

# 脱毒马铃薯试管薯诱导技术探索

宁志珩<sup>1</sup>, 吕国华<sup>2\*</sup>, 贾晓鹰<sup>2</sup>

(1. 石河子大学农学院, 新疆 石河子 832003; 2. 石河子大学设施生物种苗研发中心, 新疆 石河子 832003)

**摘 要:** 从马铃薯试管薯诱导的两个阶段(试管苗培养和试管薯诱导)叙述了现阶段试管薯诱导技术的研究现状及进展。具体包括影响试管薯形成及发育的多种因素, 即品种基因型, 母体的生理状态, 光强, 光周期, 温度, 外源激素, 培养基成分等。最后提出现阶段试管薯诱导技术存在的成本过高, 污染率偏高等问题, 以期得以解决。

**关键词:** 马铃薯 (*Solanum tuberosum* L.); 试管薯; 诱导

自1955年法国莫勒尔(Monel)首次采用茎尖剥离产生无病毒植株和生产脱毒薯应用以来, 世界各国纷纷采用马铃薯茎尖脱毒技术, 诱导形成脱毒试管苗, 进行种薯生产, 提高种薯质量, 进而提高马铃薯产量。马铃薯试管薯(Microtuber)是指在培养瓶内通过诱导, 于试管苗叶腋间形成的直径为2~10 mm大小的块茎。试管薯不仅具有试管苗的所有优点, 而且由于体积小、重量轻, 繁殖期间杜绝了外来病菌的再次侵染, 贮藏、运输、种植方便。马铃薯试管薯的诱导与生产, 对于马铃薯种质保存、种子交换、脱毒苗繁殖等方面都有重要意义。

近些年来, 许多学者对试管薯的形成做了大量研究, 得出了一些重要结果, 这些结果在马铃薯试管薯诱导应用上具有重要指导作用。马铃薯试管薯诱导技术的研究成功, 加快了脱毒马铃薯的繁殖, 缩短种薯生产周期, 为工业化生产提供了切实可行的手段。因此, 科学界预测, 马铃薯生产将会由于试管薯的应用而产生一场彻底变革。一些发达国家如日本、澳大利亚、荷兰、英国、韩国等均将试管薯的研究与开发作为其农业的重大高新技术, 以期取代常规种薯直接用于生产。

离体条件诱导马铃薯试管薯可以分两个阶段: 试管苗培养和试管薯诱导。

收稿日期: 2006-10-10

作者简介: 宁志珩(1981-), 男, 硕士研究生, 从事脱毒马铃薯试管薯诱导技术研究。

\* 通讯作者: E-mail: lghua597@schu.com

## 1 试管苗培养

### 1.1 培养基

#### 1.1.1 基本培养基

多数研究者以MS液体培养基培养基础苗。金顺福等<sup>[1]</sup>以费乌瑞它为对象, 研究以2倍MS液体培养处理的试管苗生长茁壮、浓绿, 加速了干物质累积, 使继代培养周期从3~4周缩短为2~3周。白淑霞等<sup>[2]</sup>研究表明, 对于试管苗的增殖生长, 使用液体培养基优于固体培养基, 且液体培养基用量减半并于缓苗后分次添加使用可明显复壮试管苗, 试管苗有效节数增加(多达7, 8节), 且茎秆粗壮, 叶片肥大, 仅8.5 d的成苗时间极大地提高了健壮试管苗的扩繁率, 植株鲜物质量和干物质量积累分别比对照增加4.15 g和0.27 g, 且极显著高于其它处理, 为试管薯的再诱导和发育构筑了良好的“库”。马伟青等<sup>[3]</sup>研究结果表明, 将MS培养基中氮源调整为 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  2 000 mg·L<sup>-1</sup>,  $\text{KNO}_3$  3 000 mg·L<sup>-1</sup>, 可使植株生长量(鲜重)提高78%, 叶片大小(长度)增加16.9%。增加培养基中钾的含量, 可使植株生长粗壮, 节间缩短。正如一些学者所认为的只有在诱导结薯的前一阶段培育出根系发达、茎干粗壮、叶色浓绿的试管苗, 才能获得高产优质的试管薯。

#### 1.1.2 植物生长物质

祝红芝等<sup>[4]</sup>认为, 基本培养基中加入0.4 mg·L<sup>-1</sup> KT和0.04 mg·L<sup>-1</sup> NAA时马铃薯组培苗生长最好, 鲜重、根重、根数均比对照高。李玉巧等<sup>[5]</sup>认为,

适宜浓度的 PP<sub>333</sub>、GA<sub>3</sub> 和 BA 混合处理试管苗, 可适当抑制苗的向高生长, 增加了苗茎粗度, 有利于培养壮苗。

### 1.1.3 其它物质

徐传朝等<sup>[6]</sup>认为, 在 MS 液体培养基加 0.15% 活性炭对于泰山 1 号可使其苗壮, 平均每节根系增加 0.72~1.21 条, 促进早发根, 早长苗, 是加速生长的好方法。

### 1.2 接种物

多数研究者以单节茎段为接种物。罗玉等<sup>[7]</sup>认为, 结薯与外植体切段的生理年龄和健壮程度有关。生理年龄老的切段比幼的切段易于结薯。连勇<sup>[8]</sup>认为, 诱导试管薯时要注意选择那些生长势强壮, 结薯快而块茎大的茎尖无性系。

### 1.3 苗龄

鄢铮等<sup>[9]</sup>试验表明, 苗龄在马铃薯块茎形成过程中起了相当重要的作用。不同周龄的试管苗, 在经过一段时间的暗处理后, 再施加不同的光处理, 所产生的试管薯数量和重量均呈双峰抛物线型。4 周龄和 6 周龄的东农 303 诱导的试管薯诱导率(薯数/株数)分别为 98% 和 113%, 大薯率分别为 41.38% 和 44.12%, 并显示两周龄各是一个波峰。

### 1.4 辐射

<sup>60</sup>Co - 射线的生物学效应是基于它与细胞中特别是水中的原子和分子互作而产生的自由基, 可对植物细胞中重要组成部分造成伤害。<sup>60</sup>Co - 射线可加速果实软化, 引起细胞壁中间片层结构的破裂, 从而影响原生质体的发育和功能, 如糖-淀粉之间的相互转化。Al-Safadi<sup>[10]</sup>报道了 <sup>60</sup>Co - 射线诱导马铃薯外植体可增加试管薯数量。李会珍<sup>[11]</sup>试验发现, 在辐射剂量为 4 Gy, 辐射强度为 1 kGy·h<sup>-1</sup> 条件下, 大西洋诱导的试管薯每瓶 11.7 个, 每瓶产量 2.87 g, 比对照多 23.2%。

## 2 试管薯诱导

### 2.1 不同基因型

姜秀芳等<sup>[12]</sup>认为, 不同马铃薯品种在同一培养基上诱导效果也不相同, 郑薯 5 号比费乌瑞它诱导结薯早、数量多、薯块大。崔翠等<sup>[13]</sup>认为, 品种不同时, 平均结薯率、平均最大鲜薯重及平均单瓶薯重均差异较大, 认为这与品种基因型有关。何云霞<sup>[14]</sup>也认为, 马铃薯不同品种因其具有品种特性,

对于诱导结薯的反应也有所不同, 反映在结薯数量、结薯整齐度等方面, 所以选择不同试剂、不同浓度处理针对每一个品种都很重要。王春林等<sup>[15]</sup>研究表明, 不同品种试管内结薯能力不同, 在相同的诱导条件下, 早熟品种试管内结薯能力强于晚熟品种, 主要表现在薯重的增加上。

### 2.2 诱导培养基

#### 2.2.1 基本培养基

多数研究者以 MS 为基本培养基。李会珍<sup>[11]</sup>通过正交设计研究表明, 微量元素对马铃薯试管薯产量和品质都有重要影响, 其中锰和铁影响程度最大, 硼、铜和锌影响相对较小。在原 MS 基础上将锰增加 1 倍, 铁和铜增加 0.5 倍可显著提高试管薯产量和品质, 诱导率(薯数/株数)达到 104.3%。张志军<sup>[16]</sup>试验发现, 硝酸氨显著影响试管薯结薯数量, 单瓶结薯鲜重和平均直径; 磷酸二氢钾显著影响试管薯结薯数量, 单瓶结薯鲜重; 硝酸钾则显著影响试管薯单瓶结薯鲜重和平均直径。在原标准 MS 诱导结薯培养基基础上对大量元素成分进行修正, 即氯化钙 660 mg·L<sup>-1</sup>, 硫酸镁 185 mg·L<sup>-1</sup>, 磷酸二氢钾 255 mg·L<sup>-1</sup>。认为培养基中过高浓度的 N 素供应并不利于试管薯产量的提高, 适当提高培养基中 P 和 K 的供应比例有利于提高试管薯产量并且适当提高钙浓度有利于试管薯结薯数量和鲜重的提高。

#### 2.2.2 植物生长物质

有的学者认为, 生长素类激素能增加试管薯的大小, 但对试管薯诱导率(薯数/株数)没有作用, 其作用表现在试管薯的重量上, 可以较大限度地提高产量, 缩短生产周期。连勇等<sup>[17]</sup>认为, 以 GA<sub>3</sub> 0.5 mg·L<sup>-1</sup>+IAA 1 mg·L<sup>-1</sup> 诱导匍匐茎发生 6~9 d, 再转入结薯培养基培养, 单株结薯可达到 1.19 粒。马崇坚等<sup>[18]</sup>认为, 块茎发生前夕, 内源 GA<sub>3</sub> 与 IAA, ABA 及 JA 含量的比值正相关于单株结薯数。而 IAA、ABA 及 JA 则负相关于单株结薯数, 其中 IAA 达极显著水平, 而在块茎形成高峰期内, 单株结薯数极显著正相关于内源 JA 的水平, 而负相关于 GA<sub>3</sub> 和其与 IAA、ABA 及 JA 的比值即平衡水平, 这为此阶段内块茎的大量发生提供了足够的条件。有的学者认为, IAA 能对匍匐茎的形成和生长有促进作用, 在高浓度蔗糖的配合下促进块茎膨大促进试管薯数量和质量的增加, 但没有诱导试管薯

形成的作用。

多数学者认为, 细胞分裂素能促进试管薯的形成和发育, 其中以 BA 效果最显著, 认为 BA 促进了细胞分裂和扩展, 刺激了某些酶的活性, 使营养物质更易于向细胞分裂素所在的部位运输, 因而它的作用表现为薯重及结薯数的同时增加。胡云海等<sup>[19]</sup>认为, 细胞分裂素对试管薯数和成薯指数的影响均呈抛物线形式变化, 其效应大小为 BA>KT>ZT。鄢铮等<sup>[20]</sup>研究表明, 合理地加入诱导激素可提高试管薯的产量。其中以香豆素  $30 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +BA  $3.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +活性炭 0.1%的组合效果最明显, 克新 3 号的诱导率(薯数/株数)为 112.5%, 大薯率为 57.14%, IP 值为 4.174。张颢等<sup>[21]</sup>通过计算机模拟筛选, BA 的最佳浓度范围为  $2\sim 5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。李凤云<sup>[22]</sup>试验表明, BA 对试管薯直径有明显促进作用, 当浓度为  $5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , 克新 8 号试管薯单薯直径为 6.67 mm, 大薯率为 82.36%。白淑霞等<sup>[23]</sup>认为, 加入一定浓度的外源激素, 利于提高试管薯的产量和质量, 其诱导效应依次为 BA>BA+CCC>CCC>无外源激素, 试管薯结薯率(结薯株数/总株数)分别为 100%, 80%和 60%。Gopal 等<sup>[24]</sup>研究表明, MS+  $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  BA 培养基诱导马铃薯试管薯形成较多。

香豆素是一种植物生长抑制剂, 它在试管薯诱导中的作用, 被认为是通过抑制生长和促进衰老以加强营养物质的运输和转化而起作用的, 能显著促进试管薯数量的增加。石瑛等<sup>[25]</sup>研究发现, 香豆素在  $30 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $80 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  和  $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  时对东农 303 的诱导率(薯数/株数)分别为 110%, 150%和 166%, 单薯直径分别为 5.6 mm, 4.9 mm 和 4.7 mm, 大薯率分别为 86.7%, 52.7%和 51.4%, 所以发现香豆素对试管薯诱导的影响表现为高浓度对增加试管薯的结薯数量有利, 低浓度对增大试管薯的直径和提高大薯率有利。金顺福等<sup>[26]</sup>认为, 香豆素在单独使用时, 对试管薯的发生发育促进效果不大明显, 但与 BA 配合使用时, 其结薯率(结薯株数/总株数)稍微超过 BA, 分别为 88.0%和 82.4%, 单薯重接近 BA, 其与 BA 单独使用时效果基本一致。鄢铮等<sup>[27]</sup>对春薯 4 号试验发现, 加入香豆素  $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  和  $50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  时诱导率(薯数/株数)为 110%和 128%, 薯块直径为 4.6 mm 和 4.5 mm, 大薯率为 58.23%和 40.33%, 提高了试管薯的产量, 缩短了生产周期。陈善娜等<sup>[28]</sup>在试验中发现, 香豆素在薯

块诱导培养 25~30 d 是猛增阶段。作为 GA 生物合成抑制剂(延缓剂)的矮壮素阻止了 GA 合成的早期过程, 不仅能降低游离态 GA 的水平, 而且还刺激了结合态 GA 的形成, 因此现在也被广泛的应用。陈芝兰等<sup>[29]</sup>通过试验认为: 结合结薯的早迟、多少、薯重情况, 为降低成本, 以选用 CCC  $0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  (同时加入 6-BA  $5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 或 CCC  $0.7 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  (同时加入 6-BA  $5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 为好。有的学者<sup>[30-31]</sup>认为, 在试管薯生产中, CCC 减少块茎重量, 但促进了块茎的形成, 并能减缓高温对块茎形成的抑制作用, 因此是国际马铃薯中心推荐的标准配方中主要成分之一。沈清景等<sup>[32]</sup>认为, 在培养基 MS+8.0%蔗糖) 中添加  $100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  CCC 能显著增加结薯数量, 提高大薯率和鲜薯产量, 分别为  $1.58 \text{ 个}\cdot\text{株}^{-1}$ , 89.2%和  $3.193 \text{ g}\cdot\text{瓶}^{-1}$ 。添加  $5.0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  6-BA+  $500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  CCC 虽能显著提高试管薯的大薯率和鲜薯产量, 但结薯数量却显著下降, 分别为 90.1%,  $3.255 \text{ g}\cdot\text{瓶}^{-1}$  和  $1.36 \text{ 个}/\text{株}$ 。罗丽萍等<sup>[33]</sup>以大西洋为对象研究认为,  $5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  的  $B_9$  对提高总薯重有效。何静波<sup>[34]</sup>试验表明,  $B_9$  对增加试管结薯的数量有良好作用, 最适浓度为  $5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , 并认为可以代替 BA 应用于大规模生产以节约成本, 但他们同时也认为  $B_9$  这种作用的大小程度还取决于供试品种的基因型。李凤云<sup>[22]</sup>认为,  $B_9$  诱导克新 8 号并没有增加其结薯数量, 而在大薯率上有明显增加, 达到了 87.68%, 这也可能是由于参试品种的基因型不同造成的。赵娟等<sup>[35]</sup>认为, 随着缩节胺浓度的增加, 诱导率逐渐提高, 其浓度为  $10 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  时, 诱导率(薯数/株数)达到最高为 157%。

SA 是植物自身合成(目前已实现人工合成)的植物激素, 促进侧枝和匍匐茎的分化, 加速了试管薯的形成过程, 调控试管薯快速形成, 显著提高结薯率。韩德俊等<sup>[36]</sup>认为, SA 浓度为  $0.5 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  时, 其化学调控作用最理想, 青薯 168 单瓶薯重达 2.03 g。陈大清等<sup>[37]</sup>认为, ( $2.5 \times 10^{-4}\sim 7.5 \times 10^{-4}$ )  $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  浓度下, SA 可提高 Mira 单薯重。一些学者认为, 茉莉酸是马铃薯块茎形成过程中信号传导途径的重要组成部分, 茉莉酸能诱导马铃薯细胞的扩张, 有强烈的块茎诱导活性, 由于马铃薯根部有合成内源 GA 的能力, 而内源 GA 将对 JA 的促进作用起到拮抗作用。陈大清等<sup>[37]</sup>认为, MJ 显示高浓度 ( $7.5 \times 10^{-6}\sim 10.0 \times 10^{-9}$ )  $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  有利于提高结薯率, 单株

结薯数 1.39 个左右, MJ 可能促进叶片中蔗糖和淀粉向试管薯中淀粉的转化, 从而促进试管薯中淀粉的合成与积累。

何云霞<sup>[14]</sup>认为, 采用抗生素对试管薯的诱导有很强的促进作用, 诱导率明显高于已往使用的 6-BA, 对于东农 303 在链霉素  $40 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  浓度下诱导率(薯数/株数) 168%, 比用 6-BA  $5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  浓度下的诱导率 118% 提高了 50.0%。抗生素的这一作用及其自身的抗菌效果在试管薯的生产中有着巨大的应用价值。另外, 6-BA 价格昂贵, 使用抗生素替代它, 可大大降低生产试管薯的成本。

### 2.2.3 碳源

蔗糖是光合作用的主要产物, 也是植物体内碳水化合物运输的主要形式, 同时蔗糖是淀粉合成的前体物质。其作用是作为碳源和维持渗透压。宋东光等<sup>[38]</sup>指出, 高浓度蔗糖可诱导淀粉结合淀粉合成酶(GBSS) 基因的表达, 该酶是块茎膨大过程中重要的酶。李灿辉等<sup>[39]</sup>指出, 蔗糖可诱导 Patatin 基因的表达, Patatin 是马铃薯块茎特异蛋白, 具有一定酶活性, 是马铃薯块茎中最主要的贮藏蛋白。由此说明, 蔗糖不仅为试管薯膨大提供碳源, 而且可能对块茎发育过程中一些重要酶的基因表达及部分贮藏蛋白积累都具有重要影响。研究者们多采用 8% 蔗糖或 8% 食用白糖。韩德俊等<sup>[40]</sup>则认为,  $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  水杨酸诱导下, 最理想的蔗糖浓度是 10%~12%, 在此条件下诱导试管薯, 单瓶产薯量达 30~40 枚, 有效试管薯所占比重达 75%~80%, 并且认为试管薯能否发育膨大, 与诱导培养基中碳源浓度有关。换言之, 蔗糖决定膨大率。

### 2.2.4 其它物质

王春林等<sup>[16]</sup>认为, 在试管薯诱导阶段加入活性炭, 对结薯有较大的促进作用, 与对照相比每瓶块茎数和块茎平均重均提高 70% 以上, 从试验中还可看出, 活性炭对试管薯诱导的促进作用在前 7~14 d。徐传朝等<sup>[6]</sup>认为, 在单节三角瓶内直接添加 0.15% 的活性炭, 试管薯诱导液可使试管薯显著增多, 诱导培养 40 d, 加活性炭的培养基平均每瓶薯块数为 8.3 粒, 而对照则为 3 粒, 较对照提高诱导率 177%, 增粒效果十分显著。刘仁祥<sup>[41]</sup>认为, 在含有一定比例的大量元素、微量元素的培养基中加 1.0% 活性炭, 试管薯的结薯率显著提高, 对比数据为 11.26% 和 16.50%, 其主要原因可能是活性

炭减弱培养基的光照, 以及其杂质中微量元素从总量上调节培养基中大量元素与微量元素的平衡有一定关系。Bizarri 等<sup>[42]</sup>也认为, 如果在诱导培养基中加入活性炭能提高成薯率和大薯率。

### 2.2.5 培养方式

杨文玉<sup>[43]</sup>认为, 以液体培养基诱导, 试管薯形成早, 时间短, 诱导效率高, 相对成本低, 适用于容器内大量试管薯的诱导形成。他们还提及液体培养基有配制容易、方便和能后补加于容器内的优点。沈清景等<sup>[32]</sup>的试验结果表明, 液体培养基对马铃薯试管薯的诱导效果最好, 结薯数量、鲜薯重量及大薯率均极显著高于固体培养基和固液双层培养基, 是诱导试管薯的一种最好培养方式。白淑霞等<sup>[2]</sup>应用 4 种不同的试管薯诱导培养方式, 结果表明, 早熟品种“Favorite”各处理间比较, 液体培养基分次添加其结薯时间明显短于其他处理, 仅为 3.5 d, 而相同处理条件下晚熟品种“Atlantic”的结薯时间为 6.5 d。由此推论, 液体培养为试管薯诱导和发育所必需的方式。

## 2.3 培养条件

### 2.3.1 光照

孙慧生等<sup>[44]</sup>认为, 全黑暗(较之  $8 \text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$  光照)是诱导试管薯和增加结薯数的必要条件。张颢等<sup>[21]</sup>进行了更大范围 ( $0 \sim 3000 \text{ lx}$ ) 的光照强度试验, 认为试管薯的结薯数和薯块重量随光照强度的减弱而增加, 光照强度作为影响因子以弱光到黑暗其作用最强, 而在自然光到强光变化范围内作用减小。因而他们认为, 试管薯的生长发育以弱光到黑暗条件下最适。刘玲玲<sup>[45]</sup>也认为, 在适宜的结薯温度下, 全黑暗条件是诱导马铃薯试管薯形成和提高产量的关键因素, 以克新 4 号为研究, 大薯率为 75.36%。罗丽萍等<sup>[33]</sup>试验结果表明, 对于提高总薯重黑暗显著优于自然光, 在提高薯数和平均薯重方面黑暗和短光照都极显著优于自然光, 且黑暗优于短光照。沈清景等<sup>[32]</sup>在对马铃薯克新 3 号试管薯一定诱导时间内, 全黑暗培养诱导结薯所需时间短, 培养 5 d 即可形成试管薯, 长日照 ( $16 \text{ h} \cdot \text{d}^{-1}$ ) 条件下培养 30 d 才有少量试管薯形成, 且薯块少、重量轻。在黑暗条件下试管薯的结薯数量是长日照的 6.1 倍, 平均单瓶鲜薯重量比长日照增加 1.4 倍, 大薯率提高 142.6%。但是有的学者也指出, 黑暗在诱导结薯同时也导致了试管苗的黄化, 而不利于提高

试管薯的产量,短光照虽然可以增加单薯重,但结薯时间明显延长<sup>[24,46]</sup>。刘梦芸等<sup>[47]</sup>研究发现,长时间的暗处理使块茎形成显著提早,但结薯数少,植株茎叶生长受阻,块茎淀粉含量降低。Simmon等<sup>[48]</sup>试验表明,黑暗虽然能诱导结薯,但却导致试管苗的黄化,而不利于提高试管薯的产量,Red Pontiac和Shepody两个马铃薯品种,在8 h光照下产生的试管薯鲜重超过全黑暗处理的两倍以上,块茎形成的百分率相近似。吕长文等<sup>[49]</sup>认为,以12 h·d<sup>-1</sup>暗处理产量最高,品种米拉每瓶结薯数为13个。鄢铮等<sup>[9]</sup>认为,应该在诱导期间进行阶段性的光处理,使植株恢复低强度的光合作用。有的学者认为,生长环境更接近正常生长状态,有利于植物体制造营养物质向试管薯输送,增加薯块的淀粉含量,并能持续产生相应的激素,促进试管薯的提早发生和结薯数量的增加。Li Canhui等<sup>[46]</sup>以马铃薯品种米拉为对象,发现在8 h光照处理下,试管薯的产量随着光照强度的增加而增加,同样,这种增加不是由于薯块数量的增多,而是由于单薯重的增大。

### 2.3.2 温度

吕长文等<sup>[50]</sup>认为,对试管薯形成大小及薯重而言,温度效应高于外源诱导剂。沈清景等<sup>[32]</sup>设计了范围窄的两个温度区间进行对比,结果是全黑暗条件下,低温(19±1)有利于马铃薯试管薯的形成,结薯时间短为5 d,平均每瓶结薯数比常温(25±1)增加3.3个,平均单瓶鲜薯重量增加73.6%,大薯率提高22.3%。低温有利结薯可能在于适当低温有调节内源激素水平的作用,这与马铃薯的起源及其生育特性是相一致的。窦国杰等<sup>[51]</sup>认为,在薯块形成期,温度控制在15~20较好,即在全黑暗诱导条件下,试管薯形成的最适温度为15~20。

## 3 现阶段存在的技术问题与思考

众多学者对试管薯诱导技术的研究已有大量报道,但是,由于试管薯的诱导频率较低导致的繁育成本过高问题尚没有得到很好的解决,即通过生产试管薯繁育脱毒马铃薯的种薯成本远远高于利用脱毒马铃薯试管苗繁育脱毒马铃薯种薯。另由于现在大多学者采用“间接”诱导法,即先培养试管苗,再把试管薯诱导培养基添加到长有试

管苗的容器中或者当试管苗长好后直接取出转移到盛有诱导培养基的容器中,过程操作繁琐,污染率偏高。因此,由于经济效益的制约,导致现阶段的脱毒马铃薯产业化生产还无法充分利用试管薯的生物学优势。

要降低繁育成本就必须以试管薯诱导率为突破口,可以从研究培养基配方,优化环境条件的设置,研究环境因子的设置和应用人工调控措施等方面进一步研究脱毒马铃薯试管薯诱导技术,提高试管薯诱导率,从而降低试管薯生产成本。

采用适合于试管薯工厂化生产的“直接”诱导法,即直接添加试管苗培养和试管薯诱导的培养基,利用环境因子的人工控制来进行试管苗的生长和试管薯的诱导。

### [参 考 文 献]

- [1] 金顺福,姜成模,崔哲官,等. 培育健壮马铃薯试管苗试验[J]. 马铃薯杂志, 1995, 9(3): 139-143.
- [2] 白淑霞,安忠民,王静,等. 不同培养方式对马铃薯试管苗生长与试管薯诱导的影响[J]. 中国生态农业学报, 2002, 10(2): 40-41.
- [3] 马伟青,王培伦,黄传红. 培养基中氮磷钾对马铃薯试管苗生长的影响[J]. 山东农业科学, 1999, 4: 36-37.
- [4] 祝红艺,柴岩,刘小凤,等. KT与NAA对马铃薯组培苗生长的影响[J]. 河北农业科学, 2000, 4(2): 7-9.
- [5] 李玉巧,朱鹿鸣. PP<sub>333</sub>, GA和BA对马铃薯试管苗生长调节作用的研究[J]. 作物学报, 1994, 20(1): 59-65.
- [6] 徐传朝,张夏菊,刘爱君. 活性炭对马铃薯试管苗生长和微型薯诱导影响研究[J]. 中国农业科技导报, 2003, 5(5): 106-107.
- [7] 罗玉,田洪,张铁. 高温下马铃薯试管薯的诱导[J]. 中国马铃薯, 2000, 14(1): 4-8.
- [8] 连勇. 马铃薯试管薯诱导与应用[J]. 马铃薯杂志, 1995, 9(4): 237-240.
- [9] 鄢铮,郭德章. 苗龄及光照对诱导马铃薯微型薯的影响[J]. 中国马铃薯, 2004, 18(4): 205-206.
- [10] Bassam Al-Safadi. The effect of gamma irradiation on potato microtuber production in vitro[J]. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 2000, 61: 183-187.
- [11] 李会珍. 利用试管薯诱导途径探讨马铃薯品质形成及其调控研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2004.
- [12] 姜秀芳,张改英,田炜,等. 郑薯5号和费乌瑞它试管苗培育、快繁及试管薯诱导培养基的筛选[J]. 中国马铃薯, 2004, 18(5): 280-281.
- [13] 崔翠,王季春,何凤发,等. 光照时间和碳源对试管薯形成的影响[J]. 科技研究与应用, 2002, 2: 12.

- [14] 何云霞. 利用抗生素诱导马铃薯脱毒原原种的效果研究 [J]. 黑龙江农业科学, 2000(4): 29-30.
- [15] 王春林, 程天庆. 利用试管薯快速繁殖马铃薯 [J]. 马铃薯杂志, 1992, 6(2): 82-85.
- [16] 张志军. 马铃薯试管薯快繁及其调控机理研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2003.
- [17] 连勇, 刘蕾, 屈冬玉, 等. GA<sub>3</sub>、IAA 和 C/N 对马铃薯试管匍匐茎及试管薯形成的影响 [J]. 马铃薯杂志, 1999, 13(1): 3-6.
- [18] 马崇坚, 谢从华, 柳俊, 等. 内源生长物质在马铃薯试管块茎形成中的作用 [J]. 华中农业大学学报, 2003, 22(4): 389-394.
- [19] 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.
- [20] 鄢铮, 郭德章. 植物激素对马铃薯试管薯形成的影响 [J]. 中国马铃薯, 2004, 18(2): 84-86.
- [21] 张颀, 陈延芳. 马铃薯试管薯诱导因子最佳组配的研究 [J]. 马铃薯杂志, 1990, 4(4): 206-209.
- [22] 李凤云. 不同外源诱导剂对克新8号马铃薯微型薯诱导效果的影响 [J]. 中国马铃薯, 2001, 15(5): 296-298.
- [23] 白淑霞, 安忠民, 冯学赞, 等. 马铃薯试管薯诱导因子研究 [J]. 中国马铃薯, 2001, 15(5): 271-273.
- [24] Gopal J, Minocha J L, Dhaliwal H S. Microtuberization in potato (*Solanum tuberosum* L.) [J]. Plant Cell Reports, 1998, 17: 794-798.
- [25] 石瑛, 秦昕, 王凤义, 等. 香豆素对马铃薯试管微型薯诱导的影响 [J]. 中国马铃薯, 2000, 14(1): 1-4.
- [26] 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与应用研究 [J]. 中国马铃薯, 2004, 18(6): 340-343.
- [27] 鄢铮, 郭德章. 马铃薯试管苗组织培养及微型薯诱导技术的研究 [J]. 中国马铃薯, 2004, 18(5): 270-271.
- [28] 陈善娜, 李琼红, 王丽华, 等. 香豆素和寡糖素对马铃薯试管结薯的影响 [J]. 云南植物研究, 1991, 13(3): 321-326.
- [29] 陈芝兰, 栾运芳, 次柏, 等. 马铃薯茎尖脱毒快繁及试管薯生产技术 [J]. 西藏农业科技, 1999, 21(1): 34-39.
- [30] Sharma N, Kaur N, Gupta A K. Effects of gibberellic acid and chlorocholine chloride on tuberization and growth of potato (*Solanum tuberosum* L.) [J]. J of the Science of Food and Agriculture, 1998, 78(4): 466-470.
- [31] Menzel C M. Tuberization in potato at high temperatures: response of physiologically young plants to disbudding and growth inhibitors [J]. Potato Research, 1985, 28: 121-124.
- [32] 沈清景, 叶贻勋. 马铃薯试管薯诱导因素研究 [J]. 福建农业学报, 2001, 16(1): 54-56.
- [33] 罗丽萍, 杨柏云, 蔡奇英. 马铃薯试管微型薯诱导的研究 [J]. 南昌大学学报, 2002, 26(4): 372-374.
- [34] 何静波. 一种有利于诱导马铃薯试管结薯的化合物-B<sub>9</sub>[M]//宋伯符. 中国马铃薯和甘薯合作研究进展. 北京: 中国农业科技出版社, 1990: 206-209.
- [35] 赵娟, 刘秀君, 王玉国. 缩节胺在马铃薯脱毒试管苗保存中的作用 [J]. 山西农业大学学报, 2003, 23(2): 133-135.
- [36] 韩德俊, 陈耀锋, 李春莲, 等. 水杨酸对马铃薯试管微型薯形成的影响研究 [J]. 西北植物学报, 1999, 19(3): 428-433.
- [37] 陈大清, 王雪英, 李亚男. 水杨酸和茉莉酸甲酯对试管马铃薯形成的影响 [J]. 华中农业大学学报, 2005, 24(1): 74-78.
- [38] 宋东光, 黄大庆, 王光清, 等. 不同长度马铃薯GBSS基因启动子的块茎专一性表达的初报 [J]. 复旦学报(自然科学版), 1998, 37(4): 559-563.
- [39] 李灿辉, 王军, 龙维彪. 马铃薯块茎特异蛋白Patatin研究进展 [J]. 马铃薯杂志, 1998, 12(3): 179-186.
- [40] 韩德俊, 陈耀锋, 王亚娟, 等. 水杨酸和不同糖浓度对马铃薯试管微型薯形成与生长的影响研究 [J]. 西北植物学报, 1999, 19(6): 92-96.
- [41] 刘仁祥. 活性炭和无机盐对马铃薯试管薯的诱导效应(简报) [J]. 植物生理学通讯, 2001, 37(4): 295-298.
- [42] Bizarri M, Borghi L, Ranalli P. Effects of activated charcoal effects on induction and development of microtubers in potato (*Solanum tuberosum* L.) [J]. Annals of Applied Biology, 1995, 127(1): 175-181.
- [43] 杨文玉. 不同组织培养条件对马铃薯试管微型薯的诱导 [J]. 马铃薯杂志, 1996(1): 20-22.
- [44] 孙慧生, 张振洪, 石卓文, 等. 马铃薯试管薯的诱导与利用研究 [J]. 山东农业科学, 1993, 2: 10-12.
- [45] 刘玲玲. 光照和培养基类型对马铃薯微型薯诱导结薯的影响 [J]. 黑龙江农业科学, 2004(6): 21-23.
- [46] Li Canhui, Wang Jun. The influence of light intensity on in vitro tuberization of potato [C]//CAAS and CIP Region . Potato and sweet potato research in China. Beijing: [s.n.], 1991: 78-83.
- [47] 刘梦芸, 蒙美莲, 门福义, 等. 光周期对马铃薯块茎形成的影响及对激素的调节 [J]. 马铃薯杂志, 1994, 8(4): 193-197.
- [48] Simmon T, V Souza Machado, R Coffin. The effect of light on in vitro microtuberization of potato cultivars [J]. American Potato Journal, 1989, 66: 843-847.
- [49] 吕长文, 王季春, 唐道彬, 等. 马铃薯试管结薯的光周期诱导效应研究 [J]. 中国马铃薯, 2004, 18(2): 68-72.
- [50] 吕长文, 王季春, 何庆学, 等. 诱导法与营养液配方对马铃薯试管结薯的影响 [J]. 西南农业大学学报(自然科学版), 2004, 26(1): 30-34.
- [51] 窦国杰, 张玉新, 李腊妮. 马铃薯试管薯形成对几种培养因子的宽容反应 [J]. 河南农业科学, 1997(9): 28-29.

