

氮源对马铃薯微型薯的影响

胡云海 蒋先明

(武汉市蔬菜技术推广站) (山东农业大学)

摘 要

本文报道不同氮素来源对马铃薯微型薯形成的影响。结果表明： NO_3^- -N 浓度与成薯指数呈直线负相关关系； NH_4^+ -N 浓度与成薯指数呈二次抛物线形式； NO_3^- -N/ NH_4^+ -N 比值对微型薯形成的影响呈双曲线形式；当总氮浓度在 30~40mM 时，成薯指数有较大值；降低 NO_3^- -N/ NH_4^+ -N 比值或总氮含量有利于微型薯的形成。 NO_3^- -N 与 NH_4^+ -N 的最佳组合为 $[\text{NO}_3^-\text{-N}] = 17.325\text{mM}$ ， $[\text{NH}_4^+\text{-N}] = 16.612\text{mM}$ 。

1 前 言

马铃薯微型薯 (microtuber) 是脱毒试管苗进一步发展的一种新形式, 1988 年 D. E. Vander Zaag 首次明确提出了微型薯的定义, 即用组织培养的方法于培养容器中培养小苗, 通过诱导, 于叶腋内所形成的小薯, 其直径在 2~10 毫米之间, 这与人们通常所谓的“微型薯” (minituber) 区别开来 (即试管苗在温室或荫棚内的消毒土壤中种植形成的小薯, 其直径在 10~20 毫米之间)^[1,2]。目前苏联、美国、荷兰、爱尔兰、秘鲁和台湾等国家和地区都在研究和利用这种微型薯, 并且以此生产出了大量的高质量超原种。它除具有试管苗的所有优点外, 还具有许多其它特点^[3], 这里不再赘述。目前国内有一些关于微型薯 (microtuber) 的研究和报道^[3,4,5,6,7], 作者将近几年来的研究整理成文, 陆续发表。本文将研究氮源对微型薯

形成的影响。

氮素作为植物营养的三要素之一, 在植物微体繁殖培养基中占有极其重要的地位, 国际马铃薯中心 (CIP) 的 John. H. Dodds 及 Pilar Tovar 等人研究发现: 当用 Gamberg 培养基取代 MS 培养基来诱导微型薯形成时, 其效果比 MS 的要好^[1], 他们认为可能是低的氮素含量引起的, 但没有足够的材料证明这一点, 而且究竟是由于低的总氮含量 (MS 的总氮为 60mM; Gamberg 的总氮为 26.78 mM) 引起还是由于高的 NO_3^- -N 与 NH_4^+ -N 比值 (MS 为 1.9:1; Gamberg 为 12.19:1) 引起均不清楚, 故本试验作了进一步研究。

2 材料和方法

试验用“泰山 1 号”的脱毒试管苗作材料, 以 MS 为繁殖培养基, 每个三角瓶 3 个单茎节 (培养条件为光照 2000lx, 16 小时, 25℃), 培养 30 天后进行诱导液处理, 诱导

向协助工作的陈利平同志致谢

液为 MS (不含 NH_4NO_3 、 KNO_3) + 10ppm BA + 10%蔗糖 + 氮素处理。

试验采用“206”二次饱和最优设计^[1], 将 P、K、Ca、Mg 等营养元素保持在 MS 培养基的浓度水平, $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 和 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 的上限为高于 MS 用量的 10%, 下限定为低于 Gamborg 的 30% 用量, 共 6 个处理 (见表 1、表 2), 每处理 10 瓶, 每瓶诱导液 20 毫

升, 无菌处理后转入 20℃ 黑暗中诱导, 1 个月 后统计微型薯个数 (N), 测量块茎直径 (D) 和重量 (W)。由于薯数不能完全反映 可被利用的充实块茎数, 特提出一个综合指 标, 即成薯指数 (IP) = $N \cdot W \cdot D$ (其中 W 一 克或毫克, D 一厘米或毫米, N 一块茎 数/瓶), 它同时反映了微型薯形成的个数、 大小及充实程度。

表 1 氮素二次饱和最优设计

处 理	编 码	值	$\text{NO}_3^- - \text{N}$ (mM)	$\text{NH}_4^+ - \text{N}$ (mM)	$\text{NO}_3^- - \text{N} / \text{NH}_4^+ - \text{N}$	TN
1	-1	-1	17.325	1.421	12.19:1	18.746
2	+1	-1	43.38	1.421	30.53:1	44.801
3	-1	1	17.325	22.69	0.76:1	40.64
4	-0.1315	-0.1315	26.361	10.470	2.52:1	36.831
5	1	0.3945	43.38	16.811	2.58:1	60.191
6	0.3945	1	42.327	22.69	1.86:1	65.017

表 2 氮素二次饱和最优设计实际用量 (mg/l)

处 理	1	2	3	4	5	6
NH_4NO_3	113.680	113.680	1388	1834.600	1344.880	1815.200
KNO_3	1606.304	1900.012	—	1604.991	1900.012	1900.012
NaNO_3	—	1967.73	—	—	659.345	155.125
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	—	—	852.41	—	—	—
K_2SO_4	255.904	—	1635.456	257.048	—	—

注: 为保持培养基中离子浓度的稳定, 过多的 NO_3^- 用 NaNO_3 调整, NH_4^+ 用 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 来调整, K^+ 用 K_2SO_4 来调整

3 结果与讨论

试验结果如表 3。

$$Y_{IP} = 1.210 - 0.017x_1 + 0.263x_2 - 1.61 \times 10^{-5}x_1^2 - 6.84 \times 10^{-4}x_2^2 - 0.002x_1x_2$$

以方程的理论值与测定的实际值作方差分析得 $F = 4.225 < F_{0.05} (1, 5) = 5.120$, (按无重复下计算) 差异不显著, 即理论值与实际值相吻合, 理论值列于表 3 中。根据

试验数据由 PC-1500 型计算机按程序进行统计计算, 经回归分析得到二次回归方程:

实验结果及方程, 我们可以进一步得到 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 、 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 、 $\text{NO}_3^- - \text{N} / \text{NH}_4^+ - \text{N}$ 以及总氮对微型薯形成的影响。

表 3 氮素试验 D-206 最优设计实验结果

处 理	个数(N)	直径 (mm)	重量(g)	IP (实)	理论值
1	2.2	4.92	0.115	1.24	1.245
2	2.1	4.51	0.074	0.70	0.694
3	3.57	5.26	0.138	2.59	2.584
4	3.0	5.49	0.130	2.14	2.137
5	3.0	4.90	0.162	1.50	1.498
6	2.56	5.09	1.169	1.40	1.410

(统计数为每 10 瓶的平均数)

3.1 NO₃⁻-N 浓度对微型薯形成的影响

从图 1 中可以看出, 在所试浓度范围内, NO₃⁻-N 对微型薯形成的影响呈直线负相关关系。当 NO₃⁻-N 浓度为 17.325mM 时 IP 值最大, NO₃⁻-N 浓度为 43.380 mM 时 IP 值最小。同时 NO₃⁻-N 对 IP 值的影响又受 NH₄⁺-N 浓度的控制, 当 NH₄⁺-N 浓度增加时, NH₄⁺-N 的作用也加强, NH₄⁺-N 浓度达到一定程度后 (如图中 NH₄⁺-N 浓度

为 16.811mM 时), NO₃⁻-N 的作用又下降。

3.2 NH₄⁺-N 对微型薯形成的影响

从图 2 中可以看出, 在所试浓度范围内 NH₄⁺-N 对微型薯形成的影响呈二次抛物线

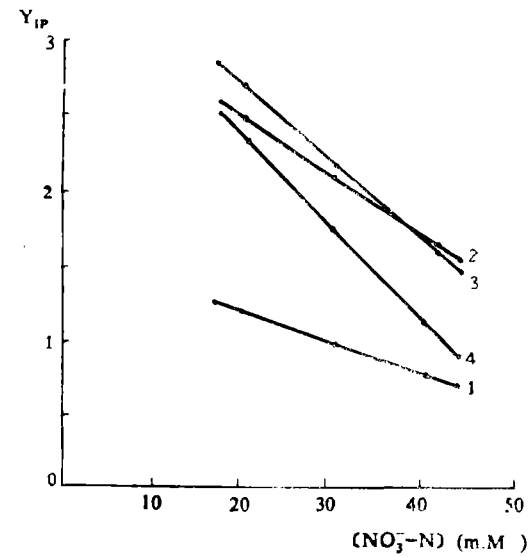


图 1 NO₃⁻-N 浓度对微型薯形成的影响
注: 图中各条曲线表示 NH₄⁺-N 浓度分别固定后 IP 随 NO₃⁻-N 浓度的变化
1. [NH₄⁺-N] = 1.421mM 2. [NH₄⁺-N] = 10.47mM
3. [NH₄⁺-N] = 16.81mM 4. [NH₄⁺-N] = 22.67mM

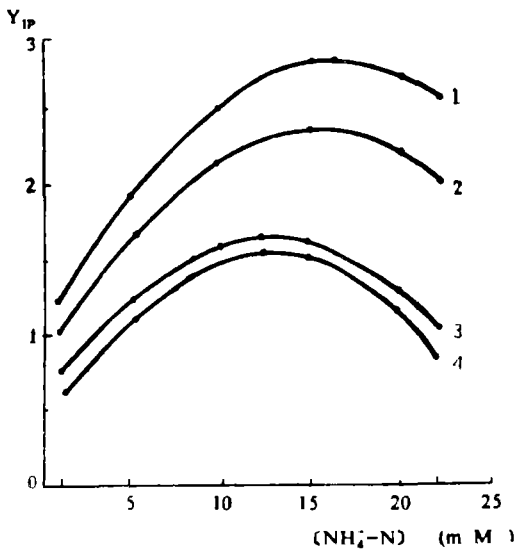


图 2 NH₄⁺-N 浓度对微型薯形成的影响
注: 图中各条曲线表示 NO₃⁻-N 浓度分别固定后 IP 随 NH₄⁺-N 浓度的变化
1. [NO₃⁻-N] = 17.325mM 2. [NO₃⁻-N] = 26.361mM
3. [NO₃⁻-N] = 42.327mM 4. [NO₃⁻-N] = 43.38mM

形式变化, 随着 NH₄⁺-N 浓度的增加, IP 值也增加, 当 NH₄⁺-N 增加到一定浓度时, IP 值达到最大, 随后又开始下降, 同时 NH₄⁺-N 的作用效果又受 NO₃-N 浓度的制

约, 当 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 浓度增加时曲线下降, 说明 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 作用效果减弱, 同时IP极大值下降, 达到极大值时的 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 浓度前移。曲线1的极值点为 $x = 16.612$, $y = 2.830$; 曲线2的极值点为 $x = 15.257$, $y = 2.375$; 曲线3的极值点为 $x = 12.862$, $y = 1.625$;

曲线4的极值点为 $x = 12.704$, $y = 1.5877$ 。

3.3 $\text{NO}_3^- - \text{N}/\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 比值对微型薯形成的影响

试验结果列于表4中。

表 1 $\text{NO}_3^- - \text{N}/\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 比值对微型薯形成的影响

比 值	0.76	1.86	2.52	2.58	12.19	30.53
N (个/瓶)	3.571	2.56	3.0	3.0	2.2	2.1
IP值	0.259	0.14	0.214	0.15	0.124	0.07

从表中可以看出, $\text{NO}_3^- - \text{N}/\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 比值以0.76最好, 而30.53时最差, 因此, 较低的 $\text{NO}_3^- - \text{N}/\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 比值有利于微

型薯形成。上述结果可以很好地用双曲线方程进行拟合:

$$Y_1(\text{N个数/瓶}) = x/(0.285 + 0.484x), R = 0.9873^{**},$$
$$Y_2(\text{IP}) = x/(-24.957 + 14.4661x), R = 0.9998^{**}$$

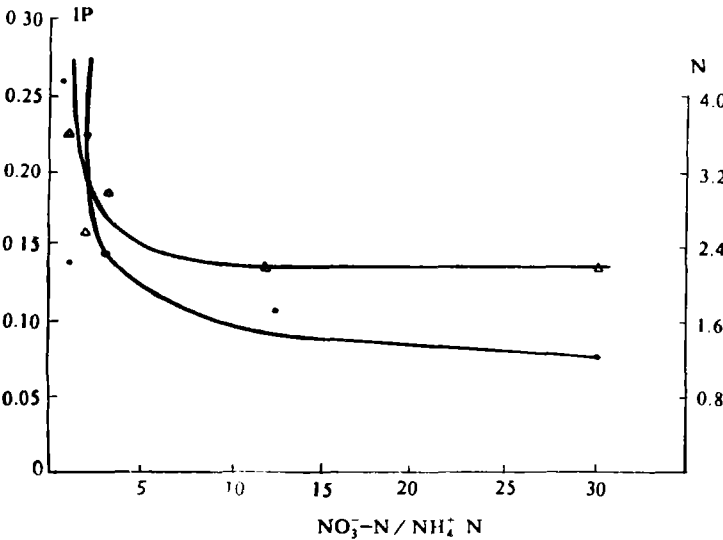


图 3 $\text{NO}_3^- - \text{N}/\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 比值对微型薯形成的影响
注: $\bullet$ 表示 IP 值 $\triangle$ 表示 N 值

这说明 $\text{NO}_3^- - \text{N}/\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 比值的增加, 其作用效果呈双曲线形式极显著地递减 (如图3)。

3.4 总氮量对微型薯形成的影响

从图中可以看出, 随着总氮量的增加,

IP 增加, 总氮浓度在30~10mM时IP达最大值 (IP=2.59), 这比MS的总氮浓度要低, 而比Gamberg的总氮浓度要高。继续增大总氮量, 曲线开始下降, 后面又出现一个小高峰。我们认为这个小高峰可能是试验误差造成的, 在所试浓度水平上对微型薯形成的

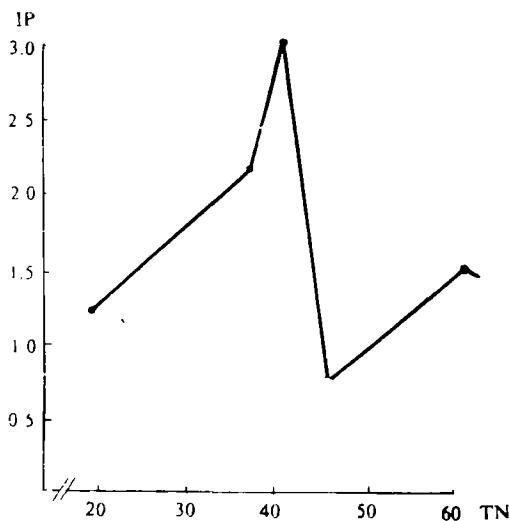


图4 总氮量对微型薯形成的影响

影响达极显著水平。

综上所述, 较低的总氮 (T_N) (相对于MS) 和较低的 $\text{NO}_3^- - \text{N} / \text{NH}_4^+ - \text{N}$ 比值有利于微型薯的形成。这可能是降低氮素含量特别是减少 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 含量有利于营养物质向腋芽运输和转化, 但其机理有待进一步研究。其理论最佳组合为 $[\text{NO}_3^- - \text{N}] = 0$, $[\text{NH}_4^+ - \text{N}] = 19.211\text{mM}$, 即 $\text{NO}_3^- - \text{N} / \text{NH}_4^+ - \text{N} =$

0, $T_N = 19.211\text{mM}$, 此时 $\text{IP} = 3.766$, 但这个组合不符合实际情况, 因为如果不加入 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 而只用 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$, 过高的 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 浓度就会产生氨害, 反而不利于形成微型薯, 而且成薯的质量也可能不高。在本实验范围内, $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 与 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 浓度的最佳组合为: $[\text{NO}_3^- - \text{N}] = 17.325\text{mM}$, $[\text{NH}_4^+ - \text{N}] = 16.612\text{mM}$, 即 $\text{NO}_3^- - \text{N} / \text{NH}_4^+ - \text{N} = 1.043$, $T_N = 33.937\text{mM}$, 此时 $\text{IP} = 2.840$ 。

参 考 文 献

- 1 Vander Zaag D E. Recent trends in development production and utilization of potato crop in the world. APA proceedings, 1988, 12~19
- 2 曲仁山. 马铃薯微型薯的研究. 辽宁农业科学, 1987, (2): 18~20
- 3 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
- 4 王军. 马铃薯气生茎的形成. 植物生理学通讯, 1984, (6): 35~38
- 5 王军等. 马铃薯试管薯诱导方法的改进. 云南植物研究, 1988, 10(4): 396~402
- 6 李其文. 台湾在玻璃容器内批量繁殖块茎及无毒种薯生产. 马铃薯科学, 1983, 1: 67~69
- 7 Dodds J.H. *et al.* Improved methods for *in vitro* tubers in seed programs. APA proceedings, 1988, 157~158
- 8 丁希泉. 农业应用回归设计. 吉林科学技术出版社, 1986

THE EFFECT OF NITROGEN ON POTATO MICROTUBER

Hu Yunhai and Jiang Xianming

(Shandong Agricultural University)

ABSTRACT

The effect of different kinds of nitrogen on the formation of potato microtuber was studied in this report. The results were obtained as follows: There was a negative linear dependence between the concentration of $\text{NO}_3^- - \text{N}$ and the index of producing (IP). The effect of $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ on IP followed quadratic curve. The value of $\text{NO}_3^- - \text{N} / \text{NH}_4^+ - \text{N}$ affected the formation of microtuber fitting for hyper-

(下转 238 页)

个多基因簇, 每单倍体基因组由10~15个基因编码, 这10~15个基因也位于第8染色体的长臂上, 但类型Ⅰ和类型Ⅱ各约50%左右, 在第3染色体中部也有1个类型Ⅰ基因。可见马铃薯蛋白基因在番茄和马铃薯基因组中的分布是一致的, 只是在第8染色体上基因的类型和拷贝数两者有差别, 类型Ⅰ基因拷贝数在马铃薯第8染色体的集中可能是在进化过程中发生的基因重排的结果。以上假说从生化机制上说明了块茎形成的可能的进化过程, 至于在形态上如何发展变化形成块茎这样一种贮藏器官, 有待于深入研究。这些问题无论在理论上和实际上都是有重大价值的。

由于马铃薯蛋白基因特别是类型Ⅰ基因及其启动子在器官特异性表达及蔗糖诱导表达中起着重要的作用, 这就为利用这些基因通过遗传工程方法改良马铃薯品种打下了基础。

马铃薯蛋白基因及其启动子在品种改良中的应用可从以下几方面考虑。

第一, 马铃薯块茎中蛋白质含量约占鲜重的2%, 其总蛋白中10%为马铃薯蛋白。马铃薯蛋白是由马铃薯蛋白基因编码的, 因而增加马铃薯基因组中马铃薯蛋白基因的拷贝数就可以合成更多的马铃薯蛋白, 从而提高块茎中蛋白质的含量。现在已经分离出了马铃薯蛋白基因, 并把它与 β -葡萄糖苷酸酶基因和新霉素磷酸转移酶基因连接, 再与 T_1 质粒双元载体共组, 转入农杆菌, 将此农

杆菌与马铃薯叶片或茎尖共培养就很容易将重组质粒中的马铃薯蛋白基因整合到马铃薯细胞基因组, 从而增加其拷贝数。

第二, 马铃薯蛋白基因的启动子是个活性很高的强启动子, 现在已经分离出了这个启动子, 同样把它与 β -葡萄糖苷酸酶报道基因和新霉素磷酸转移酶基因连接, 再与 T_1 质粒双元载体共组, 这是个理想的马铃薯遗传工程载体, 只要用特定的核酸内切酶切开, 连接上所需的外源基因(如高蛋白基因、某种必需氨基酸基因、脂肪及糖基因等), 用农杆菌转入马铃薯细胞, 马铃薯蛋白基因的启动子就能启动这些基因在块茎中高水平的表达, 从而改进和提高块茎的营养成分。

第三, 培育抗病虫的马铃薯品种。利用类型Ⅰ马铃薯蛋白基因启动子与某些能对病原菌和害虫有毒物质的基因(内毒素基因)重组, 转入马铃薯植株, 即可获得抗病、虫的马铃薯品种。内毒素基因可从细菌、真菌中分离, 如苏芸金杆菌的毒蛋白基因; 也可以从植物体本身提取, 如昆虫的胰蛋白酶抑制剂基因等。

总之, 运用遗传工程方法改良马铃薯品种是大有可为的。据报道, 美国学者计划在未来5年内培养出超级马铃薯, 这种马铃薯不仅含有营养完全的蛋白质、脂肪、糖等成分, 而且转入某种编码药物的多肽的基因, 还能治疗和预防疾病。为使我国的马铃薯生产提高到一个新阶段, 我们必须积极开展这方面的研究。

(上接203页)

bola curve. The value of IP was better when the total concentration of nitrogen was 30~40mM. The tuberization of microtuber can be enhanced by reducing the total nitrogen or decreasing the value of $\text{NO}_3^- - \text{N}/\text{NH}_4^+ - \text{N}$. The best combination was $(\text{NO}_3^- - \text{N}) = 17.325\text{mM}$ and $(\text{NH}_4^+ - \text{N}) = 16.612\text{mM}$.