及薯重而言,温度效应高于外源诱导剂,温度对平均单瓶结薯数影响不显著。他还认为,在全黑暗诱导条件下,‘中薯3号’试管薯形成的最适温度为15~20℃,刘志云^[15]研究发现,低温可诱导马铃

薯块茎形成, 温度增至32℃不产生块茎, 对于‘克山予64’, 最适宜的温度为18℃, 适宜范围为18~22℃。本试验中, 自然光培养室有日夜温差, 在变温5~22℃与恒温17℃2种温度条件下, ‘陇薯3号’与‘陇薯7号’均能结薯。

培养基对试管薯形成有明显的影响。本研究认为, 无论是试管苗的增殖生长还是试管薯的诱导发育, 液体培养基一般优于固体培养基, 液体培养可复壮试管苗, 提高其增殖率, 促进试管薯提早结薯与增加薯重等^[10,16]。本试验采用3种培养基方式诱导结薯, 结果表明, “液体+液体”诱导培养, 试管薯大薯多、产量高, ‘陇薯3号’试管薯单薯重达到0.26 g, 平均直径7.15 mm, 大薯率($d > 5$ mm)达到90.06%; ‘陇薯7号’试管薯单薯重达到0.24 g, 平均直径6.54 mm, 大薯率($d > 5$ mm)达到91.18%, “液体+液体”培养基处理下2个品种单瓶薯重、平均单薯重、薯块平均直径、大薯数和大薯率均极显著高于“固体+液体”和“固体”培养基, “固体+液体”培养基诱导培养, 程序简便, 试管薯产量较高, 固体培养基直接诱导培养结薯时间短, 试管薯之间差异小, 成熟整齐一致。此外, 黑暗恒温培养条件下, “液体+液体”、“固体+液体”和“固体”3种培养基在结薯时间上也有差异, ‘陇薯3号’初始结薯时间分别为12, 15和22 d, ‘陇薯7号’初始结薯时间分别为15, 19和21 d, 表明“液体+液体”培养基方式下结薯时间早。至于基因型对结薯时间的影响, 有人认为, 早熟品种试管薯诱导结薯早, 结薯能力强^[17], 本试验中两供试品种均为中晚熟品种, 在结薯时间上没有品种差异。

通过试验可以得到如下结论。试验在自然光照培养室进行, 自然光照条件诱导结薯不受空间限制, 且节约能源, 光照条件提高了试管苗的生活力, 利于试管薯的膨大, 对于工厂化规模生产试管薯具有很好的指导作用。因该试验在冬季进行, 日照时间短, 自然光培养室光照弱, 昼夜温差大, 可能正好具备试管薯诱导的光温条件, 在其他季节, 自然光诱导的效果如何, 还需要进行更深入的研究。试管薯发育具有基因型差异, 试管薯在诱导过程中, 对光温条件的敏感程度因品种而异。试验中, ‘陇薯3号’对光照、温度及黑暗处理时间的反应均不敏感; 但光温对‘陇薯7号’试管薯发育影响

明显, 自然光照利于其试管薯的形成。“液体+液体”培养基处理结薯时间早, 数量多, 大薯率高, 而且不使用琼脂, 相对节约成本, 可作为试管薯生产的主要方式。

[参 考 文 献]

- [1] 王春林, 程天庆. 利用试管薯快速繁殖马铃薯[J]. 中国马铃薯, 1992, 6(2): 82-85.
- [2] 胡云海, 蒋先明. 氮素对马铃薯微型薯的影响[J]. 中国马铃薯, 1991, 5(4): 199-203.
- [3] 胡云海, 蒋先明. 不同糖类和BA对马铃薯试管薯影响[J]. 中国马铃薯, 1989(4): 203-206.
- [4] 胡云海, 蒋先明. 温度和光照对马铃薯微型薯形成的影响[J]. 种子, 1993(1): 47-49.
- [5] 毛碧增, 何伯伟, 苏善标, 等. 马铃薯试管苗及微型薯种薯形成的几个因素研究[J]. 浙江大学学报, 2002, 28(4): 417-420.
- [6] 石瑛, 秦昕, 王凤义, 等. 马铃薯主要早熟品种微型薯诱导与光周期的关系[M]//陈伊里. 中国马铃薯研究进展. 哈尔滨: 哈尔滨工程大学出版社, 1999.
- [7] Hussey G, Stacey N J. Factors affecting the formation of *in vitro* tubers of potato (*Solanum tuberosum* L.) [J]. Ann Bot, 1984, 53: 565-578.
- [8] 柳俊, 谢从华. 马铃薯块茎发育机理及其基因表达[J]. 植物学通报, 2001, 18(5): 531-539.
- [9] 刘梦芸, 蒙美莲, 门福义, 等. 光周期对马铃薯块茎形成的影响及对激素的调节[J]. 中国马铃薯, 1994, 8(4): 193-197.
- [10] 沈清景, 叶贻勋, 凌永胜. 马铃薯试管薯诱导因素研究[J]. 福建农业学报, 2001, 16(1): 54-56.
- [11] Gopal J, Minocha J L, Dhaliwal H S. Microtuberization in potato (*Solanum tuberosum* L.) [J]. Plant Cell Report, 1998, 17(10): 794-798.
- [12] 李曙轩. 蔬菜栽培生理[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1979.
- [13] 哈里斯 P M. 马铃薯改良的科学基础[M]. 蒋先明, 田玉丰, 赵越, 等译. 北京: 农业出版社, 1984.
- [14] 连勇, 邹颖, 杨宏福, 等. 马铃薯试管薯发育机理的研究—温度对试管薯形成的影响[J]. 中国马铃薯, 1996, 10(3): 133-136.
- [15] 刘志云. 马铃薯试管苗结薯与光、温度、激素关系的研究[J]. 高师理科学刊, 2002, 22(3): 70-71.
- [16] 杨文玉. 不同组织培养条件对马铃薯试管微型薯的诱导[J]. 中国马铃薯, 1996, 10(1): 20-23.
- [17] 连勇. 马铃薯试管薯诱导与应用[J]. 中国马铃薯, 1995, 9(4): 237-240.