中图分类号: S532 文献标识码: A 文章编号: 1672-3635(2008)05-0269-05

不同水源及培养瓶对马铃薯试管苗和试管薯的影响

邱彩玲

(黑龙江省农业科学院植物脱毒苗木研究所,黑龙江省马铃薯工程技术研究中心,黑龙江 哈尔滨 150086)

摘 要:试管薯体积小,不耐储藏是试管薯应用的瓶颈。培育健壮脱毒马铃薯试管苗是生产高质量试管薯的前提。以脱毒马铃薯试管苗克新 13 和荷兰 15 为材料,通过对不同水源(自来水和蒸馏水) 和培养瓶(透气和不透气) 生产的试管苗和试管薯的比较,得出以下结论:自来水比蒸馏水生产的试管苗健壮,试管薯体积比较大;透气瓶生产的试管薯外观好,无气孔外翻现象,耐储藏。

关键词:马铃薯:水源:培养瓶:试管苗:试管薯

脱毒马铃薯试管苗和试管薯是马铃薯种薯生 产的关键环节,而脱毒马铃薯试管薯体积小,不

收稿日期:2008-08-02

基金项目:黑龙江省科技攻关计划项目(GB07B105);哈尔滨市科技计划项目(2006AA3CN080);2006年黑龙江省农科院科技创新工程项目。

作者简介:邱彩玲(1976-),女,研究实习员,主要从事马铃

薯试管薯生产及试管苗脱毒快繁技术的研究及应用。

耐储藏限制了试管薯的应用。培育健壮的试管苗(母株)是生产高质量试管薯的前提,因此,生产健壮的试管苗和高质量的试管薯(体积大、耐储藏且无病毒和类病毒)是马铃薯种薯生产的重点。试管薯的形成除了与马铃薯基因型这一内因有关外,还受多种外界因素影响,如温度、光周期、植物生长物质、碳源等。有关试管薯诱导机理的研究很多,如赤霉素[1-3]、生长素[2.4-5]、细胞分裂素[4-6]、植物生

Correlations of White Sugar Concentration with in vitro Plantlet Vigor and Microtuber Yield of Potato

Qiu Cailing, Su Feifei, Wang Shaopeng, Li Yong, Liu Shangwu, Gao Yunfei, Lu Diangiu

(Virus-free Seedling Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Heilongjiang Potato Engineering and Technology Research Center, Harbin, Heilongjiang 150086, China)

Abstract: Robust plantlets in vitro and large microtuber size are important factors in potato seed production system. In this research, various white sugar levels were set in culture medium and data were collected for in vitro plantlet vigor, mean microtuber weight, and microtuber number per container, using two varieties, Zaodabai and Kexin 13, as plant materials. Then, correlations were made among these variables. White sugar concentration was significantly correlated to in vitro plantlet vigor and mean microtuber weight. Robust plantlets in vitro and large microtuber size could be achieved by enhancing white sugar level. For this research, the optimal level of white sugar in medium was 5%~6%. In vitro plantlet vigor was significantly or high significantly correlated to mean microtuber weight, suggesting that robust in vitro plantlets are the base for large microtuter size to be produced.

Key Words: potato; white sugar concentration; in vitro plantlet; vigor; microtuber; correlation

长延缓剂^[7],这些外源诱导剂的作用已研究的比较深入^[8-10],温度^[4, 11]和光照^[12-13]等环境因素作用的研究也很多;基因型及试管苗发育对试管微型薯的诱导效应也有较多报道^[14-15]。另外,碳源对试管薯的影响也有报道^[16-17],虽然水源对试管苗的影响也有报道^[18],但是,水源及培养瓶对试管薯的研究未见报道。因此,本试验主要研究水源对试管薯产量的影响,以及培养瓶对试管薯外观及耐储性的影响,希望对以后的马铃薯试管薯生产具有指导意义。

1 材料与方法

1.1 试验时间与地点

试验时间:于 2007 年 12 月开始进行, 2008 年 8月结束。

试验地点:黑龙江省农业科学院植物脱毒苗木研究所(黑龙江省马铃薯工程技术研究中心)组织培养室。

1.2 试验材料

长势一致的脱毒马铃薯试管苗($Solanum\ tubero-sum\ L$.)克新 13 和荷兰 15;透气瓶(代号为V)和不透气瓶(代号为S);自来水(T)和蒸馏水(D)。

1.3 培养基

适当提高白糖浓度有利于增加试管苗的长势^[19],因此,本试验采用了较高的白糖浓度,有利于壮苗的培养,具体培养基成分如下:

D: MS+50 g·L⁻¹ 白糖+5 mg·L⁻¹ B₉, 蒸馏水配制;

 $T: MS+50 g \cdot L^{-1}$ 白糖+5 $mg \cdot L^{-1} B_9$, 自来水配制;

C: MS+80 g·L⁻¹ 白糖+5 mg·L⁻¹ 6-BA+0.5 g·L⁻¹ CCC, 自来水配制;

D 和 T 为液体壮苗培养基,C 为诱导试管薯培养基,pH 值均为 $5.8\,_{\odot}$

1.4 试管苗长势分级标准

试管苗长势分级标准见表 1。

表 1 长势评分标准

 分数	长势标准	表现
9	非常好	叶色浓绿,茎秆粗壮
8	好	叶色较绿,茎秆较粗
7	较好	叶色一般 , 茎秆一般
6	一般	叶色较淡,茎秆细弱

1.5 壮苗培养

2007 年 12 月 11 日配制上述 D 和 T 培养基,均分装成 20 mL·瓶 $^{-1}$,分别装于透气瓶(使用透气瓶盖)和不透气瓶(使用不透气瓶盖)中,各100 瓶,高温高压灭菌后备用。

在超净工作台上将马铃薯脱毒试管苗去掉茎尖和基部,每瓶接种 5 个茎段,每个品种、每种培养基各接种 50 瓶,置于组织培养室培养。 $16 \text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$ 光照,光强 2 500~3 000 lx,22~23°C,相对湿度为 50%~60%。2008 年 1 月 11 日调查试管苗(母株)长势。

1.6 试管薯诱导及调查

调查完试管苗长势后,配制诱薯培养基 C,高温高压灭菌后备用。在超净工作台中倒掉剩余培养基,转入诱导培养基 C,进行暗培养,24 $h \cdot d^{-1}$ 黑暗,室温 $20\% \pm 2\%$,相对湿度为 $50\% \sim 60\%$,试管薯发育后期调查外观表现,2008 年 5 月 11 日收获试管薯并考种,主要调查粒数/瓶、总粒重/瓶及粒重/个。

1.7 试管薯耐储性分析

试管薯收获后,在自来水下反复冲洗,用滤纸吸干水分,在阴凉处晾干,称重后装于信封中,于4℃冰箱中保存,2008年8月4日调查储存后的试管薯外观,称量储存后的重量,计算水分损失情况。

2 结果与分析

2.1 试管苗长势

自来水配制的培养基与蒸馏水配制的培养基相比,前者培育的试管苗明显优于后者,克新 13 表现达到极显著水平,荷兰 15 表现虽不显著,但是前者培育的试管苗长势好于后者(表 2)。

表 2 克新 13 和荷兰 15 试管苗长势

品 种	处 理		均值	5%显著水平	1%极显著水平
克新 13	不同水源	Т	7.89	a	A
		D	7.11	b	В
	不同容器	S	7.71	a	A
		\mathbf{V}	7.21	a	A
荷兰 15	不同水源	Т	7.70	a	A
		D	7.51	a	A
	不同容器	V	7.75	a	A
		S	7.44	a	A

注:长势评分标准见表 1; V 为透气瓶,S 为不透气瓶;T 为自来水,D 为蒸馏水。

表 2 表明,自来水比蒸馏水含有较多的离子等营养成分,有利于马铃薯试管苗的生长。并且自来水价廉、方便,因此,工厂化生产中用自来水做培养基更加经济、实用,且效果比较好。

不同培养瓶对于两个品种的影响都没有达到显著水平,因此,本试验中的两种培养瓶对试管苗长势的影响没有显著区别。

2.2 产量分析

产量分析结果见表 3。

表 3 克新 13 和荷兰 15 试管薯产量

品种	代号	粒/瓶(个/瓶)	总粒重/瓶(mg)	平均粒重/个(mg)
克新 13	D-V	11.08	1755.38	158.47
	T-V	11.39	1980.39	173.85
	D-S	15.84	2505.47	158.15
	T-S	14.31	2515.77	175.83
荷兰 15	D-V	18.60	1868.13	100.44
	T-V	18.95	2269.68	119.74
	D-S	20.13	1946.19	96.70
	T-S	19.82	2284.40	115.24

注:D-V 代表蒸馏水配制的壮苗培养基,透气瓶培养母株; D-S 代表蒸馏水配制的壮苗培养基,不透气瓶培养母株; T-V 代表自来水配制的壮苗培养基,透气瓶培养母株; T-S 代表自来水配制的壮苗培养基,不透气瓶培养母株。

两个品种生产的试管薯,无论是透气瓶还是不透气瓶,自来水培育的试管苗所生产的试管薯都相对较大,粒数·瓶⁻¹ 相差不多。克新 13 中,T-V 比 D-V 粒数·瓶⁻¹、粒重·瓶⁻¹ 及粒重·个⁻¹ 分别增加 2.84%、12.82%和 9.70%;荷兰 15 中,T-V 比 D-V



图 1 荷兰 15 试管薯外观 注:图 1 和图 2 中,左边为不透气瓶,右边为透气瓶。

总粒重·瓶⁻¹ 及平均粒重·个⁻¹ 分别增加 21.49%和 19.22%,T-S 比 D-S 粒重·瓶⁻¹ 及粒重·个⁻¹ 分别增加17.38%和19.16%(表3)。这主要是由于自来水配制的壮苗培养基培育的试管苗比较健壮,积累了较多的干物质,有利于试管薯的膨大。

2.3 试管薯外观及耐储性

2.3.1 外观

图 1 和图 2 为试管薯生长发育期间(2008 年 2 月28 日)拍的照片。从照片中明显看出,无论是荷兰 15 还是克新 13,透气瓶生产的试管薯表面光滑,气孔少且小,无气孔外翻现象,而不透气瓶生产的试管薯气孔外翻很严重,外观较差。这主要是由于不透气瓶透气性差,导致瓶内湿度相对较大,造成气孔外翻。这种现象与雾培法及水培法生产的马铃薯微型薯气孔外翻现象相似。

图 3 和图 4 是试管薯收获并储存于 4°C冰箱中 85 d 后的照片。可以看出,无论是克新 13 还是荷 兰 15,与透气瓶相比,不透气瓶生产的试管薯经 储存 85 d 后,皱缩程度比较严重,外观品质很差。这主要是由于不透气瓶生产的试管薯气孔外翻严重,水分损失较大、较快造成的。

2.3.2 耐储性

表 4 为试管薯储存前、后的水分损失情况。由表 4 可以看出:不透气瓶生产的试管薯与透气瓶相比,水分散失较快。这与不透气瓶生产的试管薯气孔大且外翻有重要关系。且试管薯本身就比较小,不易保存,因此,更应注意水分的保存。另外,气孔外翻容易感染病菌,导致腐烂,不耐储藏,对试管薯的利用极为不利,应采用合适的培养容器及其他措施加以克服。



图 2 克新 13 试管薯外观





图 3 克新 13 试管薯 4℃储存 85 d 后的外观





图 4 荷兰 15 试管薯 4℃储存 85 d 后的外观

表 4 试管薯水分损失情况

 品种	容器类型	水分损失率(%)
克新 13	透气	57.45
	不透气	63.08
荷兰 15	透气	38.24
	不透气	55.19

3 讨论

与蒸馏水相比,自来水使试管苗叶色浓绿,茎 秆粗壮,长势较好,且生产的试管薯平均粒重及每 瓶总粒重都较高,有利于进一步利用;自来水与蒸 馏水相比,存在着更多的营养成分,如各种矿物质 离子等,有利于试管苗的生长发育及干物质积累, 为试管薯的膨大打下良好的物质基础,有利于试管 薯的生产。另外,由于自来水价廉且使用方便,因 此,生产中适宜使用自来水生产脱毒马铃薯试管苗 及试管薯,一方面能够提高产量和质量,另一方面 能够节约生产成本。

祁彦丰等¹¹⁸的试验结果表明:用雨水(雪水)配制的培养基要优于自来水和蒸馏水,自来水和蒸馏

水没有显著差异。但是,本研究所收集雨水(雪水) 比较困难,对于大量工厂化生产试管苗(试管薯)来 讲不太适用,因此,笔者主张利用方便的自来水进 行工厂化生产更为现实,易于操作,并且成本也不 高。

与不透气瓶相比,透气瓶生产的试管薯气孔小且少,无气孔外翻现象,不易被病菌感染,且水分损失相对较慢,有利于储存,但对增加试管薯的产量性状(粒数/瓶,粒重/瓶和粒重/个)没有显著效果。由于较大的试管薯营养较多,有利于种植^[20],加之试管薯体积小,所以,在储存过程中更应该减少水分散失,确保安全度过休眠期,在播种时有较强的生活力。在生产试管薯时,可以利用透气膜或透气盖来解决气孔大且外翻的问题,以确保生产的试管薯不受到病害的侵染,减少储存期间的水分损失,提高生活力,有利于下一步的利用。

[参考文献]

[1] 胡云海, 蒋先明. 植物激素对微型薯形成的影响[J]. 马铃薯杂

- 志, 1992, 6(1): 14-22.
- [2] 连勇, 刘蕾, 屈冬玉, 等. GA₃、IAA 和 C/N 对马铃薯试管薯匍匐茎及试管薯形成的影响[J]. 马铃薯杂志, 1999, 13(1): 3-6.
- [3] Gao Xiquan, Wang Fang. The obroxide triggers jasmonic acid production to induce potato in vitro [J]. Plant Growth Regulation. 2005, 47: 39–45.
- [4] Zhang Z J, Zhou W J. Effect of jasmonic acid on in vitro explant growth and microtuberization in potato [J]. Biologial Plantarum. 2006, 50(3): 453–456.
- [5] Romanov1 G A, Aksenova1 N P. Effect of indole-3-acetic acid and kinetin on tuberization parameters of different cultivars and transgenic lines of potato in vitro [J]. Plant Growth Regulation, 2000, 32: 245-251.
- [6] 柳俊, 谢从华, 黄大恩, 等. 马铃薯试管块茎形成机制的研究 [J]. 马铃薯杂志, 1995, 9(1): 7-11.
- [7] 仲乃琴. 植物生长调节剂对不同马铃薯茎尖分生组织离体培养的影响[J]. 甘肃农业大学学报, 1999, 34(3): 296–299.
- [8] 帅正彬,郭江洪,杨斌,等.不同培养条件对马铃薯试管薯诱导的影响[J]. 西南农业学报, 2004, 17(2): 212-214.
- [9] Abbot A J, Belcher A R. Potato tuber formation in vitro [M]// Withers L A, Alderson P G. Plant tissue culture and its agricultural application, London: Butterworth, 1986: 113–122.
- [10] 冉毅东, 王蒂, 戴朝曦. 用组培法诱导试管微型薯的研究[J]. 马铃薯杂志, 1991, 5(4): 193-198.

- [11] Hussey G, Stacey N J. Factor affecting the formation of in vitro tubers of potato [J]. Ann Bot, 1984, 53: 565–578.
- [12] Servet Kefi, Alexander D P. Comparison of thidiazuron and two nitroguanidines to kinetin on potato microtuberization in vitro under short and long days [J]. Plant Growth Regul, 2000, 19: 429–436.
- [13] Yu W C, Joyee P J, Cameron D C, et al. Source utilization during potato microtuber growth in bioreactors [R]. Plant Cell Reports. 2000, 19: 407–413.
- [14] 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
- [15] 刘仁祥. 活性炭和无机盐对马铃薯试管薯的诱导效应[J]. 植物生理学通讯. 2001, 37(4): 295-298.
- [16] 崔翠, 何凤发, 王季春, 等. 光照时间和碳源对试管薯形成的影响[J]. 西南农业大学学报, 2001, 23(6): 547-548.
- [17] 刘国权, 张得栋. 不同碳源及用量对马铃薯脱毒试管苗的影响 [J]. 农业生态, 2004, 33(2): 69-70.
- [18] 祁彦丰, 王萃莲, 魏固宁, 等. 用三种不同水质配制培养基对马铃薯脱毒试管苗的影响[J]. 中国马铃薯, 2000(3): 173.
- [19] 辛国斌, 陈远达. 马铃薯脱毒试管苗液体静置培养过程中玻璃 化的预防及壮苗措施[J]. 中国马铃薯, 2003, 17(2): 95–96
- [20] Jimerez E, Perez N, Feria de M, et al. Improved production of potato microtubers using a temporary immersion system [J]. Plant Cell Tissue Org Cult, 1999, 59: 19–23.

Effects of Water Source and Vessel Cap on Potato Plantlet in vitro and Microtuber

Qiu Cailing

(Virus-free Seedling Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Heilongjiang Potato Engineering and Technology Research Center, Harbin, Heilongjiang 150086, China)

Abstract: Microtuber is small in size and difficult to store, and this is a bottleneck for its application to seed potato production. Robust plantlet in vitro is a prerequisite for production of high quality microtuber. The purpose of this research is to investigate the effect of water source (tap water vs. distilled water) and vessel (vessel with airpermeable cap vs. vessel without airpermeable cap) on plantlet in vitro and microtuber using cvs. Kexin 13 and Helan 15. It was concluded that plantlet in vitro was more vigorous and microtuber was larger in size on the medium added with tap water than those with distilled water, and also that microtuber produced in vessel with airpermeable cap had good looking, no open lenticel, and resistance to storage loss compared with vessel without airpermeable cap.

Key Words: potato; water source; vessel; plantlets in vitro; microtuber