

中图分类号: S532; S324 文献标识码: A 文章编号: 1672-3635(2010)05-0278-03

马铃薯种质资源保存试验

王娟

(甘肃省定西市旱作农业科研推广中心, 甘肃 定西 743000)

摘要: 通过低温保存, 添加渗透调节剂及生长抑制剂和微型薯诱导的方法, 对马铃薯种质资源试管苗的保存效果进行了研究。结果表明, 使用低温(4℃)保存和在 MS 培养基基础上添加浓度为 $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的生长抑制剂比久(B₉), 可以使试管苗保存时间长达 8~10 个月, 且苗茎叶健壮, 有试管薯形成, 保存效果较好; MS 基础上添加浓度为 0.01%~0.1% 渗透调节剂甘露醇也能达到较好的保存效果; 通过微型薯诱导保存得到试管薯的诱导率为 15%~80%, 但保存后期易造成试管苗死亡。

关键词: 马铃薯; 种质资源; 保存

Preservation of Potato Germplasm

WANG Juan

(Dingxi Arid Agricultural Research and Extension Center, Dingxi, Gansu 743000, China)

Abstract: The way of potato germplasm preservation was investigated, including low temperature, addition of permeable regulator and growth inhibitor, and induction of microtuber. The low temperature preservation (4℃) and adding the growth inhibitor B₉ at the concentration of $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ to MS culture medium could preserve potato plantlets in vitro for up to 8-10 months, under which conditions the plantlets in vitro were strong and produced some microtubers, and therefore, better results were achieved. Addition of 0.01%-0.1% penetration regulator mannitol to basal MS medium could also achieve similar results. When cultured in various inducing media, the plantlets in vitro produced microtubers at the rate of 15%-80%, however, it gave rise to the death in the late stage of preservation.

Key Words: potato; germplasm; preservation

种质资源的搜集引进、鉴定、创新和利用一直为我国马铃薯育种者所重视^[1]。我国拥有丰富的地方品种资源, 具有独特的区域适应性, 所以在引进国外资源的同时, 也相当重视本国地方品种资源的筛选利用。近年来, 随着马铃薯品种的逐渐增多, 如何有效地保存从外面引进的和当地现有的种质资源, 使它们更好地在马铃薯育种中发挥长久的作用也成了各地在育种过程中必须要解决的首要问题。

我国马铃薯种质资源过去一直采用“春播、秋收、冬窖藏”的田间保存方法。但是, 这种方法不仅需要大量的人力、物力和财力, 而且不可避免地受到各种灾害(干旱、洪涝、病虫害等)和人为因素的影响, 最终可能造成资源混杂或遗失。利用

茎尖脱毒、组织培养技术逐渐将资源转育成试管苗保存, 这种离体条件下的试管苗保存即避免田间病虫害的侵袭, 减少资源流失, 又具有占用空间小, 维持费用相对较低, 便于国际间的种质交流等优点。本试验通过低温以及在培养基中添加不同的化学物质对种质资源试管苗的保存效果进行了研究, 以期得到简单、长效的保存方法, 节省成本和人力。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试材料来自于 2008 年 9 月从黑龙江省农业科学院克山分院引进的育种材料的试管苗以及由定西市旱作农业科研推广中心培育出的部分品种的脱

收稿日期: 2010-07-23

作者简介: 王娟(1980-), 女, 硕士, 研究员, 主要从事马铃薯组织培养及遗传育种研究。

毒苗, 共计 120 个品种(系)。

1.2 试验方法

本试验中试管苗保存的操作方法是将参试品种(系)的试管苗剪取相同长度、且带一个叶片的茎段后接种到各试管培养基中。

1.2.1 一般保存

将各品种试管苗的茎段接种在 MS 固体培养基上, 培养温度为 20~22℃, 每天 8 h 光照, 光照强度为 2 000 Lx。

1.2.2 低温保存

本处理采用 MS 培养基, 用以下两种方法保存:

D-1: 当各品种试管苗长至 3~5 cm, 根长约 1~2 cm 时将试管放入冰箱(4℃)下保存。

D-2: 当各品种试管苗长至 4~5 cm, 根长约 2~3 cm 将试管苗埋入培养基中, 只留两个叶片在上面, 置入冰箱(4℃)下保存。

1.2.3 高渗透压保存

通过添加甘露醇, 提高培养基渗透压, 影响培养物的吸收作用来进行试管苗保存。所用培养基类型如表 1。

表 1 高渗透压保存培养基

Table 1 Permeable regulator culture media used for preservation

编 号 Code	培养基配方 Culture medium
S-1	MS + 甘露醇 0.01%
S-2	MS + 甘露醇 0.1%
S-3	MS + 甘露醇 1%
S-4	MS + 甘露醇 2%
S-5	MS + 甘露醇 4%
S-6	MS + 甘露醇 3% + 6-BA 0.5 mg·L ⁻¹

注: 每升培养基中食用白糖含量 3%, 琼脂 0.45%, pH=5.8。

Note: Whit sugar 3% and agar 0.45% were included in 1 L medium, pH=5.8.

1.2.4 抑制生长保存

通过添加外援生长抑制剂比久(B₉)来延缓培养物的生长来进行试管苗保存, 所用培养基类型如表 2。

1.2.5 微型薯诱导保存

微型薯诱导在液体培养基中进行, 每个三角瓶接 6 个相同长度约 1 cm、且带一个叶片的茎段, 接种后先在光照条件下培养 7 d, 促其生根, 后采用暗培养诱导生薯。培养基类型见表 3。

表 2 生长抑制剂培养基

Table 2 Growth inhibitor culture media used for preservation

编 号 Code	培养基配方 Culture medium
Y-1	MS + B ₉ 6 mg·L ⁻¹
Y-2	MS + B ₉ 30 mg·L ⁻¹
Y-3	MS + B ₉ 50 mg·L ⁻¹

表 3 微型薯诱导培养基

Table 3 Culture media used for inducing microtuber

编 号 Code	培养基配方 Culture medium
W-1	MS + 6-BA 5mg·L ⁻¹ + CCC 250mg·L ⁻¹
W-2	MS + 6-BA 5mg·L ⁻¹ + CCC 500mg·L ⁻¹
W-3	MS + 6-BA 5mg·L ⁻¹ + CCC 1000mg·L ⁻¹

注: 每升培养基中食用白糖 8%, pH= 5.8

Note: White sugar 8% was included in 1 L medium, pH = 5.8

2 结果与分析

2.1 一般保存对种质资源保存的影响

试验结果表明, 在常温下用 MS 培养基保存试管苗, 时间一般为 2~3 个月, 且试管苗生长健壮。

2.2 低温对种质资源保存的影响

试验结果表明, D-1 处理方法下的试管苗在放入冰箱一个月时茎段无明显生长, 两个月后根长 4~7 cm, 茎段仍无明显生长, 茎叶淡黄色, 苗弱, 可保存 8~10 个月, 在培养后期有 25% 的品种会有试管薯形成, 每支试管接 1 个薯。D-2 处理方法下的试管苗在放入冰箱 20 d 后茎段明显伸长, 根部变化不大, 后期茎段生长, 茎叶也为淡黄色, 可以保存 8~10 个月, 在培养后期也会有试管薯形成。两种方法的试管苗在冰箱中保存一定时间后拿出, 先在常温避光处放置 1~2 d 后, 再置于自然光照下培养, 6 d 后茎叶转绿, 生长正常。

2.3 高渗透压调节剂对种质资源保存的影响

由表 4 看出, 在 MS 培养基基础上单纯添加甘露醇可以明显抑制试管苗的生长。试管苗在 S-1、S-2 培养基之间无明显差异, 保存时间为 8 个月, 30% 有试管薯形成, 且苗茎部粗壮, 叶绿, 生长旺盛。试管苗在 S-3, S-4 培养基之间无明显差异, 保存时间为 10 个月, 但这两种浓度下的苗分枝多, 茎纤细, 叶片小, 根少, 到 8 个月时部分试管苗长至试管 2/3 处, 但苗下端靠近培养基处的茎易发生

枯萎，此时应及时将试管苗转移至 MS 培养基上。S-5 培养基中的试管苗分枝多，生长缓慢，但也容易出现苗下端靠近培养基处的茎易发生枯萎，阻断营养吸收，这可能是甘露醇浓度较大，渗透压过大所致，此培养基可以保存 10 个月。试管苗在 S-6 培养基中生长缓慢，保存时间可达 1 年之久，但苗在早期易出现畸形，形成试管薯，分枝多，这与郝文胜^[2]等人的研究结果相同。

表 4 高渗透压调节剂对试管苗保存的影响

Table 4 Effect of permeable regulator on preservation of the plantlet in vitro

编 号 Code	试管苗生长情况及保存时间 Growth and the preservation time of the plantlet in vitro
S-1	苗粗壮，叶片大，生长旺盛，可保存 8 个月。
S-2	苗粗壮，叶片大，生长旺盛，可保存 8 个月。
S-3	苗分枝多，茎纤细，叶片小，保存 10 个月。
S-4	苗分枝多，茎纤细，下部易枯萎，叶片小，保存 10 个月。
S-5	苗分枝多，生长缓慢，保存 10 个月。
S-6	苗畸形，分枝多，早期有试管薯形成，保存 1 年。

2.4 生长抑制剂对种质资源保存的影响

由表 5 可以看出，使用生长抑制剂比久(B₉)，试管苗生长均健壮，培养初期无分枝，枯萎等现象，且叶片大而绿，茎粗，有效茎段多。在培养后期部分品种也有试管薯形成，供试材料均能有效保存。Y-1 培养基可保存 2~3 个月，Y-2 培养基可保存半年，Y-3 培养基保存 8~9 个月。

表 5 生长抑制剂对试管苗保存的影响

Table 5 Effect of growth inhibitor on the preservation of the plantlet in vitro

编 号 Code	试管苗生长情况及保存时间 Growth and the preservation time of the plantlet in vitro
Y-1	茎粗壮，叶片大，生长旺盛，可保存 2~3 个月。
Y-2	茎粗壮，有效茎段多，叶片大，生长旺盛，可保存 6 个月。
Y-3	茎粗壮，有效茎段多，叶片大，生长旺盛，可保存 8~9 个月。

2.5 微型薯诱导对种质资源保存的影响

由表 6 可以看出，3 种培养基在 3 个月后均不同程度地诱导出微型薯，但试管苗均无明显生长，茎短，底部叶片黄，诱导出的微型薯较小，这可能是茎段接种后光照时间较短所致。W-1 培养基诱导结薯率为 50%；W-2 培养基诱导率为 80%；W-3 培养基诱导率为 15%，部分苗在培养后期死

表 6 微型薯诱导对种质资源保存的影响

Table 6 Effect of microtuber induction on preservation of the plantlet in vitro

编 号 Code	试管苗生长情况及微型薯保存时间 Growth of the plantlet and the preservation time of microtuber
W-1	苗生长缓慢，叶黄绿，3 个月后有微型薯形成，结薯率 50%，保存 1 年。
W-2	苗生长缓慢，叶黄绿，3 个月后有微型薯形成，结薯率 80%，保存 1 年。
W-3	苗生长特别缓慢，叶黄，部分在生长后期死亡，结薯率 15%，保存 1 年。

亡，无结薯。诱导成的试管薯在常温下现已保存了 1 年，其保存时间还可以更长。

3 讨 论

脱毒植株的保存试管苗在离体条件下多次继代，特别是长期生长在高激素含量的培养基中，有可能引起芽变，同时多次转瓶容易造成污染。为了延长脱毒后试管苗的使用寿命，可分出部分苗转入保存用培养基。例如黑龙江省农业科学院克山分院从 20 世纪 80 年代初，就利用茎尖组织培养技术逐渐将资源材料转育成试管苗保存^[3]。通过低温保存以及在 MS 培养基中添加适量甘露醇、矮壮素等，抑制保存材料的生长和减少营养消耗来延长继代培养时间。从本试验的保存效果上来看，低温保存不会造成芽变，能产生微型薯且保存时间较长，是一种经济有效的保存方法；在 MS 培养基基础上添加比久(B₉) 50 mg·L⁻¹ 可以使试管苗健壮，不影响苗的质量，保存效果最好；添加渗透调节物质甘露醇虽能达到一定的保存效果，但由于其价格较贵，且在培养过程中易发生苗下端枯萎现象，可能会导致部分试管苗死亡。微型薯诱导如果用于原原种生产，则是一种便捷有效的培养方法。提倡使用低温保存结合在 MS 培养基基础上添加比久的保存方法，既达到长久保存的效果，又可确保试管苗健壮，节省成本。

[参 考 文 献]

- [1] 李宪章, 李明福, 侯林林. 马铃薯无病毒苗的获得与病毒检测[J]. 植物学通报, 1997, 14 (2): 52- 54.
- [2] 郝文胜, 赵永秀, 赵青辉, 等. 我国马铃薯茎尖培养脱毒和脱毒试管苗微繁殖研究进展[J]. 内蒙古农业科技(内蒙古农业职业教育专辑), 2001: 27-33.
- [3] 王仁贵, 刘丽华. 中国马铃薯种质资源研究现状[J]. 作物品种资源, 1995(3): 20-22.