

中图分类号: S532 文献标识码: A 文章编号: 1672-3635(2010)04-0196-03

# 不同处理方法对马铃薯茎尖成苗率的影响

于仙萍<sup>1</sup>, 陈 炜<sup>2</sup>, 卞春松<sup>2</sup>, 金黎平<sup>2\*</sup>

( 1. 宁夏泾源县农业技术推广服务中心, 宁夏 泾源 756400; 2. 中国农业科学院蔬菜花卉研究所, 北京 100081 )

**摘 要:** 试验以带马铃薯病毒的 N88 为材料, 分别在 40℃/25℃(4 h/20 h) 的变温环境中, 培养 2、3、4 周处理后茎尖剥离; 以 N88 和 D575 试管苗为材料, 在加入 0, 20, 30 mg·L<sup>-1</sup> 病毒唑的培养基中处理 40 d 后茎尖剥离。茎尖培养基为 MS + 0.05 mg·L<sup>-1</sup> NAA + 0.1 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA + 0.1 mg·L<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub> + 4 g·L<sup>-1</sup> 琼脂粉 + 30 g·L<sup>-1</sup> 白砂糖的改良固体培养基, 30 d 后开始调查成苗率, 每隔 10 d 调查 1 次, 直到 60 d, 统计茎尖成苗率。结果表明: 2 周变温处理的茎尖成苗率和对照接近, 但脱毒率有所提高; 4 周变温处理剥离茎尖成苗率最低, 60 d 成苗率仅为 15%, 脱毒率为 100%; 病毒唑浓度对不同材料的茎尖成苗率影响不同, 其中 D575 经过 20 mg·L<sup>-1</sup> 病毒唑处理, 茎尖培养 60 d 后成苗率最高达到 83.3%, PVS 脱除率为 40%; 材料 N88 在加入 20 mg·L<sup>-1</sup> 和 30 mg·L<sup>-1</sup> 浓度病毒唑的培养基中培养 40 d 后茎尖剥离, 60 d 成苗率分别为 40.0% 和 41.7%, PVY、PLRV 的脱毒率为 100%。

**关键词:** 变温处理; 病毒唑处理; 茎尖剥离; 成苗率

## Influence of Various Treatments on Plantlet Regeneration Percentage of Shoot Tip Culture

YU Xianping<sup>1</sup>, CHEN Wei<sup>2</sup>, BIAN Chunsong<sup>2</sup>, JIN Liping<sup>2</sup>( 1. Jingyuan Service Center for Popularizing Agricultural Technique, Jingyuan, Ningxia 756400, China;  
2. The Institute of Vegetables and Flowers Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China )

**Abstract:** Plantlets in vitro of the potato clone N88 were treated with the alternating temperature 40℃/25℃ (4 h / 20 h) for 2, 3 and 4 weeks before shoot tips were excised. Plantlets in vitro of the potato clones N 88 and D 575 were cultured in

收稿日期: 2010-04-20

作者简介: 于仙萍(1971-), 女, 高级农艺师, 主要从事马铃薯微型种薯生产及栽培技术研究。

\* 通信作者: 金黎平, 研究员, 从事马铃薯遗传育种研究, E-mail: jinlp@mail.caas.net.cn。

反应的发生需要满足 3 个条件: 酚类物质、多酚氧化酶和氧<sup>[11-12]</sup>。在本文试验条件下, O<sub>2</sub> 对酶促褐变的影响是一致的, 由于不同品种马铃薯块茎的酚类物质含量和多酚氧化酶活性不同, 因此经高速组织捣碎机匀浆后, 褐变程度不同, 本文提到的方法可以作为鲜切型马铃薯和榨汁型马铃薯筛选的辅助方法。

### [ 参 考 文 献 ]

- [ 1 ] 徐坤. 马铃薯食品资源的开发利用[J]. 西昌农业高等专科学校学报, 2002, 2(2): 47-51.
- [ 2 ] 陈芳, 赵景文, 胡小松. 我国马铃薯加工业的现状、问题及发展对策[J]. 中国农业科技导报, 2002, 4(2): 66-68.
- [ 3 ] 宋国安. 马铃薯的营养价值及开发利用前景[J]. 河北工业科技, 2004, 21(4): 55-58.
- [ 4 ] 胡小松, 李积宏, 刘文英. 马铃薯丝加工中的褐变因素及其控制[J]. 食品科学, 1994, 17(5): 35-42.
- [ 5 ] 彭丽桃, 蒋跃明. 适度加工果蔬褐变控制研究进展[J]. 亚热带植物科学, 2003, 32(4): 72-76.
- [ 6 ] 李全宏, 赵雅松, 蔡同一, 等. 鲜切马铃薯褐变抑制效果研究[J]. 食品科学, 2005, 26(9): 92-92.
- [ 7 ] 杜传来, 郁志芳, 王佳红, 等. 可食性涂膜包装对鲜切马铃薯褐变抑制的研究[J]. 包装与食品机械, 2004, 22(6): 9-12.
- [ 8 ] 曾顺德, 张迎君, 漆巨容. 鲜切马铃薯丝褐变抑制剂筛选[J]. 食品工业科技, 2006, 27(2): 90-91.
- [ 9 ] 谢岩黎, 李富丽. 鲜切马铃薯褐变控制方法的研究[J]. 江苏调味品, 2008, 25(5): 13-15.
- [ 10 ] 吴文标, 盛德贤, 吕世安, 等. 马铃薯酚类化合物的研究[J]. 中国马铃薯, 2001, 15(3): 158-161.
- [ 11 ] 王艳颖, 胡文忠, 庞坤, 等. 机械伤害引起果蔬褐变机理的研究进展[J]. 食品工业科技, 2007, 28(11): 230-233.
- [ 12 ] 张学杰, 屈冬玉, 金黎平. 马铃薯酶褐变机理及其控制途径[J]. 中国马铃薯, 2000, 14(3): 158-161.

medium supplemented with 0, 20, 30 mg·L<sup>-1</sup> virazole for 40 days, and then the shoot tips were removed. Shoot tips were cultured in the modified solid MS medium + 0.05 mg·L<sup>-1</sup> NAA + 0.1 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA + 0.1 mg·L<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub> + 4 g·L<sup>-1</sup> agar + 30 g·L<sup>-1</sup> white sugar, and the plantlet regeneration percentage was recorded 30, 40, 50 and 60 days after culture. The regeneration percentage for alternating temperature treatment for 2 weeks was close to that of the control, but the percentage of plantlets free of viruses was increased. The treatment of alternating temperature for 4 weeks had the lowest plantlet regeneration, only 15% when the shoot tips were culture for 60 days, but all the plantlets regenerated were virus free. The concentration of virazole had different effects on regeneration percentage of different clones. D575, after the treatment with 20 mg·L<sup>-1</sup> virazole, gave 83.3% best regeneration, when cultured for 60 days, and 40% of it was PVS free. For N88, the regeneration percentage was 40.0% and 41.7%, respectively, when cultured in medium supplied with 20 mg·L<sup>-1</sup> and 30 mg·L<sup>-1</sup> virazole for 60 days and all the plantlets regenerated were free of PVY and PLRV.

**Key Words:** alternating temperature treatment; virazole; shoot tip; regeneration plantlet

马铃薯脱毒技术的应用与推广, 解决了长期以来困扰马铃薯生产中的病毒性退化问题, 据统计马铃薯脱毒种薯增产效果显著, 一般增产幅度可达30%~50%<sup>[1]</sup>。马铃薯茎尖剥离技术是获得脱毒种薯目前最直接、最有效的途径, 但是马铃薯块茎通过茎尖剥离后, 有些病毒不能一次脱除, 要对试管苗进行再次茎尖剥离, 在此项技术中, 马铃薯茎尖成苗率高低是茎尖剥离技术的关键。对马铃薯试管苗进行热处理和病毒唑处理, 结合茎尖培养可达到较高的脱毒率, 但就其对茎尖成苗率影响方面的研究较少。本试验旨在对带病毒的马铃薯试管苗进行热处理和病毒唑处理, 再剥离茎尖进行组织培养, 研究不同处理方法对马铃薯茎尖成苗率的影响, 为获得较多数量的脱毒马铃薯苗提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

本试验于2009年3~6月在中国农业科学院蔬菜花卉研究所马铃薯课题组的实验室进行。试验材料为中国农科院蔬菜花卉研究所育成的品系, 代号为N88和D575。经ELISA检测, N88带有PVY和PLRV病毒, D575带PVS病毒。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 热处理 + 茎尖剥离

本试验采用钝化病毒的热处理方法对试验材料N88试管苗进行不同时间段的变温处理。热处理设计为40℃/25℃(4 h/20 h)的变温, 时间段分为2、3、4周, 变温处理后进行茎尖剥离, 每个处理剥离60个茎尖, 统计不同处理不同培养时间段的茎尖成苗率。

#### 1.2.2 病毒唑处理 + 茎尖剥离

试验材料N88、D575的试管苗分别接种在普通MS培养基和加入20 mg·L<sup>-1</sup>、30 mg·L<sup>-1</sup>病毒唑的MS培养基中, 培养40 d后茎尖剥离。每个处理剥离60个茎尖, 统计不同处理的茎尖成苗率。

### 1.3 茎尖剥离及组织培养

#### 1.3.1 茎尖剥离

经过不同处理的试管苗茎尖, 在30~40倍解剖镜下进行分生组织剥离, 切取长度为0.1~0.3 mm带有1~2个叶原基的茎尖, 立即接种到茎尖培养基的试管中。

#### 1.3.2 茎尖培养

茎尖培养基为MS + 0.05 mg·L<sup>-1</sup> NAA + 0.1 mg·L<sup>-1</sup> 6-BA + 0.1 mg·L<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub> + 4 g·L<sup>-1</sup> 琼脂粉 + 30 g·L<sup>-1</sup> 白砂糖的改良固体培养基, 茎尖分生组织在20~23℃, 1 800~2 000 lx光照强度, 每天16 h光照下诱导培养。30 d后开始调查成苗率, 每隔10 d调查1次, 直到60 d。

成活茎尖长出带有两个以上叶片的小植株记做成苗, 成苗率 = 成苗株数 / 成活茎尖个数(茎尖分生组织发育为可见绿点谓之成活)。

## 2 结果与分析

### 2.1 热处理对茎尖成苗率的影响

通过对试验的观察记载, 热处理对试管苗影响很大, 37℃恒温处理2周后试管苗基本枯死, 所以带马铃薯病毒的试管苗一般不能进行37℃以上的恒温处理。试管苗40℃/25℃(4 h/20 h)变温处理时间的长短对剥离茎尖的成苗率有较大影响, 随着处理时间加长, 茎尖也受到损伤。4周变温处理后试管苗枯死50%以上, 剥离茎尖成苗率也随之降低。

从表1可以看出,不同热处理时间对茎尖成苗率影响较大,其中不进行热处理和2周变温热处理剥离茎尖成苗率较高,两者数据很接近,30 d后调查茎尖成苗率分别为26.7%和23.3%,60 d成苗率分别为61.7%和60.0%;4周变温处理后剥离茎尖成苗率最低,茎尖分生组织培养30 d和40 d均不能成苗,50 d成苗率仅为5.0%,60 d为15.0%。

表1 不同热处理对 N88 茎尖成苗率的影响 (%)  
Table 1 Plantlet regeneration percentage of shoot tip culture of the clone N88 after the heat treatment of alternating temperature 40°C/25°C (4 h/20 h)

热处理时间 (Week) Weeks for heat treatment	培养天数(d) Days after shoot tip culture			
	30	40	50	60
0	26.7	40.0	48.3	61.7
2	23.3	38.3	46.7	60.0
3	0	3.3	10.0	20.0
4	0	0	5.0	15.0

## 2.2 病毒唑处理对茎尖成苗率的影响

从表2可以看出,N88材料不经过病毒唑处理直接茎尖剥离,成苗率最高,60 d成苗率达到61.7%;经过不同浓度病毒唑处理的茎尖成苗率在各时间段都很接近,30 d均为5.0%,而60 d为40%和41.7%。D575材料不同浓度病毒唑处理对茎尖成苗率影响较大,未经病毒唑处理的茎尖成苗率最低,60 d仅为20%;20 mg·L<sup>-1</sup>病毒唑处理40 d后茎尖剥离成苗率很高,为63.3%,30 d成苗率为56.7%,60 d达到83.3%。

表2 不同浓度病毒唑处理对茎尖成苗率的影响  
Table 2 Influence of various levels of virazole on plantlet regeneration percentage of shoot tip culture

试验材料 Clone	处理浓度(mg·L <sup>-1</sup> ) Concentration	茎尖成苗率(%) Plantlet regeneration of shoot tip culture			
		30 d	40 d	50 d	60 d
N88	0	26.7	40.0	48.3	61.7
	20	5.0	25.0	35.0	40.0
	30	5.0	28.3	38.3	41.7
D575	0	0	16.7	18.3	20.0
	20	56.7	63.3	76.7	83.3
	30	16.7	30.0	43.3	51.7

## 3 讨论

病毒唑处理后,剥离茎尖能获得较高的茎尖成苗率,是由于病毒唑处理过程中对试管苗培养影响小,茎尖没有受到损伤。对于试验材料D575经过20 mg·L<sup>-1</sup>病毒唑处理40 d后的茎尖成苗率明显高于对照,有待进一步的试验研究。试验材料不同,病毒唑处理后剥离茎尖成苗率有一定的差异,材料D575在不同的培养阶段茎尖成苗率都高于材料N88。近年来,更多的研究是将某些病毒抑制剂加入培养基中,以提高茎尖脱毒效果。

同一材料不同的处理方法对茎尖成苗率的影响较大,材料N88经过不同浓度病毒唑处理剥离茎尖成苗率低于2周热处理,但相对于3、4周变温处理的茎尖成苗率有明显的提高。

不同处理剥离茎尖成苗后经ELISA检测,材料N88对照(0周)茎尖剥离PVY脱毒率为60%,PLRV脱毒率为70%,同时脱除PVY、PLRV的概率为30%;N88经过2周变温处理后茎尖剥离PVY、PLRV的脱毒率均为93.3%,而同时脱除PVY、PLRV的概率为86.6%;N88经过3、4周变温处理的剥离茎尖PVY、PLRV脱毒率为100%。N88材料在加入20 mg·L<sup>-1</sup>、30 mg·L<sup>-1</sup>病毒唑的培养基中培养40 d后茎尖剥离,PVY、PLRV的脱毒率为100%;D575材料经过20 mg·L<sup>-1</sup>、30 mg·L<sup>-1</sup>的病毒唑处理后茎尖剥离,PVS的脱毒率均为40%,而没有经过病毒唑处理直接茎尖剥离PVS脱毒率为0。Wambugu等<sup>[2]</sup>在培养基中加入20 mg·L<sup>-1</sup>病毒唑,经5个月培养的3~4 mm长的茎尖,使Norchip品种脱除了89% PVY、90% PVS,说明带毒试管苗在加入病毒唑培养基中培养后再进行茎尖剥离可以提高PVY脱毒率,本试验PVY病毒的脱毒效果与Wambugu等的试验结果相接近,病毒唑对马铃薯其它病毒的影响情况需进一步的试验研究。

## [ 参 考 文 献 ]

- [1] 马力. 黑龙江省西部马铃薯脱毒、快繁、保种新技术[J]. 中国马铃薯, 2009, 23(1): 44-45.
- [2] Wambugu F M, Seor G A, Gudmestad N C. Eradication of potato virus Y and S from potato by chemotherapy of cultured axillary bud tips [J]. American Potato Journal, 1985, 62: 667-672.