

中图分类号: S532 文献标识码: A 文章编号: 1672-3635(2009)02-0087-03

PP₃₃₃对马铃薯试管叶片与茎段愈伤组织诱导与分化的影响

黄雪丽¹, 潘庆明^{1,2}, 倪 苏^{1*}, 王西瑶¹, 刘 帆¹

(1. 四川农业大学农学院, 四川 雅安 625014; 2. 广西桂林市宏田生化有限责任公司, 广西 桂林 541300)

摘 要:以马铃薯试管叶片和茎段为外植体, 研究不同浓度 PP₃₃₃ 对愈伤组织诱导及分化的影响效应, 结果表明: 在诱导培养基中添加 0.01 mg·L⁻¹ PP₃₃₃ 可使叶片和茎段均形成较优质的愈伤组织, 且茎段愈伤组织芽和根的分化率达到最高, 分别为 22.8% 和 14.8%; 对叶片诱导愈伤组织而言, 各 PP₃₃₃ 浓度处理均无芽的分化, 而随浓度的增加, 根的分化也逐渐受到抑制。

关键词:马铃薯; PP₃₃₃; 愈伤组织; 根芽分化

马铃薯(*Solanum tuberosum* L.)在我国农业生产中具有相当重要的地位。近年来, 马铃薯组织培养工作在茎尖脱毒、快繁、试管薯的诱导等方面有了很大的发展, 关于愈伤组织诱导与分化的研究相对较少^[1-3]。

PP₃₃₃(多效唑, 又名 Paclobutrazol, 氯丁唑)是一种高效低毒的植物生长调节剂, 可使植株根系发达, 植株矮化, 茎秆粗壮, 促进分枝, 增穗增粒和抗逆等^[4], 在马铃薯生产中应用较为广泛。在关于 PP₃₃₃ 在愈伤组织的诱导与分化研究中, 除玉米^[5]、水稻^[6]等作物上有所报道外, 马铃薯在该方面的研究仍未见报道。本试验通过研究不同浓度 PP₃₃₃ 对马铃薯叶片与茎段愈伤组织诱导与分化的影响, 探讨适合叶片和茎段愈伤组织诱导和分化的最佳 PP₃₃₃ 浓度, 以期为马铃薯快组织培养及遗传转化等提供技术参考。

1 材料与方法

1.1 材料

马铃薯品系 22-2 试管苗由四川省农科院作物

收稿日期: 2009-01-02

基金项目: 四川农业大学科技创新基金项目(1315); 四川省科技厅马铃薯优质高产关键技术研究产业化示范项目(05N G001-021-2)。

作者简介: 黄雪丽(1983-), 女, 硕士研究生, 主要从事植物组织培养研究。

* 通讯作者: E-mail: ns13@163.com

所何卫研究员提供, 四川农业大学马铃薯研究与开发中心脱毒培育。

1.2 试验方法

选取苗龄 30 d 的马铃薯无菌试管苗, 剪取 0.5 cm 茎段及 0.5 cm × 0.5 cm 的叶片(叶片以背面接种于培养基上的接种方式)分别接种于诱导分化培养基中。

以 MS+6-BA 1.5 mg·L⁻¹+NAA 0.4 mg·L⁻¹+ 2, 4-D 0.2 mg·L⁻¹+30 g·L⁻¹ 蔗糖+7.5 g·L⁻¹ 琼脂为对照, 在其诱导分化培养基中分别添加 0.01、0.1、1.0、10 mg·L⁻¹ 的 PP₃₃₃, pH 5.8, 进行诱导培养。每个处理浓度的培养基各接种 12 瓶, 每瓶接种 5 块叶片或茎段。

于 25 d 后随机抽取 6 瓶统计愈伤组织诱导率及愈伤组织的形成情况, 50 d 后将剩余 6 瓶统计愈伤组织分化率。

$$\text{愈伤组织诱导率} = \frac{\text{产生愈伤的外植体数}}{\text{接种外植体数}} \times 100\%$$

$$\text{愈伤组织分化率} = \frac{\text{分化芽的愈伤块数}}{\text{总愈伤块数}} \times 100\%$$

1.3 培养条件

接种叶片及茎段首先在黑暗条件下进行暗培养, 7 d 后转入光照培养, 光照强度为 2 000~3 000 lx, 时间为 14 h·d⁻¹, 培养温度为(23±2)℃。

2 结果与分析

2.1 不同浓度 PP₃₃₃ 对叶片及茎段愈伤组织诱导的影响

叶片接种在分化培养基 3 d 后, 叶片中部隆起, 仅切口边缘与培养基接触, 7 d 后叶缘卷曲并开始伤口处出现膨胀现象, 14 d 后愈伤组织不断增长并形成无固定结构的细胞团; 茎段在 7 d 后大多也开始从韧皮部长出愈伤组织, 14 d 后便开始长成 2 mm 大小的愈伤组织团块。各外植体培养 25 d 后统计结果见表 1。

在附加低浓度(0.01~1.0 mg·L⁻¹)PP₃₃₃ 的诱导培养基中, 愈伤诱导率均为 100%, 而高浓度的 PP₃₃₃ (10 mg·L⁻¹)抑制愈伤组织诱导, 其叶片愈伤诱导率仅为 13.3%, 茎段愈伤诱导率为 16.7%。

从愈伤组织的质地、颜色和量来看, 附加 0.01~1.0 mg·L⁻¹ PP₃₃₃ 的诱导培养基中, 叶片和茎段愈伤量多且结构较致密, 颜色逐渐转绿, 当 PP₃₃₃ 浓度达到 10 mg·L⁻¹ 时, 愈伤量极少且呈水浸状, 颜色为褐色(或黄褐色)。

本研究还观察到高浓度 PP₃₃₃(10 mg·L⁻¹)处理的叶片叶色有变紫的现象。

表 1 不同浓度 PP₃₃₃ 对叶片与茎段愈伤诱导的影响

PP ₃₃₃ 浓度(mg·L ⁻¹)	接种数(个)	叶片愈伤诱导率(%)	茎段愈伤诱导率(%)	愈伤量	愈伤组织质地与颜色
0	30	100	100	++++	较疏松、米白色
0.01	30	100	100	++++	较致密、米绿色
0.10	30	100	100	++++	较致密、米绿色
1.00	30	100	100	++++	致密、绿色
10.00	30	13.3	16.7	+	水浸状、褐色

2.2 不同浓度 PP₃₃₃ 对叶片及茎段不定芽与不定根分化的影响

在相同培养基上继续培养至 50 d 后, 处理与否的叶片均无芽的分化, 根的分化由表 2 可知, 在添加 0.01 mg·L⁻¹ PP₃₃₃ 的培养基中, 分化率最高为 93.1%, 与对照 93.9% 的分化率无显著差异, 但其分化的根比对照粗壮, PP₃₃₃ 浓度为 0.1 mg·L⁻¹ 和 1.0 mg·L⁻¹ 时, 其根的分化率分别为 35.3% 和 28.8%, 显著和极显著地抑制根的分化, 且已分化

的根粗短畸形, 尤以添加 1.0 mg·L⁻¹ PP₃₃₃ 处理的表现明显。当 PP₃₃₃ 浓度高达 10 mg·L⁻¹ 时, 完全抑制叶片根的分化。在茎段分化培养基中, 低浓度处理有利于芽的分化, 添加 0.01 mg·L⁻¹ PP₃₃₃ 的培养基中芽的分化率最高, 达到 22.8%, 其随后分化的根也最高, 达 14.8%, 显著高于对照, 其芽的分化率比对照高 6%, 根的分化率比对照高 8.6%。附加 PP₃₃₃ 0.1 mg·L⁻¹ 时, 其芽和根分化率仅为 2.2% 和 5.2%, 抑制极显著。

表 2 不同浓度 PP₃₃₃ 对叶片与茎段愈伤分化的影响

PP ₃₃₃ 浓度(mg·L ⁻¹)	叶片外植体			茎段外植体		
	愈伤组织数	芽分化率(%)	根分化率(%)	愈伤组织数	芽分化率(%)	根分化率(%)
0	30	0	93.9 ^{aA}	30	16.8 ^{bB}	6.2 ^{bB}
0.01	30	0	93.1 ^{aA}	30	22.8 ^{aA}	14.8 ^{aA}
0.10	30	0	35.3 ^{bB}	30	2.2 ^{cC}	5.2 ^{cC}
1.00	30	0	28.8 ^{cC}	30	0.0 ^{dD}	0.0 ^{dD}
10.00	4	0	0.0 ^{dD}	5	0.0 ^{dD}	0.0 ^{dD}

注: 数据经方差分析后, 用 SSR 法多重比较。小写字母表示在 0.05 水平上差异显著, 大写字母表示在 0.01 水平上差异显著。

3 结论与讨论

3.1 PP₃₃₃对叶片愈伤组织诱导及分化的影响

本试验研究表明,适宜的PP₃₃₃浓度对马铃薯叶片愈伤组织诱导有促进作用,当浓度在0.01~1.0 mg·L⁻¹范围时愈伤组织的诱导效果最佳,而当浓度高达10 mg·L⁻¹时,对愈伤组织的诱导起到一定的抑制作用,这与钱海丰等^[7]在S-3307和PP₃₃₃对高羊茅愈伤组织诱导分化效应中报道的结果一致。而对芽的分化无促进作用,或促进作用极微小以至无法观察得到,对根的分化存在抑制作用,分化出的根粗壮且畸形,且根毛密集,以添加1.0 mg·L⁻¹ PP₃₃₃处理的表现尤为明显,这与李明军等^[8]的报道类似,这可能与PP₃₃₃抑制植物的纵向生长,促进横向生长,促进根部的生长有直接联系,由此我们可以通过PP₃₃₃这种作用得到粗壮,且根毛密集的根系,从而可以提高移栽炼苗的成活率。

3.2 PP₃₃₃对茎段愈伤组织诱导及分化的影响

试验结果可知,添加适宜浓度(0.01~1.0 mg·L⁻¹)的PP₃₃₃提高了愈伤组织诱导率并改善了愈伤组织的质量,过高浓度抑制愈伤的诱导且诱导质量大大降低,当PP₃₃₃浓度达到10 mg·L⁻¹时,愈伤量极少且质量较差,同冯英等^[9]的报道类似。在一定的PP₃₃₃浓度范围内,马铃薯茎段同时有分化芽和根的能力,低浓度的PP₃₃₃分化能力比对照的高,当浓度为0.01 mg·L⁻¹时,最宜于茎段芽和根的同时

分化,随浓度的升高诱导率呈下降趋势,且当浓度超过1 mg·L⁻¹时,根和芽均无分化。

由于该试验仅选用了—个基因型品种,存在一定的局限性,为使该试验体系能系统全面,有必要对多个基因型进行分析,不同基因型叶片及茎段对PP₃₃₃影响表现均可能存在—定的差异。

[参 考 文 献]

- [1] 王萍,王昱,季静. 马铃薯两个基因型不同外植体的组织培养与植株再生[J]. 中国马铃薯, 2006, 20(6): 326-328.
- [2] 卢翠华,秦昕,武小霞,等. 马铃薯极早熟品种东农303再生系统的筛选[J]. 中国马铃薯, 2001, 15(4): 280-281.
- [3] 栾雨时,徐品三,夏秀英,等. 适于马铃薯茎段再生的植物激素配比选择[J]. 中国马铃薯, 2004, 18(3): 143-144.
- [4] 张昌杰,尤爱琴,葛天安,等. 多效唑在农作物生产上使用方法[J]. 上海农业科技, 2005(4): 108.
- [5] 李明军,刘纪华,张嘉宝,等. 多效唑在玉米组织培养中的作用[J]. 作物学报, 1997, 23(6): 759-762.
- [6] 赵成章,戚秀芳,郑康乐,等. 多效唑在水稻试管苗离体调控技术中的应用[J]. 中国水稻科学, 1990, 4(4): 169-174.
- [7] 钱海丰,薛庆中. S-3307和PP₃₃₃对高羊茅愈伤组织诱导分化效应[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 2004, 30(1): 49-52.
- [8] 李明军,徐鑫,陈明霞,等. PP₃₃₃对怀地黄试管苗生长和一些生理指标的影响[J]. 植物生理学通讯, 2005, 41(5): 624.
- [9] 冯英,薛庆中. S-3307对水稻花药愈伤组织诱导、分化及其壮苗的效应[J]. 作物学报, 2001, 27(6): 817-821.

Effects of PP₃₃₃ on Callus Induction and Differentiation from Leaves and Stems of Potato in vitro

Huang Xueli¹, Pan Qingming^{1,2}, Ni Su¹, Wang Xiyao¹, Liu Fan¹

(1. College of Agronomy, Sichuan Agriculture University, Yaan, Sichuan 625014, China;

2. Guangxi Guilin-Hong Tian Biochemical Limited Liability Company, Guilin, Guangxi 541300, China)

Abstract: The potato leaves and stems were used as explants, and different concentrations of PP₃₃₃ added to the medium to study their effects on callus induction and differentiation. The results showed that in induction medium supplemented with 0.01 mg·L⁻¹ PP₃₃₃, callus was generated of high quality from leaves and stems, with the differentiation percentage of shoots and roots from stem derived callus being 22.8% and 14.8%, respectively. For leaf derived callus, no shoot was produced for all PP₃₃₃ treatments, and root differentiation was inhibited with increase in PP₃₃₃ concentration

Key Words: potato; PP₃₃₃; callus; root and shoot differentiation