

马铃薯极早熟品种东农 303 再生系统的筛选

卢翠华, 秦 昕, 武小霞, 石 瑛, 孙震宇, 尹春芹

(东北农业大学农学院, 哈尔滨 150030)

摘 要: 以马铃薯品种东农 303 的脱毒试管苗为供试材料, 进行了 5 种培养基对试管苗茎段愈伤组织诱导和植株再生影响的试验。结果表明: 不同的培养基表现出不同的诱导效果, 愈伤组织诱导的最佳培养基是 2 号培养基 ($MS+0.01\text{ mg/L NAA}+3\text{ mg/L BA}$), 愈伤率是 90.4%。植株再生的最佳培养基是 5 号培养基 ($MS+2.25\text{ mg/L BA}+5.0\text{ mg/L GA}_3$), 再生率是 98.3%。

关键词: 马铃薯; 再生系统; 筛选

中图分类号: S435, S432.21 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0092 (2001) 04-0280-02

1 前 言

马铃薯是世界上的主要作物之一, 营养丰富, 单位面积产量高, 是唯一的粮菜兼用型作物, 在农业生产和人民生活中占有重要的地位。我国马铃薯种植面积已达 410 万 hm^2 , 年产量达 1292 万 t。随着马铃薯加工业的发展, 种植面积将进一步扩大。

收稿日期: 2001-05-29

作者简介: 卢翠华 (1957-), 女, 研究员, 从事马铃薯生物技术研究。

分子生物学的飞速发展, 使基因工程技术在马铃薯育种中的应用取得了长足的进展。成功的基因转化首先依赖于良好的植物受体系统的建立, 受体系统的建立则主要依赖于植物组织培养技术。但如何建立基因工程的受体系统, 优化组织培养技术, 仍是基因转化的关键。马铃薯是以无性繁殖为主, 外植体再生植株较容易。马铃薯不同品种间的再生系统存在差异, 因此需要对特定品种、特定材料进行再生系统的筛选, 以确定有针对性的最佳培养基。本试验对马铃薯品种东农 303 进行了最佳再生系统的筛选, 以期为基因工程的操作提供理论依据。

4.1 环境控制对微型薯形成和膨大的影响

许多研究表明: 环境温度和温差变化、土壤温度和湿度变化、光照和日照长短变化、营养成分和 C·N·P·K 比例的变化均能影响植株匍匐茎的发生发育和顶端块茎的形成膨大。国内外已有大量的报道。

4.2 理化控制对微型薯形成和膨大的影响

我们研究了几种化学物质对微型薯结薯数量和产量的影响, 结果表明: B₉、膨大素、硼酸和 KH_2PO_4 对促进块茎膨大结薯有显著的作用, 采用的最佳配方方案为: B₉ 5 mg/L+膨大素 200 mg/L+ KH_2PO_4 500 mg/L。国内许多研究人员也均作了类似的研究, 并取得了一些有价值的结果。

目前, 我们研究提出的微型薯 SB 繁育技术实

现了水肥自动控制, 在简易的操作管理下, 即可确保植株生长的水肥需求, 并能有效的控制地上部徒长、促进地下部匍匐茎发育和块茎膨大, 收薯简单易于操作实现了一年多季栽培。单位面积结薯数量和产量得到了较大的提高。为较大幅度地降低成本, 提高繁殖效率提供了理论和实践依据。

5 马铃薯种薯微型化发展预测

根据我国马铃薯脱毒微型薯繁育技术的研究进展, 我们可以预测: 微型薯大规模工厂化优质高效繁殖技术必将有效地推进以微型薯繁殖为核心的马铃薯脱毒种薯微型化繁育推广体系的进程。近 10 年内, 脱毒微型种薯最终必将在很大程度上取代现有种薯, 成为马铃薯生产用种的主体。

2 材料与方法

2.1 试验材料

东农 303 马铃薯脱毒试管苗。

2.2 培养基成分

愈伤组织培养基和分化培养基中不变的成分为：MS+3%蔗糖+0.8%琼脂，pH=5.8，不同的培养基中另外添加不同种类、不同浓度的植物激素（见表 1）。

表 1 培养基中的激素成分

培养基类型	编号	成 分
愈伤组织培养基	1	0.01mg/L NAA+2mg/L BA
	2	0.01mg/L NAA+3mg/L BA
	3	0.01mg/L NAA+4mg/L BA
分化培养基	4	0.3mg/L GA ₃
	5	2.25mg/L BA+5.0mg/L GA ₃

2.3 试验方法

在超净工作台上将脱毒试管苗剪成长度0.5 cm 的茎段，不含叶芽。以平铺和竖插两种方式摆放在诱导培养基上。在光强 3000 lx，光照 8~10 h/d，温度 25℃的环境下培养 20~30 d，然后将产生愈伤组织的茎段转接至分化培养基。试验分两次接种，共接种茎段 1650 个。

3 结果与分析

3.1 愈伤组织的诱导

由表 2 看出，1 号培养基的诱导率为 82.9%，愈伤组织呈绿色，少部分呈褐色；2 号培养基的愈伤诱导率最高 90.4%，茎段在培养期间产生的愈伤组织呈绿色；3 号培养基的愈伤诱导率最低是 73.8%，愈伤组织呈淡黄色。茎段平放培养基的效果好于竖放。

表 2 不同愈伤组织培养基的愈伤诱导率（%）

培养基编号	第一次	第二次	平均值
1	75.9	89.8	82.9
2	90.7	90.0	90.4
3	84.3	63.3	73.8

3.2 再生植株的诱导

愈伤组织的培养时间不宜过长，培养 20 d 的

效果好于 30 d。培养时间过长易褐化，影响芽的再生。第一批接种的材料，33 d 后转入 4 号分化培养基，其植株再生率平均达 6.8%，分析原因是愈伤组织培养时间过长，影响了芽分化，也不排除 4 号培养基本身成分的影响，因此影响再生植株的生成。第二批接种的材料，20 d 后将愈伤组织转入 5 号分化培养基，其植株再生率平均高达 69.8%，3 号培养基系统的再生效果最好，从 3 号愈伤组织诱导培养基转入 5 号分化培养基的再生频率最高，达到 98.3%。而且出芽频率高，单个茎段芽点多（最多的达 9 个），再生植株生长健壮（详见表 3）。

表 3 不同培养基的植株再生率（%）

培养基	1 号培养基	2 号培养基	3 号培养基	平均值
5 号培养基	46.3	47.2	98.3	69.8

4 讨 论

2 号培养基加 3mg/L 6-BA 效果好，愈伤诱导率高达 90.4%，并且愈伤组织呈绿色，表面光滑，结构致密。但是由 2 号培养基转入 5 号培养基，其植株再生频率不高，只有 47.2%，3 号培养基加 4 mg/L 6-BA，虽然愈伤诱导率低，只有 73.8%，但是愈伤组织呈淡黄色，组织疏散，由 3 号培养基转入 5 号分化培养基后，植株再生率高达 98.3%。

受体系统的建立，关系到基因转化的成败，要比一般组织培养复杂，要求也高。本试验选用试管苗茎段为外植体，进行组织培养，具有取材方便，不易污染等特点。筛选的 2 号愈伤诱导培养基和 5 号分化培养基，获得高频率的马铃薯再生植株，为马铃薯基因转化研究奠定基础。

参 考 文 献

[1] 王关林，方宏筠．植物基因工程原理与技术 [M]．北京：科学出版社，1998．
[2] 双宝等．马铃薯优化再生系统的建立 [J]．马铃薯杂志，1995，9（3）：134—138．
[3] 张长生．中国马铃薯生产现状及今后发展对策．面向 21 世纪的中国马铃薯产业 [M]．哈尔滨：2000，10—13．
[4] 冉秉利，韦林学．生物工程与应用 [M]．北京：中国科学技术出版社，1996．