

高温下马铃薯试管薯的诱导

罗 玉 田 洪 张 铁

(云南文山师专 663000)

摘要: 对金冠、大西洋、会顺 88 等 3 个品种进行了高温下、短日照 (8 h/d) 添加不同浓度 BA 和蔗糖的切段诱导结薯。结果显示, 高温抑制了 3 个品种的结薯, 特别对大西洋抑制最强。高温下加入不同浓度的 BA 对 3 个品种产生不一致的影响。高温下蔗糖浓度为 2%, 不加激素时, 对这 3 个品种不能诱导其结薯。

关键词: 马铃薯; 试管薯; 诱导; 高温

中图分类号: S532

文献标识码: A

文章编号: 1001-0092 (2000) 01-0004-04

1 前 言

试管诱导结出的微型薯比试管薯更利于种质保存、运输与分发, 移栽定植也更容易成活与管理。已有不少文章报道了试管诱导结薯的优化条件组合^[2,3,4,5,6]。并且已有试管薯工厂化的生产规模^[1]。影响块茎形成的外界条件较多, 如温度、光周期、生长调节物质、蔗糖等。本试验试图了解高温下不同 BA 浓度, 不同蔗糖浓度对不同基因型品种块茎形成产生的影响, 以进一步明确这些因素

收稿日期: 1999-10-11

对块茎形成的调控作用。

2 材料与 方法

2.1 材料

供试品种为金冠 (早熟品种)、大西洋、会顺 88 (晚熟品种), 材料均为继代繁殖的无毒试管苗。

2.2 方法

2.2.1 健壮试管苗的培育

把 3 个品种的试管苗通过单节切段转入 MS 培养基中, pH 5.8, 蔗糖 3% 于 25±2℃, 光周期 14 h/d, 光照强 2000 Lx 下培养 4 周。

[7] Estrada R, P Tovar and J H Dodds. Induction of in vitro tubers in a broad range of potato genotypes. *Plant cell, Tissue and Organ culture*, 1986, 7: 3~10

[8] Graner N, J Blake. The induction and development of potato microtubers in vitro on media free of growth regulating substances.

Annals of botany, 1989, 63: 663~674

[9] 冉毅东等. 用组培法诱导试管微型薯的研究. 马铃薯杂志, 1991, 5 (4): 193~198

[10] 连勇. 马铃薯试管薯诱导与应用. 马铃薯杂志, 1995, 9 (4): 237~240

EFFECT OF COUMARIN ON MICROTUBER INDUCTION IN POTATO

SHI Ying, QIN Xin, WANG Feng-yi and CHEN Yi-li

(Northeast Agricultural University, Harbin 150030)

ABSTRACT: The effect of coumarin on microtuber induction in potato was investigated in this paper. Varieties used in this experiment were NEA303 and Favorita, two early-maturing varieties widely planted in China. The result showed that when the medium was supplemented with 30 mg/L coumarin the size of microtuber was much larger and the percentage of big tubers was much higher.

KEY WORDS: potato; microtuber; coumarin

2.2.2 结薯诱导

把 3 个品种的健壮试管苗切成二节一段，转入下列培养基： $T_1: MS + 10 BA + 8\%$ 蔗糖， $T_2: MS + 5BA + 8\%$ 蔗糖， $T_3: MS + 2.5BA + 8\%$ 蔗糖， $T_0: MS + 8\%$ 蔗糖， $T_4: MS + 2\%$ 蔗糖，每瓶 8 个材料，3 个品种的 T_1 、 T_2 、 T_3 、 T_0 、 T_4 处理，放于 8 h/d 光周期下， $30 \pm 2^\circ C$ 高温下，光照强度 2000 Lx 诱导结薯。另外 3 个供试品种的切段转入 T_3 中于 8 h/d 光周期， $20 \pm 0.2^\circ C$ 常温下，光照强度为 2000 Lx 诱导结薯，以便与高温下作对照。

2.2.3 结果记录

各处理转入结薯诱导培养基后，每周抽出 5 瓶共 40 个切段来记录生长及结薯情况。统计不同时期各品种的诱导结薯率（结薯切段占总切段的百分率），以出现直径大于 2 mm 球体为结薯。

3 结果与分析

3.1 常温下的结薯情况

3 个品种常温下，于 T_3 培养基中其结薯率见图 1。3 个品种接入 T_3 中 7 d 后都有根生长，侧芽伸长，会顺 88 侧芽形成的茎弯入培养基中。而金冠、大西洋 14 d 才见侧芽形成的茎弯伸入培养基中。21 d 时金冠、大西洋有块茎形成。结薯位置多在匍匐茎顶端和匍匐茎近基部第 2 节处。块茎在空中、培

培养基中都有生长。生于培养基中的块茎皮不光滑，皮孔扩大，外观看似有许多白点。有少数块茎的顶芽伸长成枝条，块茎逐渐消失。第 63 d 称薯块鲜重，结果见表 1。

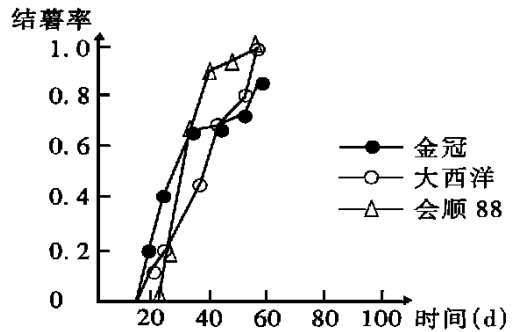


图 1 常温下 T_3 处理 3 个品种的结薯率

表 1 $20 \pm 0.2^\circ C$ 下诱导结薯 36 d 时结薯情况

品 种	处理节段数	结薯数	薯块鲜重 (g)	最重薯大小 (mm)
金冠	40	33	4.885	7×14
大西洋	40	40	1.488	5×6
会顺 88	40	40	1.431	4×9 (5×5)

3.2 高温下的结薯情况

3 个供试品种转入 T_1 、 T_2 、 T_3 、 T_0 4 种培养基中其结薯率见图 2 (a、b、c、d)。

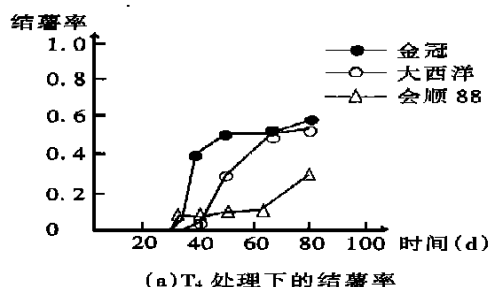
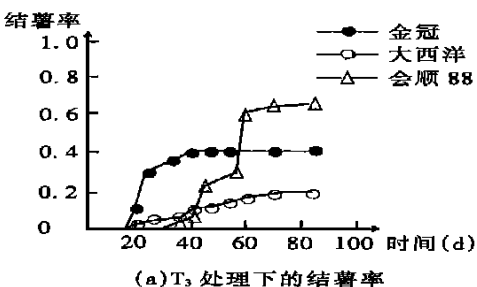
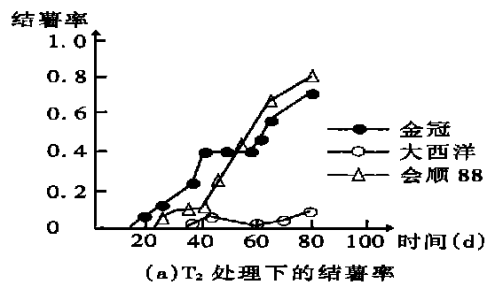
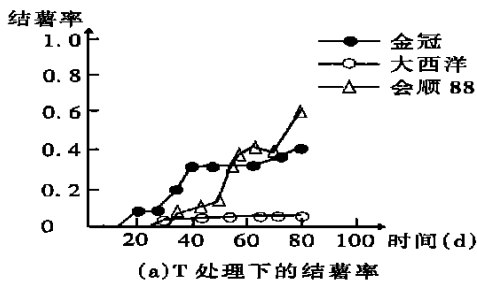


图 2 3 个品种高温下几种处理的结薯率

接入 T₀ 培养基的 3 个品种, 第 5 d 可见根长出, 之后茎有分枝, 也都有匍匐茎弯生于培养基中, 第 32 d 时 3 个品种都有块茎形成, 所有块茎都生于直立茎的叶腋处。50 d 后块茎顶芽伸长成枝条较其余处理为多。80 d 时, 几乎一半的块茎顶芽有不同程度的伸长。3 个品种中会顺 88 根细、茎长、细弱。50 d 后, 一些切段长出的茎细弱, 黄化, 死亡, 该品种结薯数量最少。

接入 T₄ 培养基的 3 个品种都能长根, 茎有分枝, 直立, 没有匍匐茎弯生于培养基中。60 d 时也都无块茎形成。叶绿、展开。

接入 T 培养基中 3 个品种的切段前期都不长根, 只有少部分切段 42d 后于弯生培养基中的匍匐茎的节上长根。侧芽常发育成丛生枝条。都有匍匐茎形成。3 个品种中会顺 88 最多, 大西洋中最少。产生的块茎多位于匍匐茎顶和匍匐茎近基部的第 2 节处。少部分位于空中的叶腋处。大西洋结薯受到了很大的抑制, 几乎不结薯。3 个品种分别与 T₀ 中相比, 早熟品种金冠结薯提早。

接入 T₂ 培养基的 3 个品种切段, 金冠与会顺 88 几乎不长根, 而大西洋的切段部分能长出较粗的根。侧芽常发育成丛生枝条, 各品种枝条比 T 处理中的高。3 品种中大西洋的结薯受到很大的抑制, 结薯率很低, 而金冠、会顺 88 的结薯率各时期都高于 T 处理中。

T₃ 处理的 3 个品种切段都能生根。金冠、大西洋生根较早, 5 d 后大部分切段都生根, 会顺 88 于 21 d 后开始少量切段生根。3 个品种产生的匍匐茎较其它处理多、长。特别是会顺 88 于后期, 匍匐茎产生一些分枝, 相互交错盘结于培养基中。金冠结薯最早, 会顺 88 结薯晚, 但后期会顺 88 结薯率高于金冠, 3 个品种中大西洋结薯率最低, 其 T₃ 处理中结薯率高于 T₂、T 中。

高温下结的薯块芽眼处常有鳞片状叶, 有一些块茎后期顶芽伸长成芽条。有少部分块茎的顶芽又膨大成葫芦状、串珠状块茎。3 个品种在高温下所结薯块第 80 d 称鲜重结果统计于表 2。

4 讨论

马铃薯的块茎形成是由相应的基因控制的, 是控制块茎形成的基因在时空上顺序表达的结果。在此过程中受一些外界条件的影响, 温度是其中一个原因。高温会抑制马铃薯块茎形成, 自从最早被 Bushnell (1925) 报道后, 又多次被证实。C. M. Menzel (1980) 报道高温对块茎形成的抑制可被 CCC 的应用全部逆转, ABA 的使用可使其部分逆转^[6]。Krauss 和 Marschner (1984) 认为高温抑制糖转化为淀粉, 高温下淀粉合成酶失活, 引起“库”的拉力下降, 使薯块重量下降。本试验也表明高温使金冠、大西洋、会顺 88 等 3 个品种的切段结薯受到不同程度的抑制, 其中对大西洋的抑制程度最强。从结薯率看 20±0.2 °C 下第 56 d 会顺 88 与大西洋结薯率达 100%, 金冠也达 82%, 而高温下 56d 时, 没有一个处理的结薯率超过 40%。从表 1 与表 2 中的 T₃ 处理的对比可看出, 高温下各品种的结薯数目都低于常温下, 从薯块鲜薯看, 常温下金冠、大西洋明显高于高温下。会顺 88 常温下第 63 d 的薯块鲜重略低于高温下 80 d 的鲜重。可能是由于会顺 88 是晚熟品种, 属于薯块后期膨大型。

在细胞分裂素对试管薯形成及产量的影响方面有许多报道, 乌云、李秉真等通过对不同部位内源细胞分裂素的测定后报道, 无论长、短日照, 已形成的块茎中 6-氨基嘌呤和腺嘌呤核苷含量均比未形成块茎的匍匐茎中高, 随着块茎的形成, 这两种物质从叶片向地下部输送, 以促进块茎形成^[9]。胡云海、蒋先明通过在培养基中加入不同浓度外源细胞分裂素试验后认为: BA 对微型薯形成的影响呈抛物线形, 在 6~9

表 2 高温下第 80 d 各处理结薯情况

处理	品种	处理	结薯数	薯块总鲜重 (g)	最重薯大小 (mm)
T	金冠	40	15	0.875	5×15
T	大西洋	40	2	0.015	2×2
T	会顺 88	40	40	0.625	4×7
T ₂	金冠	40	27	2.290	8×9(4×5)
T ₂	大西洋	40	2	0.016	2×2
T ₂	会顺 88	40	46	3.575	6×9(5×3)
T ₃	金冠	40	16	2.195	5×15
T ₃	大西洋	40	7	0.350	6×6
T ₃	会顺 88	40	26	1.765	5×12
T ₀	金冠	40	18	0.945	4×12
T ₀	大西洋	40	19	0.505	4×10(5×6)
T ₀	会顺 88	40	5	0.225	3×13

mg/L 范围内较好, 过高过低的 BA 都不利于块茎的形成^[10]。Ivan Galis 等报道加入 10 mg/L 的 BA 于培养基中能使完整植株比不加外源 BA 的对照提早结薯 10~20 d^[8]。王军认为只要在适宜的外界条件下, 植物体内能合成足够的内源激素或结薯刺激物, 任何外源生长调节剂都可取消^[11]。李灿辉提出外源 BA 的添加不是诱导马铃薯块茎形成的必需因子^[12]。而我们的试验结果可看出: 图 1 中高温下, BA 的加入使会顺 88 的结薯率提高, 特别是 5 mg/L 浓度下提高幅度最大。金冠在此浓度下结薯率也提高, BA 的加入使大西洋切段结薯率下降。随外源 BA 浓度的增高, 对该品种结薯的抑制越强烈。从结薯的时间上看 BA 的加入能使早熟品种金冠的结薯时间提早, 从而使早熟品种金冠的切段结薯先于晚熟品种会顺 88。从结薯的数量及鲜重来看, 金冠、会顺 88 是在加入 BA 浓度为 5 mg/L 时结薯数最多, 鲜薯最重。而大西洋则是在不加入 BA 时结薯最多, 鲜重最重。可以这样推想: 一定含量的 BA 利于块茎的形成。当内源 BA 与外源 BA 综合作用的结果处于一个适当的含量时, BA 促使匍匐茎上长出块茎, 并促进块茎的膨大。一般来说植物生理生化上的反映总是先于形态器官的建成与变化。在结薯位点 BA 的汇集使该部位形成一个代谢“库”, 吸引同化产物积累。最终出现块茎, 并使块茎膨大。高温下大西洋在外源加入 BA 时, 随浓度的增加块茎形成的抑制加强。可能是因为大西洋品种含有较高的内源细胞分裂素。细胞分裂素能消除顶端优势, 使腋芽丛生, 形成丛生枝条, 并有延缓衰老的作用。M·Dermasta M·Ravnikar 等认为植物腋芽丛生, 抑制根系生长是以植物中有高水平的细胞分裂素有关^[7]。在本实验中, 不加 BA 的 T₄、T₀ 培养基中 3 个品种都能在 5d 内于基部顺利长出根来。而外源 BA 的加入对切段生根有抑制, 特别是 T 培养基中, 插入培养基中的切段基部不生根, 并膨大、增粗。Ana M·melacho 和 Angel M·mingo-castel 认为, 块茎形成与生根能力的减弱有关^[14]。但在我们的实验中并没有表现出块茎的形成与生根的抑制之间的必然联系。在 T₀ 处理中几个品种都有根顺利长出, 也都能于叶腋处结薯。而 T₄ 处理中, 几个品种也都有根顺利长出, 但却都无块茎形成。

培养基中高浓度的蔗糖(8%)利于结薯, 蔗糖能提供碳源, 又是植物体内养料物质的主要运输形式, 能调节渗透压, 影响植物组织对培养基中物质的吸

收。胡云海、蒋先明报道不同糖类对微型薯形成产生的影响不同, 蔗糖和葡萄糖效果较好, 麦芽糖几乎无作用^[10]。这似乎表明高浓度蔗糖能促进结薯不仅因为其调节渗透压和提供碳源。块茎特异蛋白 Patatin 被认为是马铃薯块茎形成的生化标志^[13]。编码 Patatin 的基因(Pat)是多基因家族, 分两个亚家族 Pat I 和 Pat II, 而 Pat I 的表达能被叶和茎中的蔗糖诱导。李灿辉推测马铃薯植株中有蔗糖介导的信号系统, 蔗糖对结薯起着信号传递的作用。在我们的实验中, 高温下不加 BA, 蔗糖用量为 8% 的 T₀ 培养基中, 3 个品种都能产生匍匐茎也能结薯, 薯块都结于直立茎的叶腋处。但相同条件下, 蔗糖浓度降到 2% 时 3 个品种茎分枝多, 但都无匍匐茎产生, 也不形成块茎。这就支持了外源 BA 不是微型薯形成的必要条件, 而高浓度的蔗糖在块茎形成中却起着至关重要的作用。

实验中还可以看出, 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。一般通过组织培养繁殖的植物, 会产生幼龄化。在单节切段繁殖试管苗的过程中, 侧芽发育而成的植株比顶芽发育而成的植株生理年龄幼小。如果把顶芽集中于一瓶中, 转接 2~3 次, 长出的试管苗都长有许多复叶, 这样的切段易于结微型薯。茎粗、叶面积大的健壮切段比其它切段易于在叶腋处结薯, 结薯也早。离体培养中结出的微型薯与网室中结出的迷你薯相比, 有一个明显的不同是微型薯休眠期大大缩短, 几乎不休眠。特别是结于叶腋处的微型薯, 常在瓶内微型薯的顶芽伸长成芽条。收获后微型薯种于网室中能及时、整齐出苗, 而网室中收获的迷你薯至少有 50~60 d 的休眠期。

参 考 文 献

- [1] 李宝庆, 郑妙嫦等. 广东省马铃薯脱毒微型薯生产的工厂化及其种薯生产体系. 中国马铃薯种薯生产研讨会论文集, 1992
- [2] 谢世清. 温度对马铃薯块茎形成膨大的影响. 云南农业大学学报, 7(4): 243~249
- [3] 柳俊. 马铃薯试管块茎形成机制的研究. 马铃薯杂志, 1995, 9(1): 7~11
- [4] 连勇. 马铃薯试管薯诱导与应用. 马铃薯杂志, 1995, 9(4): 237~240
- [5] 何静波等. 马铃薯试管诱导结薯方法的改进. 云南植物研究, 1988, 10(4): 396~402
- [6] C. M. Menzel. Tuberization in potato at high temperatures: Responses to abberellin and growth inhibitors. Ann. Bot. 1980, 46: 259~365
- [7] M. Dermastia M. Ravnikar and M. Kovac. Morphology of potato stem

node cultures in relation to the level of endogenous cytokinins J. Plant Growth Regul. 1996(15):105~108

[8] Ivan Galis Jiri Macas et al. The effect of a elevated cytokinin level using the ipt gene and N⁶-Benzyladenine on single node and intact potato plant tuberization in vitro J. Plant Growth Regul. 1995. (14):143~150

[9] 乌云, 李秉真, 刘梦芸. 马铃薯中 6-氨基嘌呤核苷在不同光照条件下的变化与块茎形成的研究. 马铃薯杂志, 1995, 9(2):74~76

[10] 胡云海, 蒋先明. 不同糖类和 BA 对马铃薯试管薯的影响. 马铃薯杂志, 1989, 3(4):203~206

[11] 王军. 马铃薯快繁技术的某些进展. 中国马铃薯种薯生产研讨会论文集, 1992

[12] 李灿辉, 王军等. 离体培养条件下植物生长物质对马铃薯块茎形成的影响. 马铃薯杂志, 1998, 12(2):67~73

[13] 李灿辉, 王军. 马铃薯块茎形成的生化标志-Patatin. '96 中国马铃薯学术研讨文集, 1996

[14] Ana M. Pelacho and Angelm Mingo-Castel Jasmonic acid induces tuberization of potato stolons cultured in vitro Plant Physiol. 1997, 97:1253~1255

TUBERIZATION OF POTATO *IN VITO* AT HIGH TEMPERATURE

LUO Yu, TIAN Hong and ZHANG Tie

(Wen shan teacher 's college 663000)

ABSTRACT: Stem node cultrue of potato CVs Golden crown, Atlantic and Cooperation 88 was used to examine the effects of different levels of BA and sucrose on tuberization at high temperature and under the short day (8 h/d). The results showed that tuberization of the cultivars are all inhibited and that of Atlantic was inhibited the most. The cultivars reacted differently to different levels of BA at high temperature. No tuber was formed at 2% sucrose at high temperature.

KEY WORDS: potato; microtuber; induction; high temperature

会议通知

根据99 全国马铃薯学术研讨会会议纪要精神, 为了促进 21 世纪中国马铃薯事业能有一个更大的发展, 马铃薯专业委员会决定 2000 年 8 月在云南省昆明市召开以“面向 21 世纪中国马铃薯产业化发展”为中心议题的马铃薯学术研讨会暨专业委员会年会。

为全面掌握全国马铃薯科研、生产、推广、销售、加工、机械、行业管理等企事业单位的基本情况, 会议决定出版与马铃薯产业相关的《企事业单位从业人员名录》和《面向 21 世纪中国马铃薯产业化发展》的论文集, 均由正式出版社出版, 望各单位积极撰写论文并填好从业人员名录及做好会前准备工作。截稿日期为 2000 年 3 月末。会议时间初步确定在 8 月 21~24 日, 报到地点另行通知。

联系人: 陆忠诚

电 话: 0451-5390553

手 机: 13503641242

马铃薯专业委员会
中国马铃薯编辑部