中图分类号: S532 文献标识码: A 文章编号: 1672-3635(2011)04-0200-04

马铃薯试管薯工厂化生产优化试验

吴京姬,金顺福,姜成模*,玄春吉,李玉子,康哲秀,郎贤波,南哲佑

(延边农业科学院, 吉林 龙井 133400)

摘 要:为使马铃薯试管薯工厂化生产,对试管薯生产参试进行了优化。试验结果表明:在 2MS 培养基中壮苗,是获得试管薯高产的必要前提。在诱导培养基 MS+6BA0.5 mg / L+8% 白糖液体培养基上黑暗处理 2 周后放入自然光下培养可提高试管薯的产量。当容器使用 220 mL 培养瓶时,诱导培养液量为 50 mL 为宜,并且每瓶放入 20 个茎段效果最好。试管苗去掉顶部后进行试管薯生产可提高成苗率和试管薯产量。

关键词:马铃薯;试管薯诱导;光照处理;培养液;节位

Optimization for Microtuber Bunch Production

WU Jingji, JIN Shunfu, JIANG Chengmo*, XUAN Chunji, LI Yuzi, KANG Zhexiu, LANG Xianbo, NAN Zheyou

(Yanbian Academy of Agricultural Sciences, Longjing, Jilin 133400, China)

Abstract: In order to carry on the bunch production of microtubers, the optimization was made for the production parameters. Using 2 times of MS medium was a necessary premise for achieving robust plantlets in vitro and thereby a high yield of microtubers. Yield of microtubers was increased when plantlets in vitro were cultured in the inducing liquid medium MS + 6 BA 0.5 mg / L + 8% white sugar in the dark for two weeks and then under natural light. The best effects were achieved when 50 mL of inducing medium were added into 220 mL wide mouth bottle and 20 segments were inoculated. Furthermore, the plantlet in vitro survival percentage and microtuber yield were improved when the top segment was abandoned and other segments were kept for initiating the culture.

Key Words: potato; microtuber induction; light treatment; liquid medium; segment position

马铃薯试管薯的生产,只要具备简单的无菌设备和培养条件,可以不受季节限制周年生产,且不受病毒再侵染的危害,在短期内为原原种生产提供大量脱毒核心种。近年来,延边农业科学研究院提出以试管薯为核心种的马铃薯种薯繁育新型体系,针对试管薯的标准化和工厂化生产做了大量的研究[1],也取得了一些成绩,每年可为原原种生产提供大量的试管薯。为了完善马铃薯脱毒试管薯生产的标准化模式,本试验针对不同光照处理、不同培养液体积、同体积诱导培养基中放入不同茎段数、不同节位的茎段对试管薯诱导的影响开展研究,为今后马铃薯试管薯工厂化生产提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以延边农科院提供的早熟品种费乌瑞它和晚熟品种延薯 4 号的脱毒试管苗为供试材料,采用 PCR 方法和酶联双抗体夹心法对主要病毒病和类病毒(PSTV)进行检测,选取不带病毒的试管苗作为基础苗扩繁,进行试验。

1.2 试验方法

1.2.1 不同光照处理对试管薯生产的影响

在 2MS 液体培养基中静止培养 4 周 , 培养室温度 $20\sim25\%$, 光照强度 $2~000~\mathrm{Lx}$, 光照 $16~\mathrm{h}$ / d_\odot 等

收稿日期:2010-10-22

基金项目: 国家农业部马铃薯产业技术体系资助(CARS-10-ES07)。

作者简介:吴京姬(1981-),女,助理研究员,主要从事马铃薯组织培养及试管苗脱毒快繁技术的研究及应用。

*通信作者(Corresponding author): 姜成模,研究员,从事马铃薯遗传育种研究及种薯开发,E-mail: chengmojiang@163.com。

壮苗后加入经高压灭菌诱导试管薯培养基 MS+6–BA 5 mg/L+8%白糖,pH 5.8。培养温度 15~18 $^{\circ}$ 0。处理为:① 全黑暗条件;②每天 8 h 光照;③黑暗处理 2 周后放入自然光下培养;④黑暗处理 3 周后放入自然光下培养。

1.2.2 不同培养液体积对试管薯生产的影响

在 2MS 液体培养基中静止培养 4 周。培养室温度 $20{\sim}25^{\circ}{\rm C}$,光照强度 $2\,000\,{\rm Lx}$,光照 $16\,{\rm h}\,/{\rm d}$ 。等壮苗后把原来培养液倒掉加入 MS + 6-BA $0.5\,{\rm mg}\,/{\rm L}$ + 白糖 8% 液体培养基,培养液体积分别设为 30、50、 $70\,{\rm mL}$ (培养瓶体积为 $220\,{\rm mL}$)。培养温度为 $15{\sim}20^{\circ}{\rm C}$,黑暗处理 2 周后放入自然光下培养 2 个月。

1.2.3 同体积诱导培养基中放入不同茎段数对试管 薯生产的影响

每瓶接 10、20、30 个茎段各 20 瓶。在 2MS 液体培养基中,静止培养 4 周。培养室温度 20~25 ℃,光照强度 2 000 Lx,光照 16 h / d。等壮苗后加入 50 mL(培养瓶体积为 220 mL)诱导培养基 MS + 6–BA 0.5 mg / L + 8% 白糖 6 培养温度为 15~20 ℃,黑暗处理 2 周后放入自然光下培养 2 个月。

1.2.4 不同节位的茎段对试管薯生产的影响 待试管苗长至单株约 6~8 个节时从试管苗的顶

部、中部、下部分别取两个茎段,接种于装有 2 MS 液体培养基中静止培养。每瓶接种 20 个茎段,每个处理接 20 瓶。培养室温度 20~25℃,光照强度 2 000 Lx,光照 16 h / d。培养 4 周后将原来的壮苗培养基倒掉,加入 50 mL MS + 6–BA 0.5 mg / L + 8% 白糖液体培养基。培养温度为 15~20℃,黑暗处理 2 周后放入自然光下培养 2 个月。

1.3 调查内容及方法

在本试验中,把直径大于5 mm 的微型薯称为大薯,统计大薯数。并计算出大薯占结薯总数的百分数,称为大薯率。以此作为考察微型薯在诱导期间发育阶段一致性程度的指标²²。诱导结薯3个月后收获,统计单瓶结薯数(直径3 mm 以上)、微型薯产量(g/瓶)、单薯重(g/粒)和大薯率等指标。

2 结果与分析

2.1 不同光照处理对试管薯生产的影响

从表1可知,早熟品种费乌瑞它生产试管薯的单瓶产量、单薯重、大薯率均高于晚熟品种延薯 4号。黑暗处理2周后放入自然光下培养,单瓶产量、单薯重、大薯率均高于其它处理,且差异显著。全黑暗条件时单瓶产量、单薯重、大薯率最低。

表 1 不同光照处理对试管薯生产的影响

Table 1 Effects of different lighting treatments on microtuber production

处理 Treatment	产量(g / bottle) Yield		单薯重(g) Per tuber weight		大薯率(%) Large tuber rate	
	费乌瑞它 Favorita	延薯 4 号 Yanshu 4	费乌瑞它 Favorita	延薯 4 号 Yanshu 4	费乌瑞它 Favorita	延薯 4 号 Yanshu 4
1)	4.47 d	3.55 b	0.18 с	0.10 b	45.6 с	24.6 с
2	5.38 е	5.13 ab	0.34 b	0.26 ab	70.3 b	52.3 e
3	9.34 a	6.56 a	0.47 a	0.38 a	88.6 a	72.3 a
4	6.71 b	5.29 ab	0.34 b	0.26 ab	74.0 b	57.4 b
(5)	6.28 b	4.01 b	0.31 b	0.20 ab	54.8 c	32.8 d

注:处理①为全黑暗条件;处理②为每天 8 h 光照;处理③为黑暗处理 2 周后放入自然光下培养;处理④为黑暗处理 3 周后放入自然光下培养;处理⑤为黑暗处理 4 周后放入自然光下培养。多重比较采用新复极差法,下同。

Note: ① whole dark condition; ② eight hours light per day; ③ natural light after 2-week dark condition; ④ natural light after 3-week dark condition; and ⑤ natural light after 4-week dark condition. Means were separated by Duncan's Multiple Range Test. The same below.

2.2 不同培养液体积对试管薯生产的影响

从表 2 可以看出,早熟品种费乌瑞它生产试管薯的单瓶产量、单薯重、大薯率均高于晚熟品种延薯 4 号。各处理间比较,培养液 50 mL 时试管薯单瓶产量、单薯重、大薯率高于培养液 30 mL 和 70 mL。

我们在试验中发现,30 mL 培养基中结薯两个

月后,剩余营养液很少,营养耗尽,满足不了之后 试管薯生产所需的营养,而影响产量。70 mL 营养液 时大部分试管苗沉浸在营养液当中,培养两个月后 发现,试管薯表面出现气孔比较大,并且有个别烂 薯现象。因此选择 50 mL 营养液形成试管薯产量高 且大薯率高。

= 2	不同培养液体积对试管薯牛产的影响
रर ∠	小问培养液体积别以官者生广的影响

Table 2 Effects of different volumes of medium on the microtuber production

培养液体积(mL) Medium volume	产量(g/bottle) Yield		单薯重(g) Per tuber weight		大薯率(%) Large tuber rate	
	费乌瑞它 Favorita	延薯 4号 Yanshu 4	费乌瑞它 Favorita	延薯 4 号 Yanshu 4	费乌瑞它 Favorita	延薯 4号 Yanshu 4
30	3.14 a	1.99 с	0.215 a	0.135 a	90.4 a	65.9 b
50	3.97 a	3.28 a	0.261 a	0.219 a	93.7 a	82.6 a
70	3.88 a	2.73 b	0.273 a	0.187 a	91.2 a	74.8 ab

2.3 同体积诱导培养基中放入不同茎段数对试管薯生产的影响

从表 3 中可以看出,早熟品种费乌瑞它生产试管薯的单瓶产量、单薯重、大薯率均高于晚熟品种延薯 4 号;同体积培养基中放置 20 个和 30 个茎段在试管薯单瓶产量上比放置 10 个茎段高,产量差异显著,而放置 20 个和 30 个茎段在产量上无差异。

但在单薯重上放置 20 个要比 30 个茎段单薯重高, 且差异显著。放置 10 个茎段大薯率最高,与放置 20 个和 30 个茎段差异显著。

由此可知,每瓶放入20个茎段时,费乌瑞它和延薯4号单瓶产量最高。放入10茎段时单薯重、大薯率最高,说明营养丰富,促进试管薯的膨大。综合考虑在生产上应放入20株茎段其效果最好。

表 3 同体积诱导培养基中放入不同茎段数对试管薯生产的影响

Table 3 Effects of different segment numbers in the same volume of inducing medium on the microtuber production

茎段数(No.) Stem section number	产量(g / bottle) Yield		单薯重(g) Per tuber weight		大薯率(%) Large tuber rate	
	费乌瑞它 Favorita	延薯 4号 Yanshu 4	费乌瑞它 Favorita	延薯4号Yanshu4	费乌瑞它 Favorita	延薯 4号 Yanshu 4
10	2.09 b	1.53 b	0.25 a	0.18 a	90.1 a	77.4 a
20	3.85 a	2.76 a	0.22 a	0.12 a	82.6 b	61.2 b
30	3.60 a	2.41 a	0.15 b	0.07 b	51.3 c	39.4 c

2.4 不同节位的茎段对试管薯生产的影响

从表 4 可看出,品种费乌瑞它生产试管薯的单瓶产量、单薯重、大薯率均高于品种延薯 4 号。各处理间比较,中部茎段诱导试管薯效果要好于基部和顶

部。顶部成苗率最低,因为在液体培养基中顶部常倒置,造成基部无法与培养液接触吸收营养而死亡。所以,顶部单瓶结薯数少于中部和基部。综合考虑,在试管薯生产中应去掉最顶部再进行试管薯诱导。

表 4 不同节位的茎段对试管薯生产的影响

Table 4 Effects of different stem sections on the microtuber production

不同节位	产量(g / bottle) Yield		单薯重(g) Per tuber weight		大薯率(%) Large tuber rate	
Different stem sections	费乌瑞它 Favorita	延薯 4 号 Yanshu 4	费乌瑞它 Favorita	延薯 4 号 Yanshu 4	费乌瑞它 Favorita	延薯 4号 Yanshu 4
顶部 Top section	2.95 b	2.50 b	0.162 a	0.119 b	84.6 a	70.2 a
中部 Middle section	3.92 a	3.20 a	0.238 a	0.221 a	90.8 a	78.3 a
基部 Bottom section	3.38 ab	2.98 ab	0.208 a	0.233 a	87.6 a	72.9 a

3 讨论

试管薯收获时发现全黑暗条件时植株全部枯黄、 失绿、萎蔫,全部浸在培养液中,薯块气孔增大。 黑暗处理2周后放入自然光下培养和每天8h光照收 获时试管苗依然带有绿色,且苗直立。长时间黑暗 处理导致光照时间的严重不足,试管苗提前失绿、 枯黄,光和作用很难进行,导致干物质积累受阻, 产量下降。早熟品种费乌瑞它和晚熟品种延薯 4 号 在黑暗处理 2 周诱导结薯后马上放入自然光下培养 大大提高了试管薯的产量,这可能是植株恢复了光 合作用,接近了正常的生理状态,有利于植株自己 中图分类号: S532 文献标识码: B 文章编号: 1672-3635(2011)04-0203-03

冀西北马铃薯实生薯无性系的培育及选种技术

张耀辉*, 尹江, 马恢, 籍立杰, 冯 琰, 尚启兵, 张希近

(张家口市农业科学院,河北 张家口 075000)

摘要:利用实生种子在营养钵中培育出实生小薯,再用实生小薯进行无性一代培育及选种,因减少了移栽环节,既提高了成活率,又使各组合能按正常生育期成熟,利于选种。无性一代的培育在网棚内种植,免受外界不良环境条件的影响,防止优良品系在低代被淘汰,使优势基因继续保留下来,确保无性世代有丰富的选种材料。

关键词:马铃薯;无性一代;培育;选种

Cultivation and Selection Techniques of Potato Superior Genotype in Northwest Hebei

ZHANG Yaohui*, YIN Jiang, MA Hui, JI Lijie, FENG Yan, SHANG Qibing, ZHANG Xijin

(Zhangjiakou Academy of Agricultural Sciences, Zhangjiakou, Hebei 075000, China)

Abstract: Planting potato hybrid seed into a nutrition pot and producing seedling tubers for next year planting in the field are good practice for early selection because it avoids the transplanting process, increase the survival rate, and also made the potato plant mature normally. The seedling generation is in the net house, and the growing environment is clean. This may make seedling plants healthy, help keep the superior genotype in the selection process, and therefore provide rich materials for later selection.

Key Words: potato; superior genotype; cultivation; selection

收稿日期:2010-10-22

基金项目:现代农业产业(马铃薯)技术体系专项经费资助(MATS)。

作者简介:张耀辉(1974-),女,农艺师,主要从事马铃薯新品种选育及技术推广工作。 * 通信作者(Corresponding author): 张耀辉,E-mail: zhangyaohui7408x@sina.com。

制造的营养物质向试管薯输送,增加了薯块的淀粉含量,促进了试管薯的产量。

用液体培养基诱导试管薯时培养液要适量。试验证明,使用 220 mL 广口瓶生产试管薯时,诱导培养基以 50 mL 为宜。培养液过少,试管苗吸收营养不足;培养液过多,影响通气,试管薯因缺氧气孔增大,且伴有烂薯现象。当诱导培养基体积为 50 mL 时,微型薯产量并不随着茎段数量的增加而增加。过多,试管苗吸收的营养不足;太少,营养过分浪费。由此可知,当瓶中诱导培养基体积为 50 mL 时,放入 20 个茎段最合适。本试验研究发现,试管苗顶部在壮苗培养时成苗率低,各处理间比较中部茎段诱导效果好于基部和顶部。在试管薯生产中去掉顶部再进行试管薯诱导可以提高成苗率,增加单瓶结薯数及试管薯的产量。

费乌瑞它在不同处理上单瓶产量、单薯重、大 薯率均高于晚熟品种延薯 4 号。试管薯的形成与品 种的基因型有关,其产生的条件在各品种间存在明 显的差异。不同基因型的马铃薯试管内结薯的数量 和重量有很大差异,这是由基因型控制的,并且依 赖于基因型对诱导系统的反应^[3]。也可能是两个品 种在成熟度上有差异,有待于今后进一步研究。

[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] 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: 143–147.
- [3] 连勇, 邹颖, 杨宏福, 等. 马铃薯试管薯发育机理的研究[J]. 中国马铃薯, 1996, 10(3): 130–132.