

中图分类号: S532 文献标识码: B 文章编号: 1672-3635 (2012) 06-0332-04

马铃薯试管薯诱导影响因素分析

金明石¹, 严英哲^{1,2}, 张健^{2*}, 潘菊²

(1. 朝鲜农业科学院农业生物学研究所, 朝鲜 平壤; 2. 沈阳市农业科学院, 辽宁 沈阳 110034)

摘要: 以马铃薯栽培品种‘Favorita’脱毒试管苗为材料, 研究了离体条件下外源激素、活性炭以及光照对试管薯形成和发育的影响。结果表明: 加入一定浓度的外源激素, 有利于提高‘Favorita’试管薯的产量和质量, 其诱导效应依次为 矮壮素 (CCC) > 多效唑 (PP₃₃) > CCC + 6-苄氨基嘌呤 (6-BA) > 丁酰胺 (B₉) > 6-BA > 无激素; 活性炭能够明显提高试管薯前期的形成和发育; 8 h/d 散射光照比全黑暗试管薯重量和大薯率都有提高; 全黑暗使试管薯发生提前, 结薯集中, 但不利于试管薯的增重。

关键词: 马铃薯试管薯; 诱导; 外源激素; 活性炭; 光照

Effects of Different Factors on Induction of *in vitro* Potato Microtubers

JIN Mingshi¹, YAN Yingzhe^{1,2}, ZHANG Jian^{2*}, PAN Ju²

(1. Research Institute of Agro-Biology, Academy of Agricultural Sciences of DPR. Korea, DPR. Korea;

2. Shenyang Academy of Agricultural Sciences, Shenyang, Liaoning 110034, China)

Abstract: The virus free plantlets of ‘Favorita’ were used in this experiment. The effects of plant growth hormone and activated carbon in culture medium on the formation of *in vitro* stolon and tuberization were studied. The plant growth substance could improve the quantity and quality of microtuber and the inductive effects could be arranged as chlorocholine chloride (CCC) > Paclobutracol (PP₃₃) > CCC + 6-Benzylaminopurine (6-BA) > Daminozide (B₉) > 6-BA > no-inductive stimulus. Activated charcoal could improve tuberization and the development of microtubers at the early stage. Compared with darkness, daylength of 8 h diffused light was good for microtuber growth, and increased large sized microtuber percentage. Darkness promoted microtuber initiation and microtuber formed in a short time, but was disadvantage to increase the weight per microtuber.

Key Words: potato microtuber; induction; exogenous hormone; activated charcoal; light

马铃薯试管薯的形成除与基因型有关外, 还受光照、温度、试管苗龄及取材部位、碳源和植物生长调节物质等多种外界因素的影响。迄今有关试管薯的形成多数研究仅从某一侧面进行分析, 缺乏系统的研究。试管薯诱导效率低、成本较高、方法设备复杂等问题阻碍着试管薯的大范围利用。因此, 我们在前人研究的基础上^[1,2], 就试管薯的诱导因子设计开展了系列试验, 以期找到一种提高试管薯产量和质量的最佳培养条件, 力求探索一条高质量、高效率、低成本工厂化生产马铃薯脱毒薯的新途径。本试验从光照、植物生长调节物质和活性炭等因素

进行研究, 以探讨提高马铃薯栽培品种‘Favorita’试管薯产量和质量的最佳培养条件。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为沈阳市农业科学院中朝生物技术共同研究中心继代半年的马铃薯品种‘Favorita’脱毒试管苗。

1.2 试验方法

1.2.1 试管苗培养

将带有一个叶芽的试管苗茎段, 接种于装有

收稿日期: 2012-04-01

作者简介: 金明石 (1970), 男, 博士, 马铃薯研究室室长, 从事马铃薯和蔬菜组织培养研究。

* 通信作者 (Corresponding author): 张健, 高级农艺师, 从事组织培养工作, E-mail: sy_zhangjian@sina.com。

25 mL固体培养基的 400 mL 的消毒培养瓶中, 每瓶 20 个茎段, 在固体培养基多次的继代增殖培养以后试管薯诱导培养前期接种于装有 20 mL 液体培养基(培养瓶及每瓶接种茎段数与固体培养相同)。培养基为 MS + 食用白糖 3%, pH 5.8。培养室温度 $25 \pm 1^\circ\text{C}$, 光度 2 000 lx, 光周期 14 h/d。

1.2.2 试管薯诱导

试管苗培养(液体培养) 20 d 后, 将培养瓶内的壮苗培养基弃去, 换入以下各试验设计的试管薯诱导培养基。先于室温下 ($25 \pm 1^\circ\text{C}$) 光照 48 h, 后转入 $18 \pm 1^\circ\text{C}$ 的诱导培养基。

(1) 外源激素的处理: 诱导培养基各处理如表 1。

(2) 活性炭的处理: 试验设 2 个处理, 即 MS + CCC 500 mg/L + 白糖 8% + 活性炭 0.1% 和 MS + CCC 500 mg/L + 白糖 8% (对照, pH 均为 5.8)。

表 1 马铃薯试管薯各处理诱导培养基

Table 1 Treatment on inducement culture media of *in vitro* potato microtuber

处理 Treatment	培养基 <i>In vitro</i> plantlets in medium
1	MS + 白糖 8%
2	MS + 6-BA 5 mg/L + 白糖 8%
3	MS + CCC 500 mg/L + 白糖 8%
4	MS + 6-BA 5 mg/L + CCC 500 mg/L + 白糖 8%
5	MS + PP ₃₃₃ 0.1 mg/L + 白糖 8%
6	MS + B ₉ 5 mg/L

(3) 光照处理: 试验在诱导培养基 MS + CCC 500 mg/L + 白糖 8% + 活性炭 0.1%, 培养温度 $18 \pm 1^\circ\text{C}$ 的基础上, 设两种光照条件, 即全暗培养和散射光 8 h/d, 光照强度 500~1 000 lx。以上试验各处理均接种 30 瓶, 3 次重复。

1.3 试验数据的收集与处理

观察记载各处理的始薯期(直径 3 mm), 诱导培养 60 d 后收获试管薯, 统计其结薯数量、单瓶鲜薯重、大薯数(直径 5 mm)和大薯率, 并对其差异显著性用 Duncan 法测定。

2 结果与分析

2.1 外源激素的影响

2.1.1 不同处理对‘Favorita’试管薯形成的影响

从暗培养第 5 d 调查的结果表明, 有矮壮素(CCC)、多效唑(PP₃₃₃)、丁酰胺(B₉)参加的处理结薯

较早。其中处理 3 最高, 结薯率为 45.4%, 处理 4 次之, 为 38.7%, 不含激素的处理 1 未结薯。结薯率随培养时间的延长而提高, 但趋势不变。从暗培养的第 10 d 到暗培养的第 15 d 处理 5 的植株结薯数急剧增加, 即与处理 3 无差异。到暗培养的第 25 d, 处理 3、处理 5 几乎全部植株结薯, 而处理 1 只有近 60% 的植株结薯。本试验认为, 在含有 8% 白糖的诱导培养基中, 没有任何外源激素参加可以诱导试管薯形成, 但结薯晚, 结薯率低, 外源激素可以提早结薯并提高结薯率, 对试管薯的诱导效应为: CCC > PP₃₃₃ > CCC + 6-BA > B₉ > 6-BA > 无外源激素(图 1)。

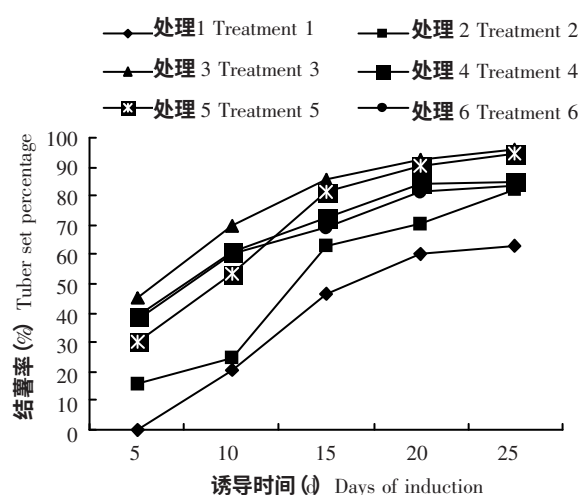


图 1 外源激素对‘Favorita’试管薯形成的影响

Figure 1 Effect of exogenous hormone on induction of 'Favorita' microtuber

2.1.2 不同处理对‘Favorita’试管薯诱导和发育的影响

由表 2 可以看出, 处理 3 的单瓶薯重、单薯重、单瓶薯数及单株薯数和大薯率均列各处理第一。

其中(单瓶和单株)薯数, 处理 5 位居第二, 处理 1 的数量最少。这说明, CCC 和 PP₃₃₃ 可以提高试管薯的结薯数量, 且单独使用好于配合使用更优于没有激素的处理。并且 CCC 和 PP₃₃₃ 对单瓶薯重和单薯重都有促进作用。从薯重分析, 单瓶薯重与单薯重对不同的激素处理效果不一, 前者各处理的排次为处理 3 > 5 > 4 > 6 > 2 > 1, 后者为处理 3 > 5 > 4 > 2 > 6 > 1。其中处理 3 的单瓶薯重与单薯重为 9.65 g、317.4 mg, 比处理 5 增加 2.89 g、62.1 mg, 大薯率 74.9% 最高。单独添加 5 mg/L 6-BA、5 mg/L B₉ 诱导效果差, 单瓶薯重和单瓶薯数以及大薯率

等均明显降低了。当 CCC 和 BA 两种激素同时使用时，明显降低了单瓶薯重。成薯指数 $[IP=个/株 \times 薯均重(g) \times 直径 D(mm)]$ 也反映了相同的趋势。加入外源激素的处理成薯指数均较高，各试管薯

粒级多集中于 100~500 mg 之间，质地、大小比较整齐、均匀，特别利于工厂化生产。试管薯诱导时各种外源激素处理是否与大田株的生长状况以及试管薯的质量和产量有关，有待进一步深入研究。

表 2 不同外源激素对‘Favorita’试管薯诱导的影响
Table 2 Effect of exogenous hormone on induction of ‘Favorita’ microtuber

处 理 Treatment	单瓶薯重 (g/bottle) Microtuber weight	单薯重 (mg) Per microtuber weight	单瓶结薯数量 (No./bottle) Microtuber number	单株结薯数量 (No./plant) Microtuber number	大薯率 (%) Large tuber percentage
1	1.61 F	93.5 e	17.2	0.86 e	34.7
2	4.86 E	195.9 d	24.8	1.24 d	49.4
3	9.65 A	317.4 a	30.4	1.52 a	74.9
4	6.41 C	224.1 c	28.6	1.43 b	59.3
5	6.76 B	255.3 b	30.0	1.50 a	68.6
6	5.29 D	191.6 d	27.6	1.38 c	49.1

注：多重比较采用新复极差法，下同。
Note: Means were separated by Duncan's Multiple Range Test. The same below.

2.2 活性炭的影响

图 2 反映了诱导阶段加入活性炭对试管薯数

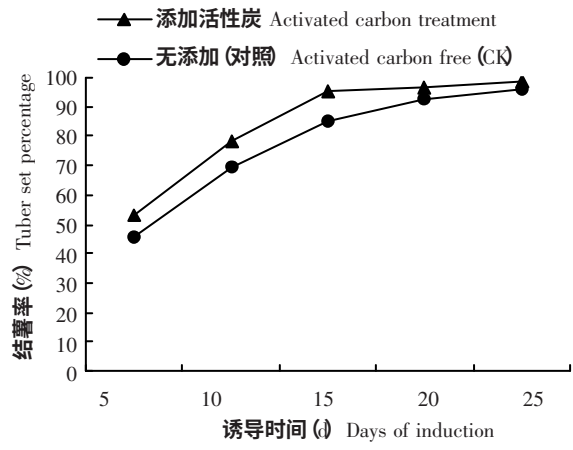


图 2 活性炭对‘Favorita’试管薯形成的影响
Figure 2 Effect of activated carbon on induction of ‘Favorita’ microtuber

量的影响。由图 2 可以看出，加入一定浓度的活性炭对试管结薯有促进作用，且作用主要集中于前半个月，以后的促进效应逐渐减弱。同时，诱导期间加入活性炭的处理前期 (特别是前 10 d) 所结薯块显著大于未加活性炭的处理。直至收获时，活性炭处理和对照之间单瓶结薯数无大差异，但前者的单薯重为 336.2 mg，而后者为 317.4 mg，平均提高了 18.8 mg (表 3)。

2.3 光照条件的影响

由表 4 可以看出，8 h/d 散射光 (光照强度 500~1 000 lx) 条件比全黑暗条件结薯晚，结薯数量未增加，但特别有利于‘Favorita’试管薯的后期发育，对试管薯膨大有显著的促进作用，同时试管薯质量提高。在散射光培养条件单瓶薯重、单薯重、大薯率为 11.46 g、379.4 mg、83.9%，均优于全黑暗条件 10.89 g、336.2 mg、75.8%，增加 0.57 g、43.2 mg、8.1%。

表 3 活性炭对‘Favorita’试管薯诱导的影响
Table 3 Effect of activated charcoal on induction of ‘Favorita’ microtuber

处 理 Treatment	单瓶薯重 (g/bottle) Microtuber weight	单薯重 (mg) Per microtuber weight	单瓶结薯数量 (No./bottle) Microtuber number	单株结薯数量 (No./plant) Microtuber number	大薯率 (%) Large tuber percentage
对照 CK	9.65 b	317.4 b	30.4 a	1.52 a	74.9 B
活性炭 Activated charcoal	10.89 a	336.2 a	30.8 a	1.54 a	75.8 A

表 4 不同光照条件对‘Favorita’试管薯诱导的影响
Table 4 Effect of light on induction of ‘Favorita’ microtuber

处 理 Treatment	单瓶薯重 (g/bottle) Microtuber weight	单薯重 (mg) Per microtuber weight	单瓶结薯数量 (No./bottle) Microtuber number	单株结薯数量 (No./plant) Microtuber number	大薯率 (%) Large tuber percentage
全黑暗 Whole dark condition	10.89 b	336.2 b	30.8 a	1.54 a	75.8 B
散射光 (8h/d) Diffused light	11.46 a	379.4 a	30.2 a	1.51 a	83.9 A

3 讨 论

马铃薯试管薯的形成及发育受多因素所控制, 当诱导环境适宜时, 没有任何激素也能形成, 但在相同的条件下结薯晚, 结薯率低。很多研究者^[3-5]报道, 即便不使用任何生长调节剂也能诱导试管薯形成, 本试验结果也证实了这一观点。就本试验结果而言, 为提高试管薯产量和质量, 缩短了生产周期, 外源诱导剂的使用是必要的, 但几种外源诱导剂的使用效应都不同, 其中植物生长抑制剂 CCC 的促进效果最明显。CCC 的促进作用主要表现为结薯数和平均薯重量的增加。培养基 (MS + 白糖 8%) 中添加 500 mg/L 的 CCC 能促进试管薯的形成, 而添加 500 mg/L CCC + 5 mg/L 6-BA 虽能提高结薯数量, 但平均薯重量却显著下降; 因为当有 BA 参与时 CCC 促进衰老的作用加强, 试管薯的后期发育受到明显抑制。在马铃薯试管薯诱导条件下, 0.1 mg/L 的 PP₃₃₃ 处理促进提早‘Favorita’试管薯结薯, 使单瓶试管薯鲜重, 平均直径和单薯鲜重都增加, 同时 CCC 的使用显示减低畸形薯率, 有利于提高试管薯质量。在试管薯生产中, CCC 抑制了马铃薯试管苗和匍匐茎的伸长, 但促进了块茎形成, 并能减缓高温对块茎形成的抑制作用。PP₃₃₃ 主要通过阻止从内-贝壳杉烯 (*ent-kaurene*) 到内-贝壳杉烯酸 (*ent-kaurenoic acid*) 的转化而抑制 GA 的生物合成。PP₃₃₃ 使用浓度仅为国际马铃薯中心推荐标准中 CCC 浓度 (500 mg/l) 的 1/5000, 故极少会出现 CCC 在马铃薯体内残留及对环境等污染的不良影响, 同时还有利于节约生产成本。因此, 在马铃薯试管薯生产中, 应用 CCC 可能比 PP₃₃₃ 更具优势^[6,7]。考虑到矮壮素促进马铃薯试管薯的作用是对不同来源的大量品种试验的结果, 而 PP₃₃₃ 仅在数品种上进行了试验, 故大范围应用尚需进一步研究。

活性炭作为一种吸附剂, 对诱导试管薯同样具有明显效果, 主要表现在增加了试管薯的数量和薯

重。鉴于试管薯的诱导期相对较长, 本试验推荐试管薯诱导培养基中加入 0.1% 的活性炭, 以利于试管薯的形成和发育。活性炭不是必需的试管薯外源诱导物, 但对试管薯诱导有一定的促进作用, 可能是由于活性炭改善了体系的环境, 加强了培养基营养成分的利用, 从而增加了试管薯的薯重。

常规试管薯诱导多在全黑暗条件下进行, 本试验在全黑暗和 8 h/d 散射光的两种条件下诱导。结果表明: 全黑暗使试管薯发生提前, 结薯集中, 但不利于试管薯的增重; 在适宜的结薯温度 (18 ± 1) °C 下, 8 h/d 散射光条件有利于‘Favorita’试管薯的后期发育, 单薯重和大薯率均有极显著的促进作用, 结薯数与全黑暗处理无差异。因此 8 h/d 散射光条件是‘Favorita’试管薯诱导的适宜光照条件, 同时试管薯质量提高了。

本试验结果只研究植物生长调节物质和活性炭、光照对马铃薯栽培品种‘Favorita’试管薯诱导的影响, 因此针对不同品种, 必须进一步研究外源激素种类以及浓度、光照等马铃薯试管薯诱导的最佳培养条件。

[参 考 文 献]

- [1] 金顺福, 姜成模, 玄春吉, 等. 马铃薯脱毒试管薯工厂化生产技术及应用研究[J]. 中国马铃薯, 2004, 18(6): 340-342.
- [2] 张志军, 李会珍, 姚宏亮. 多效唑对马铃薯试管苗生长和块茎形成的影响[J]. 浙江大学学报, 2004, 3(30): 318-322.
- [3] 连勇. 马铃薯试管薯诱导与应用[J]. 马铃薯杂志, 1995, 9(4): 237-240.
- [4] 王瑞斌, 王蒂, 司怀军. 食用白糖和活性炭互作诱导马铃薯试管薯的研究[J]. 甘肃农业大学学报, 2006, 4(41): 35-40.
- [5] Garner N, Blake J. The induction and development of potato microtubers in vitro on media free of growth regulating substances [J]. Annual of Botany, 1998, 63: 663-674.
- [6] 马宗新. K⁺、NH₄⁺、CCC 对马铃薯试管苗生长的影响[J]. 现代农业科技, 2010(13): 112-113.
- [7] 李方, 陈昆松, 夏宜平, 等. B₉ 和 PP₃₃₃ 对马铃薯试管苗生长的影响[J]. 浙江农业学报, 2001(2): 67-71.