

培育健壮马铃薯试管苗试验

金顺福 姜成模 崔哲官 崔永一

(吉林省延边农业科学研究所 龙井市 133400)

摘要

我们在马铃薯茎尖脱毒和试管苗繁殖过程中发现, 马铃薯试管苗生长细弱、茎叶嫩黄与带有高浓度的马铃薯纺锤块茎类病毒 (PSTV) 及几种主要马铃薯病毒有关。用双向聚丙烯酰胺凝胶电泳法和酶联夹心法检测筛选出无病毒的试管苗作为试材, 排除类病毒和病毒侵染的干扰, 以提高培养基中营养元素含量作为培养健壮试管苗的措施, 试验结果表明, 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。

关键词 马铃薯, 试管苗, MS·培养基

1 前言

吉林省马铃薯种植面积约100多万亩, 但因种薯退化, 每年都要从黑龙江省调进大量种薯, 其数量和质量还是难以满足需要, 严重影响我省马铃薯生产的发展。近年来, 我们利用组织培养技术进行马铃薯茎尖脱毒和快速繁殖脱毒苗, 建立了脱毒种薯繁育体系, 已开始批量生产脱毒种薯。马铃薯苗在试管培养条件下, 常出现生长细弱, 茎叶嫩黄, 导致移栽成活率低等问题。古巴诺娃等⁽¹⁾报道, 乌鲁木齐市栽植的马铃薯试管苗常年成活率不到一半, 个别年份几乎全部死亡。李玉巧等⁽²⁾报道, 适宜浓度的PP₃₃₃单独使用或与BA和GA₃联合使用有促进培育健壮试管苗的效果。我们在检测筛选马铃薯试管苗携带PSTV和几种主要马铃薯病毒的过程中发现, 马铃薯试管苗的健

壮程度与是否带有PSTV和其它病毒及其浓度的高低有关。因此, 检测筛选出的不带PSTV和病毒的试管苗, 经切段繁殖后作为供试材料, 从培养基的营养元素含量及固体和液体培养方式方面, 探讨其对培育健壮试管苗和加速继代培养周期的作用。

2 材料和方法

2.1 试验材料

马铃薯脱毒试管苗为我室脱毒的早熟品种克新4号和晚熟品种克新2号。采用了双向聚丙烯酰胺凝胶电泳法⁽³⁾ (Bidirectional Electrophoretic Technique) 和酶联双抗体夹心法 (Double Antibody Sandwich Technique) 检测试管苗, 选取不带PSTV和主要马铃薯病毒的试管苗, 切段繁殖, 作为试验材料。

2.2 培养条件

培养温度白天为 25℃, 夜间为 18℃, 光照强度 1 500lux 左右, 每天光照 14 小时。

2.3 试验方法

将供试的试管苗剪成带一片嫩叶的 0.5~1cm 长的茎段, 接种在各处理的新鲜培养基上培养, 每个处理接种了 40 个试管 (18×180mm), 每管接种 3 株。试验用 MS 培养基, 加蔗糖 30g/l, 琼脂 8g/l。固体培养基每管加入培养基 6ml; 液体培养基每管加入培养基 (不加琼脂) 2ml。

每一处理重复 4 次, 接种后 5、10、15 天, 从各处理中随机抽取 10 管试管苗测定苗高、茎粗、叶数、根长、根数、苗鲜重及烘干重等。

试验共有六种处理: ① M₁: 1/2 浓度的 MS 液体培养基; ② M₂: MS 液体培养基; ③ M₃: 2 倍的 MS 液体培养基; ④ m₁: 1/2 浓度的 MS 固体培养基; ⑤ m₂: MS 固体培养基, 以本处理为对照 (CK); ⑥ m₃: 2 倍的 MS 固体培养基。

3 结果与分析

3.1 不同营养元素含量培养基和培养方式对试管苗生育的影响

早熟品种克新 4 号和晚熟品种克新 2 号在液体和固体两种不同培养方式和不同营养元素含量培养基培养条件下, 其植株生育和干物质累积状况列于表 1。

表 1 不同营养元素含量培养基和培养方式对试管苗生育的影响

品种	处理	苗高 (cm)	茎粗 (mm)	叶数 (个)	根长 (cm)	根数 (个)	鲜重 (mg)	干物重		液、固体处理平均干重	
								mg	对照%	mg	对比%
克新 4 号	M ₁	9.1	0.8	6.2	2.8	4.4	65.8	5.0	94	29.1	212
	M ₂	7.9	0.9	7.2	3.6	5.7	83.6	7.3	138		
	M ₃	9.6	1.3	9.6	4.9	5.9	197.0	16.8	317		
	m ₁	6.2	0.7	5.2	4.4	3.2	47.1	3.5	66	13.7	100
	m ₂ (ck)	5.8	0.8	5.6	4.5	3.7	61.7	5.3	100		
	m ₃	4.2	0.9	6.2	3.5	3.9	54.5	4.9	92		
克新 2 号	M ₁	7.5	0.9	6.4	2.3	7.3	62.0	5.4	87	26.7	161
	M ₂	6.7	0.9	6.5	5.6	4.8	81.7	8.1	131		
	M ₃	7.9	1.2	8.7	3.1	6.0	158.6	13.2	213		
	m ₁	6.0	0.7	5.4	3.6	5.3	51.7	3.7	60	16.6	100
	m ₂ (ck)	6.4	0.9	6.5	4.4	6.6	74.6	6.2	100		
	m ₃	5.1	0.9	7.2	3.2	6.0	77.1	6.7	108		

注: 接种后 15 天调查

表 1 中列举的资料说明, 马铃薯植株在试管培养条件下, 其植株生育随着培养基中大量营养元素的增加其生长势和干物质累积也增高; 尤以在液体培养时这种趋势更为明显。MS 培养基是一种营养元素含量高的培养基, 但仍不能满足马铃薯试管苗生育的需

要。从液体和固体两种不同培养方式来看, 在液体培养条件下的植株对营养元素的摄取和液体培养基对营养元素的传递和供应状况明显优于固体培养。M₃ 培养基中的营养元素比 M₂ 培养基高一倍, 其植株干重也增高接近一倍; 而固体培养基的 m₃ 和 m₂ 处理

的植株干重则相差不多。M₂培养基和 m₂培养基的营养元素浓度相同(液体培养基每试管只装入 2ml, 每管的绝对含量比固体培养基少), 但前者的植株干重却比后者高

30%以上。早熟品种克新4号和晚熟品种克新2号各个处理的试管苗的生育表现均呈一致的趋势(见图)。

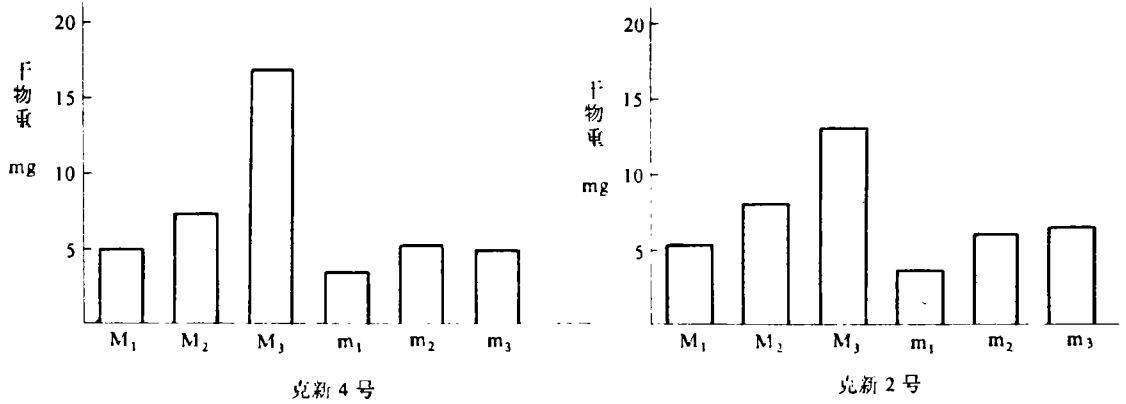


图 处理间干物质累积比较 (接种后 15 天)

表 2 不同营养元素含量培养基和培养方式对试管苗生育速度的影响

品种	处理	接种 5 天后			接种 10 天后			接种 15 天后		
		鲜重 (mg)	与 ck %	液体对固体培养的 %	鲜重 (mg)	与 ck %	液体对固体培养的 %	鲜重 (mg)	与 ck %	液体对固体培养的 %
克新 4 号	M ₁	9.2	75		25.7	71		65.8	107	
	M ₂	15.2	124	150	54.6	152	149	83.6	135	212
	M ₃	18.5	150		43.0	119		197.0	319	
	m ₁	7.1	58		25.0	69		47.1	76	
	m ₂ (ck)	12.3	100	100	36.0	100	100	61.7	100	100
	m ₃	9.2	75		21.7	60		54.5	90	
克新 2 号	M ₁	10.8	83		17.0	60		62.0	83	
	M ₂	16.6	128	120	33.3	118	115	81.7	110	149
	M ₃	20.4	157		42.3	149		158.6	213	
	m ₁	12.0	92		24.1	85		51.7	69	
	m ₂ (ck)	13.0	100	100	28.3	100	100	74.6	100	100
	m ₃	14.8	114		28.3	100		77.1	103	

3.2 不同营养元素含量培养基和不同培养方式对试管苗生长速度的影响

我们的脱毒马铃薯良种繁育体系的具体做法是应用网室栽植试管苗生产原原

种, 然后在种薯基地逐级繁殖。常规繁殖试管苗的方法是应用了 MS 固体培养基, 每 3~4 周继代繁殖一次, 每繁殖一次试管苗数可增殖 5 倍。培育健壮试管苗缩短繁殖周期, 对完成每年的原原种生产计划至关重要, 应用 2 倍 MS 液体培养基继代繁殖试管苗, 不仅可以加速试管苗的生育, 而且能培育出健壮的试管苗, 把继代繁殖周期从 3~4 周缩短到 2~3 周。

从表 2 看出, 用 2 倍 MS 液体培养基培养的试管苗的生长速度明显高于 MS 液体培养基, 如接种后第 5 天, M₃ 处理的植株鲜重比 M₂ 处理高 20% 以上, 接种后第 10 天也呈同一趋势(克新 4 号品种的植株鲜重数值表现不规律, 可能是取样误差), 到第

15 天, 前者的植株鲜重比后者高出一倍; 而在应用固体培养基时, 增加培养基中的营养元素含量就反应不出这种趋势。早熟品种克新 4 号和晚熟品种克新 2 号的相同处理表现出相似的趋势。

3.3 前代高营养元素含量液体培养基培育的壮苗在继代培养中的表现

繁殖一定数量的试管苗, 要经过 3~4 代继代培养, 其中任何一代试管苗的健壮程度都会影响到下一代试管苗的生长发育。在本试验中, 用 2 倍 MS 液体培养基的 M₃ 处理和 MS 固体培养基 m₂ 处理的试管苗, 继代培养在相同的 MS 固体培养基中, M₃ 处理的继代苗生育健壮、浓绿, 其植株鲜重比 m₂ 处理的继代苗高 66%。

表 3 前代高营养元素含量的液体培养基培育的壮苗在继代培养中的表现

品种	前代处理	各试管苗(每管 3 株)的鲜重 (mg)										平均	%
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
克新 2 号	M ₃	270	360	225	150	285	165	285	150	330	210	243	166
	m ₂ (ck)	135	225	75	210	165	225	120	105	105	90	146	100

注: 接种 3 周后取样调查

基于上述试验结果, 我们采用在繁殖一批试管苗的 3~4 个继代培养期间把其中一或两次继代培养改为应用 2 倍 MS 液体培养方法。这不仅促进了试管苗的苗壮生长, 而且提高了试管苗的繁殖速度。

4 讨 论

几年来, 在茎尖脱毒(国内各地引进的试管苗, 微型薯和从南韩等国引进的种薯)和试管苗繁殖过程中发现, 马铃薯试管苗的生长势与带有 PSTV 和几种主要马铃薯病毒及其浓度高低有极为密切的关系。一般带有高浓度的类病毒、病毒的试管苗植株纤

细, 生长衰弱, 甚至在继代培养中干枯死亡。王军(1992)报道, 马铃薯试管苗在继代培养两年后带有高比率的几种主要马铃薯病毒。连勇^[4]报道, 同一品种不同株系的试管苗, 有的健壮, 有的细弱; 在相同培养基和诱导容器结薯条件下, 不同株系的结薯率和薯重差异很大。我们认为, 试管苗带有高浓度的 PSTV 和几种主要马铃薯病毒是试管苗在继代培养过程中生长衰弱、发育不良的一个重要原因。

我们所用的试验材料克新 2 号和克新 4 号试管苗, 先经类病毒和主要马铃薯病毒检测筛选, 证实不带类病毒和几种主要马铃薯病毒后, 再继代繁殖作为供试材料, 以排除

PSTV 和病毒对试验的干扰。从试验结果看出, MS 培养基是一种营养元素含量高的培养基, 但增加营养元素含量以 2 倍 MS 液体培养基进行继代培养时, 即使在接种培养初期, 也加速了试管苗的生长, 促进其健壮发育, 而且使继代培养时间缩短了一周。因此, 在计划繁殖一定数量的试管苗, 需要 3~4 代继代培养时, 其中 1~2 次继代培养可以应用 2 倍的 MS 液体培养基, 这对培育健壮试管苗和提高栽植成活率具有十分重要的意义。

参 考 文 献

- 1 古巴诺娃等. 试管马铃薯的非病毒退化. CIP第8地区中国马铃薯种薯生产学术讨论会交流材料, 呼和浩特, 1992
- 2 李玉巧等. PP₃₃₃, GA₃和BA对马铃薯试管苗生长调节作用的研究. 作物学报, 1994, 20 (1) 59~60
- 3 姜成模等. 准确、简易的检测马铃薯纺锤块茎类病毒的双向聚丙烯酰胺凝胶电泳技术. 马铃薯杂志, 1994, 8 (4): 218~221
- 4 连勇. 马铃薯脱毒快繁技术. 马铃薯组织培养脱毒快繁培训班交流材料, 北京, 1995

CULTURING VIGOROUS POTATO PLANTLETS

IN VITRO

Jin Shunfu, Jiang Chengmo, Cui Zheguan and Cui Yongyi

(Yanbian Agricultural Research Institute, Longjing city, 133400)

ABSTRACT

During the period of potato meristem culture and propagation of potato plantlets cultured *in vitro*, we found that, plantlets infected with potato spindle tuber viroid and potato common viruses showed leggy and feeble growth and yellowish leaves. In order to avoid the interference of viroid and viruses, pathogen free potato plantlets have been identified by the methods of bidirectional electrophoresis and enzyme-linked immunosorbent assay. The experiment was carried out to study the effects of nutrient content of medium on the vigorous growth of the pathogen free plantlets cultured *in vitro*.

The results showed that the plantlets cultured in liquid Murashige and Skoog's medium containing double nutrient contents were vigorous and dark green; the medium could promote the accumulation of dry matter; the subculture period could be reduced from 3~4 weeks to 2~3 weeks.

KEY WORDS: potato, plantlets *in vitro*, MS medium