

中图分类号: S532; Q813.1*2 文献标识码: A 文章编号: 1672-3635(2006)06-0326-03

马铃薯两个基因型不同外植体的组织培养与植株再生

王萍¹, 王罡², 季静²

(1. 淮海工学院海洋学院, 江苏 连云港 222005; 2. 天津大学农业与生物工程学院, 天津 300072)

摘要: 以 Favorita 和东农 303 两个马铃薯基因型的幼叶、茎段、微型薯和种薯的块茎为外植体, 在 6 种培养基中诱导愈伤组织和植株再生。试验中观察到马铃薯的分化率在不同外植体间差异较大, ZT 有可能是诱导马铃薯芽分化的理想激素。

关键词: 马铃薯; 外植体; 组织培养; 植株再生

马铃薯 (*Solanum tuberosum* L.) 是一种粮菜兼用作物, 在世界的产量仅次于水稻、小麦、玉米而位居第四。因其具有生育期短、营养丰富等特点, 在农业生产和人民生活中均占有重要的地位。随着转基因植物与植物生物反应器研究的不断深入, 马铃薯因具有易生长、生物量大, 可以通过无性繁殖快繁获得大量的转基因植株、块茎便于贮藏和运输等特点, 有可能成为疫苗生产的理想工具, 已经受到科学工作者的青睐与重视^[1-6]。组织培养技术是植物转基因与植物生物反应器研究的基础, 目前虽然已有马铃薯组织培养方面的报道^[7-9], 但影响马铃薯组织培养的因素众多, 有必要对其进行深入细致的研究。本研究选用 4 种外植体在 6 种培养基下诱导愈伤组织与芽分化, 探讨影响马铃薯植株再生的因素, 为利用马铃薯作为生物反应器生产疫苗的研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

马铃薯基因型为东农 303 和 Favorita。东农 303 的微型薯、种薯和脱毒苗由东北农业大学农学院马铃薯研究室提供, Favorita 脱毒苗由上海农业科学院生物技术中心惠赠。

收稿日期: 2006-10-14

基金项目: 吉林省自然科学基金 20030552-4

作者简介: 王萍 (1957-), 女, 教授, 博士, 从事植物遗传与基因工程研究。

1.2 试验方法

取东农 303 和 Favorita 脱毒苗去腋芽的茎段 (0.3 cm)、幼叶 (0.3 cm × 0.3 cm), 东农 303 的微型薯和种薯的薯块用 0.1% 氯化汞消毒 10 min 后去皮与芽眼, 取内层块茎 (0.5 cm × 0.5 cm × 0.2 cm) 分别接种于 MS 基本培养基添加不同植物激素的 6 种诱导培养基上。IA: 6-BA 3 mg·L⁻¹ + NAA 0.01 mg·L⁻¹; IB: 6-BA 4 mg·L⁻¹ + NAA 0.01 mg·L⁻¹; IC: 6-BA 2.25 mg·L⁻¹ + NAA 0.2 mg·L⁻¹; ID: 6-BA 1 mg·L⁻¹ + ZT 1 mg·L⁻¹ + IAA 0.5 mg·L⁻¹; IE: ZT 1.75 mg·L⁻¹ + IAA 1 mg·L⁻¹; IF: ZT 2 mg·L⁻¹ + IAA 1 mg·L⁻¹。在 2 000 lx 下光照 16 h、25 °C 条件下培养, 由幼叶、茎段诱导产生的愈伤组织转接到分化培养基中。分别调查愈伤产生与芽分化的情况, 计算愈伤诱导率 (产生愈伤的外植体数/接种外植体数 × 100%) 和芽分化率 (分化芽的愈伤块数/总愈伤块数 × 100%)。

2 结果与分析

2.1 马铃薯 Favorita 愈伤组织的诱导与植株再生

取马铃薯 Favorita 基因型脱毒苗的幼叶与去腋芽的茎段接种于 6 种培养基中培养所得到的愈伤诱导率与分化率结果见表 1。

从表 1 结果可看出, 同一种基因型 Favorita 以不同外植体、在不同培养基中的愈伤诱导率与分化率均不同, 茎段的愈伤诱导率明显较高, 均达 100%。根据前人的研究, 本试验中诱导幼叶和茎段分化时选用了不同的培养基得到了分化芽 (图 1),

其中, 幼叶的分化率为 0~50%, 茎段分化率为 0~70%。同时发现, 当用 IC 作为诱导培养基时, 不论是幼叶还是茎段, 诱导产生的愈伤组织不论是两种分化培养基中哪一种, 都没有分化出芽。

表 1 马铃薯 Favorita 幼叶和茎段在 6 种培养基中愈伤组织与再生苗的诱导

培养基代号	叶 片		茎 段		分化率 (%)	
	接种数	愈伤诱导率 (%)	接种数	愈伤诱导率 (%)	叶 片	茎 段
IA	36	73.91	30	100	11.76	30.00
IB	46	55.26	30	100	42.86	30.00
IC	34	94.11	30	100	0	0
ID	50	34.00	36	100	50.00	—
IE	49	52.00	30	100	38.46	70.00
IF	44	50.00	33	100	50.00	18.18
平 均	43.17	59.88	31.50	100.00	32.18	29.64

注: 分化率为幼叶转接到 MS+2.25 mg·L⁻¹ BA+5.0 mg·L⁻¹ GA₃ 中, 茎段转接到 MS+0.3 mg·L⁻¹ GA₃ 中。

2.2 马铃薯东农 303 愈伤组织的诱导与植株再生 的茎段、微型薯与种薯的薯块接种于 6 种培养基中培养, 将马铃薯东农 303 基因型脱毒苗的幼叶、去腋芽 经培养得到的愈伤诱导率与分化率结果见表 2。

表 2 马铃薯东农 303 的 4 种外植体在 6 种培养基中愈伤组织与再生苗的诱导

培养基代号	愈伤诱导率 (%)				分化率 (%)			
	叶 片	茎 段	微型薯	种 薯	叶 片	茎 段	微型薯	种 薯
IA	80.77	100	48.39	0	4.76	41.67	16.13	0
IB	64.29	100	51.72	0	—	50.00	0	0
IC	67.57	100	10	0	8.00	0	3.33	0
ID	53.33	100	0	0	—	57.14	0	0
IE	34.21	100	0	—	7.69	41.67	3.33	—
IF	35.00	100	0	24.14	21.43	8.33	3.33	10.34
平 均	55.86	100	10.02	4.83	4.83	33.14	4.35	2.07

注: 分化率为叶片转接到 MS+2.25 mg·L⁻¹ BA+5.0 mg·L⁻¹ GA₃ 中, 茎段转接到 MS+0.3 mg·L⁻¹ GA₃ 中。

东农 303 在 6 种培养基中诱导 4 种外植体产生的愈伤诱导率以茎段为最高 (图 2), 达 100%, 之后依次为幼叶、微型薯、种薯。并且, 不同外植体分化率的高低与愈伤诱导率的顺序是一致的。从培养基对分化率的影响看, 诱导培养基 IA、ID 和 IE 对茎段的芽分化诱导效果较好, IF 对幼叶和种薯芽诱导效果较好, 微型薯则在 IA 培养基中效果较好。培养基 IC 对各种外植体芽诱导的效果都较差。

3 讨 论

3.1 影响马铃薯植株再生频率的主要内在因素

本文研究了影响马铃薯植株再生的内在因素——马铃薯的基因型和外植体种类, 从试验结果可知, 在不同培养基中培养时, 去腋芽茎段在两种基因型间芽分化率是相似的。而同一个基因型不同外植体的分化率差别较大, 例如, 东农 303 的 4 种

外植体平均分化率变化在 2.07%~33.14%, 最高值与最低值相差十几倍。这暗示马铃薯作为受体进行遗传转化时, 选择高植株再生率的外植体类型可能比选择基因型更重要。

3.2 植物激素种类对马铃薯不同外植体植株再生的影响

以往在马铃薯组织培养中的芽诱导主要应用的细胞分裂素是 6-BA, 本试验中引用了 ZT, 发现培养基 IF (ZT 2 mg·L⁻¹+ IAA 1 mg·L⁻¹) 对芽诱导率较低的幼叶与种薯块茎诱导效果较好。当 6-BA 1 mg·L⁻¹+ IAA 0.5 mg·L⁻¹ 再加 ZT 1 mg·L⁻¹ (培养基 ID) 时, 对东农 303 茎段的芽诱导效果很好, 芽分化率为 57.14%, 并且, 每个茎段上再生苗也多 (图 3), ZT 有可能是诱导马铃薯芽分化的理想激素。

3.3 马铃薯遗传转化的受体选择

用于遗传转化的受体材料以再生频率高的体

细胞为好, 可提高转化率、降低假阳性和嵌合体的出现。因为马铃薯茎段的再生频率高, 因此, 常用来作为遗传转化的受体, 而因块茎的植株再生率较低极少被应用。本试验以块茎内层组织作为外植体, 以期确保从完全体细胞再生植株, 但得到的芽分化率较低。

分析其原因一方面可能是本试验培养基中植物激素种类不多, 变化范围不大, 未能满足块茎芽分化的特殊需要; 另一方面块茎在接种与培养时极易污染, 增加了试验的难度。随着对块茎再生体系的优化与改进, 块茎也可能成为马铃薯遗传转化的理想材料。

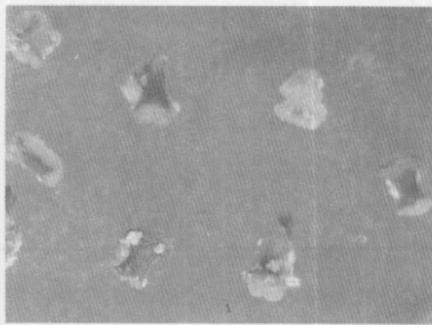


图1 Favorita 茎段芽

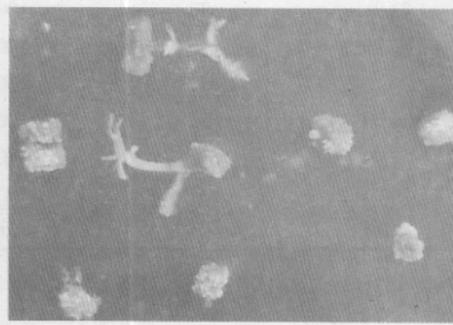


图2 东农 303 茎段芽

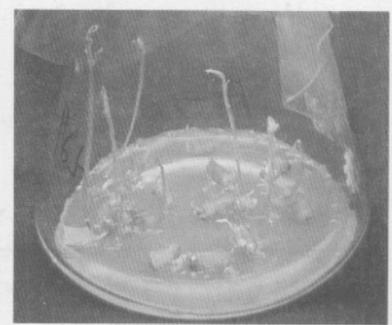


图3 东农 303 茎段再生苗

[参 考 文 献]

[1] DeBlock M. Genotype-independent leaf disc transformation of potato (*Solanum tuberosum* L.) using *Agrobacterium tumefaciens* [J]. *Theor Appl Genet*, 1988, 76: 767-774.
 [2] Higgins E S, Hime J S, Shields R. Early events in transformation of potato by *Agrobacterium tumefaciens* [J]. *Plant Sc*, 1992, 82: 109-118.
 [3] Dale Philip J, Hampson Kaija K. An assessment of morphogenic and transformation efficiency in arrange of varieties of potato (*Solanum tuberosum* L.) [J]. *Euphytica*, 1995, 5: 101-108.

[4] 杨美珠. 高效马铃薯遗传转化体系的建立及甜蛋白基因的导入 [J]. *植物学报*, 1992, 34 (1): 31-36.
 [5] 双宝, 吕文河. 马铃薯基因转化的研究进展 [J]. *马铃薯杂志*, 1996, 10 (1): 49-54.
 [6] 李昌, 金宁一, 王罡, 等. 基因枪法转化马铃薯及转基因植株的获得 [J]. *作物杂志*, 2003 (1): 12-14.
 [7] 双宝, 李文芙, 李文滨, 等. 马铃薯优化再生系统的建立 [J]. *马铃薯杂志*, 1995, (3): 134-138.
 [8] 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.
 [9] 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.

Tissue Culture and Plant Regeneration of Various Explants of Two Potato Genotypes

Wang Ping¹, Wang Gang², Ji Jing²

(1. School of Marine Technology and Aquiculture, Huaihai Institute of Technology, Lianyungang, Jiangsu 222005, China;
 2. Agriculture and Bioengineering College, Tianjin University, Tianjin 300072, China)

Abstract: Callus and plant regeneration were induced from young leaves, stem segments, tuber discs of minituber and certified seed tuber of two potato genotypes (*Solanum tuberosum* L. cv. Favorita and Dongnong 303) in six media. The results showed that the differentiation rate varied with different explants and ZT may be an ideal phytohormone for shoot differentiation in potato.

Key Words: potato; explants; tissue culture; plant regeneration