

中图分类号: S532 文献标识码: A 文章编号: 1672-3635 (2012) 05-0257-03

遗传育种

马铃薯种质离体保存技术

岳新丽^{1*}, 湛润生², 帅媛媛¹, 陈 云¹

(1. 山西省农业科学院高寒区作物研究所, 山西 大同 037008; 2. 大同大学农学与生命科学学院, 山西 大同 037009)

摘 要: 以马铃薯‘晋薯 16 号’为试验材料, 以节间作为外植体, 进行了种质资源缓慢生长保存研究。结果表明, 以 MS + IAA 0.5 mg/L + KT 0.1 mg/L 为基本培养基, 通过调节蔗糖浓度进行马铃薯种质离体保存, 在常温条件下最佳蔗糖浓度为 90 g/L; 以 MS+蔗糖 30 g/L + IAA 0.5 mg/L + KT 0.1 mg/L 为基本培养基, 通过调节多效唑 (PP₃₃₃) 浓度进行马铃薯种质离体保存, 在常温条件下最佳 PP₃₃₃ 浓度为 1.0 mg/L, 在低温 4℃ 条件下最佳 PP₃₃₃ 浓度为 0.5 mg/L。离体保存后的试管苗转入继代培养基中进行恢复培养, 其生长情况与正常继代苗无显著差异。

关键词: 马铃薯; 种质; 离体保存

In vitro Preservation of Potato Germplasm

YUE Xinli^{1*}, ZHAN Runsheng², SHUAI Yuanyuan¹, CHEN Yun¹

(1. Institute of High Latitude and Cold Area Crops, Shanxi Academy of Agricultural Sciences, Datong, Shanxi 037008, China;

2. College of Agriculture and Life Science, Shanxi Datong University, Datong, Shanxi 037009, China)

Abstract: Restricting conservation is a main method of plant germplasm *in vitro* preservation. Internode slow growth conservation of potato cultivar ‘Jinshu 16’ was studied in this experiment. The results showed that MS + IAA 0.5 mg/L + KT 0.1 mg/L plus 90 g/L sucrose gave best results at room temperature, while MS + sucrose 30 g/L + IAA 0.5 mg/L + KT 0.1 mg/L supplemented with Paelobutrazol (PP₃₃₃) 1.0 mg/L at room temperature and 0.5 mg/L at low temperature (4℃) performed well. Potato regenerated plantlets were the same as the normal subculture plantlets in morphology, when the plantlets were transferred to subculture medium at room temperature after preserved *in vitro*.

Key Words: potato; germplasm; *in vitro* conservation

近年来, 植物种质资源流失的情况越来越严重, 植物种质资源保存已成为全球性关注的课题^[1]。缓慢生长离体保存被证明是行之有效的种质保存方法, 以组织培养技术为基础, 通过改变培养物生长的外界环境条件, 使细胞生长降至最小限度, 以延长继代间隔时间, 减少继代次数, 实现植物种质资源的中长期保存目的^[2], 此法已经成功地应用于多种植物^[3-4]。本文以马铃薯无菌苗为外植体, 以 MS 为基本培养基, 研究了蔗糖、多效唑 (PP₃₃₃) 在常温和低温条件下对马铃薯试管苗离体保存的影响, 以期马铃薯种质资源的离体保存提供技术

支持和理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以山西省农业科学院高寒区作物研究所育成的新品种‘晋薯 16 号’无菌苗为试验材料。

1.2 试验方法

1.2.1 预培养

取整齐一致的马铃薯节间作为外植体, 以 MS + IAA 0.5 mg/L + KT 0.1 mg/L 为基本培养基, 在温度 25±1℃、光照时间为 14h/d、光照强度 1 600~3 000 lx

收稿日期: 2012-06-03

基金项目: 山西省农业科学院育种工程项目 (YYZJC111)。

作者简介: 岳新丽 (1979), 女, 助理研究员, 主要从事马铃薯遗传育种及栽培技术研究。

* 通信作者 (Corresponding author): 岳新丽, E-mail: dou_139_6@126.com。

条件下进行增值扩繁以备用。

1.2.2 蔗糖对马铃薯试管苗常温保存的影响

以 MS + IAA 0.5 mg/L + KT 0.1 mg/L 为基本培养基, 在培养基中分别添加蔗糖浓度 10、30、50、70、90、110 g/L 共 6 个试验处理, 对马铃薯试管苗进行保存。

1.2.3 PP₃₃₃ 对马铃薯试管苗常温保存的影响

以 MS + 蔗糖 30 g/L + IAA 0.5 mg/L + KT 0.1 mg/L 为基本培养基, 在培养基中添加不同 PP₃₃₃ 浓度 0、0.5、1.0、1.5、3.0 mg/L 共 5 个试验处理, 对马铃薯试管苗进行保存。

1.2.4 PP₃₃₃ 对马铃薯试管苗低温保存的影响

先将各处理的马铃薯试管苗在常规条件下培养 10 d, 再转入 4℃ 低温冰箱里避光保存, 培养基同 1.2.3。

每试验处理接种 10 瓶, 每瓶接种 5 株马铃薯无菌苗, 共 3 次重复。试验材料为剪取 1~1.5 cm 长带叶茎段, 插入培养基中进行离体保存试验。培养温度 25 ± 1℃、光照时间为 14 h/d、光照强度为 1 000~1 500 lx。连续培养保存 150 d, 每隔 1 个月检查 1 次并且观察记录其生长分化情况和保存存活率。

1.2.5 恢复生长

将经过离体保存后的马铃薯试管苗与 1 个月继代 1 次正常培养的试管苗同时接种到继代培养基中 (MS + 蔗糖 30 g/L + IAA 0.5 mg/L + KT 0.1 mg/L), 增殖培养 30 d 后统计试管苗的高度, 生长情况。本试验均为单因子试验, 各处理抽取 5 瓶掏出苗子洗净根部培养基, 随机抽取 5 株, 3 次重复, 数据取其平均值。方差分析采用邓肯新复极差法。

2 结果与分析

2.1 蔗糖对马铃薯试管苗常温保存的影响

由图 1 看出, 10~50 g/L 范围的蔗糖处理马铃薯试管苗时, 对试管苗的生长没有起到抑制作用, 当保存时间到 150 d 时, 保存的马铃薯试管苗枯黄死亡, 茎变细, 根细长发黄, 培养基呈黑色。蔗糖浓度在 50 g/L 的培养基与正常蔗糖含量以及低浓度蔗糖 (10 g/L) 的培养基相比, 对试管苗没有抑制作用, 但植株茎秆、根系粗壮, 叶色深绿。但 70~110 g/L 范围的蔗糖处理时, 对试管苗生长的抑制作用明显。添加 70 g/L 和 90 g/L 蔗糖保存 150 d

后, 试管苗较对照健壮, 叶色绿, 培养基无明显变化, 存活率为 70.7% 和 87.3%, 而 110 g/L 蔗糖的浓度过高, 抑制作用过于强烈, 致使试管苗的存活率下降至 56.3%, 保存期缩短。因此有利于保存马铃薯试管苗的蔗糖浓度是 90 g/L。

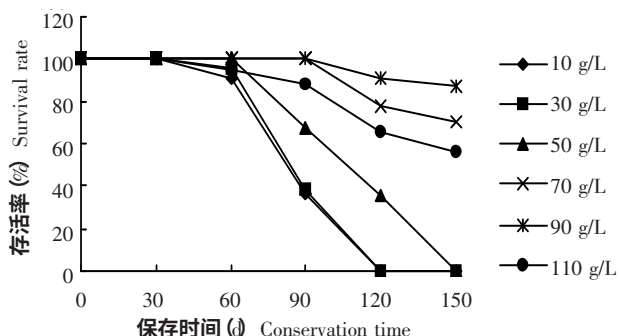


图 1 不同浓度蔗糖对马铃薯试管苗常温保存的影响

Figure 1 Effect of different concentrations of sucrose on preservation of tube-plantlets at room temperature

2.2 PP₃₃₃ 对马铃薯试管苗常温保存的影响

从图 2 可以看出, 不添加 PP₃₃₃ 的马铃薯试管苗 120 d 后全部死亡, 而经过 PP₃₃₃ 处理后, 其成活率显著提高。从总体上来看生长延缓剂 PP₃₃₃ 对马铃薯试管苗的保存是具有抑制生长的作用, 浓度对试管苗保存的效果影响较大, 低浓度的 PP₃₃₃ 可以促进马铃薯试管苗的健壮生长, 其茎秆粗壮, 根系发达, 分枝增多, 但保存的时间有限; 高浓度的 PP₃₃₃ 使试管苗生长缓慢, 茎秆粗壮矮小, 但试管苗的叶片数目增加, 颜色加深, 根变粗短而根数减少, 并出现大量的丛生芽。当生长延缓剂 PP₃₃₃ 浓度为 1.0 mg/L, 试管苗保存的效果最好, 连续保存 5 个月还有 93% 的试管苗存活; PP₃₃₃ 浓度为 1.5 mg/L 和

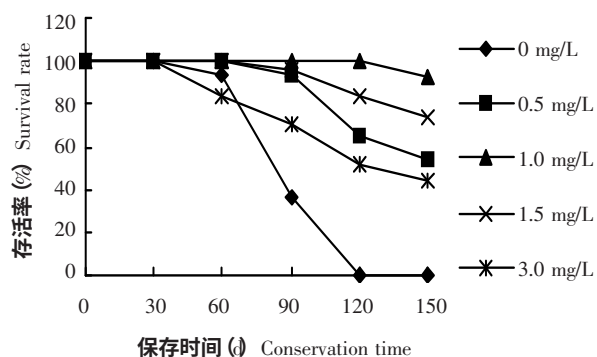


图 2 不同浓度 PP₃₃₃ 对马铃薯试管苗常温保存的影响

Figure 2 Effect of different concentrations of PP₃₃₃ on preservation of tube-plantlets at room temperature

0.5 mg/L 的处理次之, 试管苗的存活率分别为 74%、54%。当浓度比较大幅度提高到 3.0 mg/L, 对试管苗表现出毒害作用, 死苗现象严重, 保存存活率随着时间的延长而快速下降。综合分析认为, 生长延缓剂 PP₃₃₃ 在马铃薯试管苗保存中应用的适宜处理浓度为 1.0 mg/L。

2.3 PP₃₃₃ 对马铃薯试管苗低温保存的影响

从图 3 可以看出, 4℃ 的低温能显著延长所有不同 PP₃₃₃ 浓度处理的马铃薯试管苗的离体保存时间。在低温下, 对照虽然没有加入 PP₃₃₃, 但由于低温的作用, 其保存时间也比常温保存的时间要长, 至 150 d 时还有 30.3% 的成活率; 在低温下, 低浓度的 PP₃₃₃ 有利于提高试管苗的成活率, 而高浓度的 PP₃₃₃ 则可对试管苗产生毒害, 使其成活率下降, 马铃薯试管苗低温下保存的最佳 PP₃₃₃ 浓度为 0.5 mg/L, 低于常温保存时的最佳浓度。可见, PP₃₃₃ 对马铃薯试管苗的低温保存效果优于常温保存。

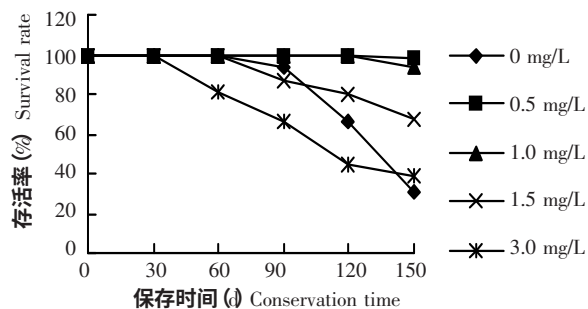


图 3 不同浓度 PP₃₃₃ 对马铃薯试管苗低温 (4℃) 保存的影响

Figure 3 Effect of different concentrations of PP₃₃₃ on preservation of tube-plantlets at low temperature (4℃)

2.4 保存马铃薯试管苗的恢复生长

选马铃薯离体保存试管苗各处理的最佳浓度进行继代培养。从表 1 可以看出, 马铃薯试管苗经保存处理后再生苗与对照常温继代苗在株高、茎粗、根的数量等方面差异不显著, 即对试管苗继代生长没有影响。说明蔗糖、PP₃₃₃ 用来保存马铃薯种质是合适的, 能够保证遗传资源的稳定性。

表 1 马铃薯离体保存后再生苗与继代苗形态指标的比较

Table 1 Morphological index of *in vitro* preservation regenerated plantlets and subculture plantlets

处理 Treatment	成活率 (%) Survival rate	株高 (cm) Plant height	茎粗 (mm) Stem diameter	根数 (No) Root number
蔗糖保存后继代 Subculture after conserved in sucrose at room temperature	100	9.14a	0.93a	5.76a
PP ₃₃₃ 常温保存后继代 Subculture after conserved in PP ₃₃₃ at room temperature	100	9.17a	0.91a	5.78a
PP ₃₃₃ 低温保存后继代 Subculture after conserved in PP ₃₃₃ at 4℃	100	9.21a	0.96a	5.68a
普通继代培养 Normal subculture	100	9.20a	0.94a	5.70a

3 讨 论

本试验在培养基中添加低浓度的蔗糖对马铃薯的生长没有抑制作用, 当蔗糖浓度提高至 70 g/L 时, 有效抑制了马铃薯的生长。这是由于提高蔗糖浓度, 使培养基的渗透压超过了其承受范围, 使水分、养分吸收受阻, 从而抑制了生长。

本试验证明, 在马铃薯的离体保存中, PP₃₃₃ 的使用可以减缓试管苗的生长速度, 延缓继代时间, 从而能显著提高马铃薯试管苗常、低温保存的成活率, PP₃₃₃ 浓度过高则容易产生毒害作用, 成活率反而降低。这与 PP₃₃₃ 对草莓^[5]的保存效果一致。

在试管苗离体保存中, 低温对试管苗生长有明显的抑制作用, 低温下的成活率明显高于常温条件。因此, 低温处理是试管苗保存的常用方法^[6]。本试验表明, 在常温 25℃ 条件下, 马铃薯试管苗保存 150 d

后成活率显著低于 4℃ 条件下试管苗的成活率。这与地黄^[7]的低温保存效果一致。

[参 考 文 献]

- [1] 巩振辉, 申书兴. 植物组织培养[M]. 北京: 化学工业出版社, 2007: 178–189.
- [2] 陈辉, 陈晓玲, 陈龙清, 等. 百合种质资源限制生长法保存研究[J]. 园艺学报, 2006, 33(4): 789–793.
- [3] 赵海红, 贝丽霞, 丁俊杰. 不同生长延缓剂对马铃薯脱毒试管苗保存的影响[J]. 黑龙江农业科学, 2010(5): 1–2.
- [4] 王艳芳, 房伟民, 陈发棣, 等. ‘神马’菊花的离体保存及遗传稳定性[J]. 西北植物学报, 2007, 27(7): 1341–1348.
- [5] 赵密珍, 刁曼妮, 钱亚明, 等. 多效唑对草莓种质离体保存的影响[J]. 植物遗传资源学报, 2003, 4(3): 242–244.
- [6] Yin M H. Cryopreservation of *Dendrobium candidum* Wall. ex Lindl. protocorm-like bodies by encapsulation–vitrification [J]. Plant Cell, Tissue and Organ Culture, 2009, 98(2): 179–185.
- [7] 温学森, 魏建和, 杨世林, 等. 地黄种质资源的离体保存研究[J]. 中国中药杂志, 2003, 28(1): 17–20.