

综述

马铃薯试管薯诱导与应用*

连 勇

(中国农业科学院蔬菜花卉研究所 北京 010018)

马铃薯 (*Solanum tuberosum L.*) 是世界上主要粮食和蔬菜兼用作物之一, 以无性繁殖为主, 马铃薯“退化”导致产量和质量的下降, 曾一度成为世界性的难题。随着植物组织培养技术的发展与应用, 利用植物茎尖分生组织培养技术获得脱毒“复壮”种薯, 从根本上解决了马铃薯种薯退化问题。我国从1974年开始研究建立在植物茎尖分生组织培养基础上的脱毒种薯生产体系, 现已有一百多个脱毒品种, 推广面积约736万亩, 取得了重大的经济效益。80年代, 马铃薯试管薯诱导技术的研究成功, 为加快脱毒马铃薯繁殖, 缩短种薯生产周期, 形成工业化生产提供了切实可行的手段。本文简要介绍国内外马铃薯试管薯研究现状, 以及我们自己的一些研究成果, 并对这一技术的应用进行评述。

1 影响试管薯形成的因素

1.1 基因型及试管苗发育

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。基因型在试管薯诱导中起着重要作用, 不同基因型的马铃薯试管内结薯数量和重量都有很

大的差异, 这是由基因控制的, 并且依赖于基因型对诱导系统的反应⁽¹⁾。

试管苗的发育直接影响着试管薯的诱导。只有在诱导结薯的前一个阶段中培养出根系发达、茎秆粗壮、叶色浓绿的试管苗, 才能获得高产优质的试管薯^(2,3)。培养健壮的试管苗, 要有适宜的培养条件, 要求强光(3000Lx以上)长日照(16小时/天), 温度合适且昼夜要有一定的温差(白天24℃±2, 晚间16℃)。我国多数组织培养室很难达到这样理想的条件, 为弥补光强及昼夜温差的不足, 许多人采用外源激素调节方式诱导壮苗的形成。李玉巧等报道MS(Murashige和Skoog, 1962)培养基附加PP₃₃₃(多效唑)1.0mg/L, AG(赤霉素)0.7mg/L和BA(6-苄氨基嘌呤)0.2mg/L可获得马铃薯试管苗壮苗。实际上MS附加3~5mg/L的B₉(N-二甲胺基琥珀酰胺酸)即可获得健壮的马铃薯试管苗⁽⁴⁾。

同一品种的马铃薯, 来源于不同茎尖无性系的试管苗, 表现出的生长势常常不尽相同, 因而试管内结薯率及形成的薯块大小也差异显著, 这种离体条件下的不同生理表现, 可能与一些微小的修饰基因有关。诱导试管薯时要注意选择那些生长势强壮、结薯快而茎块大的茎尖无性系。

* 国家自然科学基金资助项目

1.2 矿质营养

关于矿质营养影响马铃薯试管薯形成及发育的研究, 以往主要集中在对氮素营养的研究上, 其它各种元素研究报道的不多, 多数以改变基本培养基类型, 来调整矿质养分的比例。最常用的马铃薯试管薯诱导培养基是 MS, 此培养基总含氮量高, 适应性广, 有利于植株的生长。Dodds 等报道, 以 B₅ (Gamborg, 1968) 培养基做诱导培养基, 可提高试管结薯数, 因为 B₅ 培养基总含 N 量低⁽⁵⁾。磷和钾可提高块茎产量, 氮过多不利于块茎形成⁽⁶⁾。Krauss 在水培试验中得出, 植株生长在诱导结薯条件下, 连续供氮, 其茎叶 ABA (脱落酸) 含量相对低, GA 含量相对高, 植株未能形成块茎。停止供氮, ABA 含量增加, GA 含量减少, 即出现一个高的 ABA / GA 比值, 此时块茎形成, 表明氮营养同光周期和温度一样, 主要通过改变 ABA 与 GA 的比值来控制块茎的形成⁽⁷⁾。当总氮浓度在 30~40mM 时, 成薯指数 (块茎直径 × 重量 × 块茎个数) 有较大值, 降低 NO₃⁻—N / NH₄⁺—N 比值或总含氮量有利于微型薯的形成⁽⁸⁾。

1.3 激素及其它外源诱导剂

1.3.1 赤霉素

GA 对块茎形成的抑制作用最为肯定。GA 的存在能阻止试管薯的形成^(6,9), 并可逆转细胞分裂素的促进作用⁽¹⁰⁾。GA 与吲哚乙酸 (IAA) 的适宜配合可促进匍匐茎的发生, 单独使用 GA 可使已形成的匍匐茎逆转成分枝。氮素对块茎形成的不利效果也是通过 GA 起作用。

1.3.2 生长素

这类激素能增加试管薯的大小, 但没有任何诱导作用⁽¹¹⁾, IAA 2mg / L, 萘乙酸 (NAA) 3mg / L 能显著增加试管薯的个数和重量, 2,4-D 在一定程度上增加试管薯的

个数和大小, 但没有达到显著水平, 3 种生长素促进试管薯形成的效应为 NAA > IAA > 2,4-D⁽⁹⁾。

1.3.3 细胞分裂素

细胞分裂素有利于块茎的形成。马铃薯试管薯诱导技术研究当初, 人们就把这类激素做为重要的诱导试剂^(10,11), 细胞分裂素对试管薯形成的影响呈抛物线形变化, BA 的最佳浓度分别为 11.59 和 10.04mg / L, KT (6-糠氨基嘌呤) 为 14.72 和 12.63mg / L, ZT (玉米素) 为 10.75 和 10.00mg / L, 其效应大小为 BA > KT > ZT⁽⁹⁾。细胞分裂素以 BA 的效果最明显, 通过计算机模拟筛选得出, BA 在 3~5mg / L 时诱导效果最佳⁽¹²⁾, 实际上 BA 在 2mg / L 的浓度时, 已足够起到诱导作用⁽¹³⁾。

1.3.4 植物生长延缓剂

试管薯诱导培养基内加入一定量的植物生长延缓剂, 确能加速试管薯的形成, 并被广泛应用, 在早期的报道中 CCC (矮壮素) 用的最多^(5,10,12,14), 以 500mg / L 用量最佳, CCC 是 GA 生物合成强有力的抑制剂, 能刺激细胞分裂素的产生, 影响糖类代谢过程中各种酶的活性, 增加叶绿素含量和改变干物质分布, 因此能有效地影响发育循环, 对马铃薯来讲就意味着使其提早结薯⁽¹⁵⁾。香豆素也有抑制生长、促进衰老、加强营养物质运输和转化的作用, 以 50mg / L 的浓度代替 CCC 同样能取得好的效果⁽¹⁵⁾。香兰素 (Vanillin) 是一种廉价的化学试剂, 它以 50~100mg / L 的浓度做为试管薯诱导剂, 与香豆素有同样的效果⁽¹⁶⁾。5mg / L 的 B₉ 诱导试管薯能力比 BA 更有效⁽¹⁷⁾。PP₃₃₃ 作为一种强力的植物生长抑制剂, 在 0.1mg / L 时试管薯形成达最大值, 随着浓度的提高, 块茎数减少, 高浓度的 PP₃₃₃ 抑制微型薯的形成⁽⁹⁾。

王军认为, 只要诱导结薯的环境条件适宜, 植物体能够合成足够的内源激素或结薯刺激物, 那么, 任何外源生长调节物质都可以取消⁽³⁾。笔者同意这个观点, 但是为了缩短试管内结薯时间, 提高块茎的重量; 应用外源诱导剂还是必要的, 它能加速试管薯的形成与发育, 提高工厂化周年生产率。

1.4 碳源

做为碳源的供体, 蔗糖和葡萄糖在有BA参与时对块茎形成的诱导效果较好, 而麦芽糖几乎无作用⁽¹⁸⁾。通过蔗糖、葡萄糖、果糖和甘露糖、甘露醇不同浓度(4%~12%), 对马铃薯体外结薯影响的比较发现, 蔗糖对获得一定大小和数量的块茎, 最佳浓度为8%, 所有浓度的葡萄糖、果糖都只能诱导产生较小的块茎, 甘露糖和甘露醇不能诱导结薯⁽¹⁹⁾。高浓度的蔗糖(6%~10%)是试管薯诱导过程中必不可少的条件, 它有调节渗透压的功能, 更重要的是提供块茎形成时所需的足够的碳源。蔗糖对试管薯形成的诱导作用机理仍不清楚。Fung Mcilo等报道, 使用高浓度(12%)蔗糖, 能诱导体外结薯, 当碳源水平提高时, 体外结薯过程加快, 认为培养基的渗透压不是块茎诱导和生长的关键因子。但 Moorby教授讲(私人谈话), 高浓度蔗糖主要是起提高培养基渗透压的作用, 在他的实验室里, 用2%的蔗糖作碳源, 并用甘露醇将培养基的渗透压调到与8%蔗糖同样时, 能得到相同的诱导结薯效果。

1.5 环境因素

1.5.1 温度

低温可诱导马铃薯块茎形成, 高温可以完全抑制块茎的形成, 但这种温度效果可被一些生长调节剂所逆转, 温度对块茎的诱导或抑制作用和内源激素的平衡有关。15℃以下不能诱导结薯, 35℃以上结薯过程被彻底抑制, 短照和低温, 特别是夜间低温, 可促

进离体植株的块茎形成, 昼夜有温差变化, 有利于块茎的形成, 以晚间20℃, 白天25℃为最适⁽¹⁰⁾。

1.5.2 光照

早期试管薯诱导成功的报道表明, 在试管薯诱导期需要黑暗的条件^(2,5,12,16), 认为黑暗能促进试管薯的形成。黑暗虽能诱导结薯, 但却导致试管苗的黄化, 而不利于提高微型薯的产量⁽³⁾, Red Pontiac和Shepody两个马铃薯品种, 在8小时光照下产生的试管薯鲜重超过全黑暗处理所产生试管薯鲜重的两倍以上, 块茎形成的百分率相近似⁽²⁰⁾。马铃薯品种米拉, 在8小时光照处理下, 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⁽²¹⁾。笔者认为在试管薯诱导过程中, 给予短日照的光照, 虽能增加单薯重, 但结薯时间明显延长, 这对于加快繁殖率的工厂化生产不利, 且能源消耗大, 成本会相应增高。

2 试管薯的应用

2.1 降低生产成本

为了使试管薯能大量推广和应用, 必须尽可能的降低生产成本。降低试管薯的生产成本, 主要从两个方面进行, 即降低能耗, 简化培养基。

节能培养室能充分利用自然光能源, 降低能耗。这种培养室光照可达3000Lx以上, 且昼夜温差较大, 有利于试管苗生长。在北京, 春秋季向阳面室温在15℃~25℃, 夏季向阳面要遮荫, 背阳面室温在25~30℃, 冬季只需加温, 可节省大量能源, 降低成本⁽²²⁾。试管苗培养及试管薯诱导全部改用液体培养, 简化生产程序, 用食用白糖代替蔗糖, 用软化后的自来水代替蒸馏水, 不影响试管薯诱导的产量和质量。

通过这一系列的降低成本措施, 可使试管薯成本接近于扦插苗的成本, 且比扦插生产小薯的质量高。

2.2 休眠及发芽

几乎所有基因型的试管薯都有很长的休眠期, 一般为 2~5 个月。生产中最好用自然通过休眠的试管薯。这样的芽健壮利于成活。也可以用人工方法打破休眠, 1% 硫尿、1% KNO_3 5mg / L GA 浸种及用 9% 2-氯乙醇或 R.S (氯乙醇、二氯乙烷、四氯化碳按 7:3:1 体积比混合液) 熏蒸, 均可打破休眠。

2.3 工厂化生产

1988 年, 在广东省中山市建立了我国第一家试管薯生产工厂, 年产 400 万粒试管薯^[23,24]。取得了很好的经济及社会效益。试管薯工厂化生产的优点是, 不受气候影响, 可全年大规模生产, 不受病虫害干扰, 可保证种薯质量, 易贮藏运输, 成本低, 生产周期短, 繁殖系数高, 推广快, 有很大的发展潜力。

参 考 文 献

- 王春林, 程庆天. 利用试管薯快速繁殖马铃薯. 马铃薯杂志, 1992, 6 (2): 82~85
- 连勇, 杨宏福, 金黎平等. 提高北京马铃薯二季作区种薯质量的技术措施. 北京农业科学, 1994, 12 (4): 15~19
- 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, 呼和浩特, 1992: 9~15
- 连勇, 东惠茹, 杨宏福等. 几种植物生长延缓剂对马铃薯试管苗生长发育的影响. 中国科协第二届青年学术年会园艺学论文集, 北京农业大学出版社, 1995: 482~485
- John H Dodds, Pilar Tovar, Ranesh chandra, Diego Estrella and Rolando Cabello. Asian Potato Association Proceedings. Kunming China June 12~26, 1988: 157~158
- 郭得平, 应振士, Shan G A. 植物激素与马铃薯块茎形成. 植物生理学通讯, 1991, 27 (2): 130~133
- Krauss A and H Marschner. Potato Research. 1982, 25: 13~21
- 胡云海, 蒋先明. 氮源对马铃薯微型薯的影响. 马铃薯杂志, 1991, 5 (4): 199~203
- 胡云海, 蒋先明. 植物激素对微型薯形成的影响. 马铃薯杂志, 1992, 6 (1): 14~22
- Hussey G and Stacey N J. Factors affecting the formation of *in vitro* tuber of potato. Annals of Botany, 1984(6), 53: 565~578
- 王军, 王家旺. 马铃薯气生块茎的诱导. 植物生理学通讯, 1984 (6): 35~38
- 张婉顺等. 马铃薯试管薯诱导因子最佳组配的研究. 马铃薯杂志, 1990, 4 (4)
- 柳俊, 谢从华, 黄大恩等. BA 对试管块茎形成与膨大的影响. 马铃薯杂志, 1995, 9 (1): 7~11
- Pilar Tovar, Rolando Estrada, Lieselotte Schilde-Rentschler, and John H Dodds. Induction and use of *in vitro* potato tubers. Circular 1985, 13(4)
- Sattel B macher 等. 王军译. 矮壮素在马铃薯上的应用. 马铃薯, 1981 增刊 47~50
- 冉毅东, 王蒂, 戴朝曦. 用组织培养法诱导试管微型薯的研究. 马铃薯杂志, 1991, 5 (4): 193~198
- 何静波, 彭丽萍, 万勇等. 一种有利于诱导马铃薯试管薯试管结薯的化合物——比久. 中国马铃薯和甘薯合作研究进展. 中国农业科技出版社, 1990: 206~209
- 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
- Chandra R. IAPTC's News Letter. 1988(55): 19~20
- Slimmon T, V Souza Machado and R Coffin. The effect of light on *in vitro* microtuberization of potato cultivars. American Potato Journal, 1989, 66: 843~847
- Li Canhui and Wang Jun. The influence of light intensity on *in vitro* tuberization of potato. Potato and Sweet Potato Research in China 1990 CAAS and CIP Region VIII Beijing 78~83
- 王玉英, 高新一. 节能培养室. 植物杂志, 1983, (2): 12
- 李宝庆, 郑妙娟, 罗锡金等. 大规模试管薯生产的一个范例. 中国马铃薯和甘薯合作研究进展. 中国农业科技出版社, 1990: 191~195
- 李宝庆, 郑妙娟, 罗锡金. 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, 呼和浩特, 1992: 38~41