

光照和培养基类型对马铃薯微型薯诱导结薯的影响^{*}

刘玲玲

(黑龙江省农科院克山农科所, 克山 161606)

摘要: 以克新 4 号、早大白脱毒试管苗为材料, 研究了光照和培养基类型对马铃薯微型薯诱导结薯的影响。结果表明: 全黑暗条件是诱导马铃薯微型薯的关键所在, 但不同品种在微型薯诱导中对光处理的反应也存在差异。不同类型的培养基对微型薯的诱导效果差异显著, 但不同的品种诱导效果不同。

关键词: 马铃薯微型薯诱导; 光照; 培养基

中图分类号: S 532 文献标识码: A 文章编号: 1002-2767(2004)06-0021-03

The Effect of Illumination and Medium Type on Potato Micro-tuber Inducement

LIU Ling-ling

(Keshan Agricultural Research Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, keshan 161606)

Abstract: Virus free potato seedlings from tubes: Kexin No.4 and Zaodabai were used as experimental materials. The effect of illumination and medium type on potato micro-tuber inducement were studied. The experimental results showed that it was key condition for inducing potato micro-tuber in all darkness, the different varieties for light treatment reaction had differences in micro-tuber inducement. There were significant differences in different types of media for the effect of micro-tuber inducement, the different varieties had different effects in micro-tuber inducement.

Key words: potato micro-tuber Inducement; illumination; medium

0 前言

早期试管微型薯诱导成功的报道表明, 在微型薯诱导期间需要黑暗的条件^[1~4], 认为黑暗能促进微型薯的形成。黑暗虽然能诱导结薯, 但却导致试管苗的黄化, 而不利于提高微型薯的产量, Red Pontiac 和 Shepody 两个马铃薯品种, 在 8 h 光照下产生的试管微型薯鲜重超过全黑暗处理所产生试管微型薯鲜重的两倍以上, 块茎形成的百分率相近似^[5]。马铃薯品种米拉, 在 8h 光照处理下, 微型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^[6]。在微型薯诱导过程中, 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, 成本会增高。

诱导马铃薯块茎形成的培养基主要以 MS 培养基为主, 作为碳源的供体, 蔗糖和葡萄糖在有 BA 参与时对块茎形成的诱导效果较好。通过蔗糖、葡萄糖、果糖和甘露糖、甘露醇不同浓度(4%~12%), 从对马铃薯体外结薯影响的比较中发现, 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

^{*} 收稿日期: 2004-07-13

作者简介: 刘玲玲(1974-), 女, 黑龙江省克山县人, 研究实习生, 主要从事马铃薯生物技术及科研管理工作。

的葡萄糖、果糖都能诱导产生较小的块茎, 甘露糖、甘露醇不能诱导结薯。MS 加 10%食用白糖或 MS 加 10%食用白糖再补一定浓度香兰素的液体培养基, 在黑暗条件下于室温 20~28℃培养, 可诱导试管内结薯。

1 材料与方法

1.1 试验材料

选用黑龙江省农业科学院小麦马铃薯研究所病毒室保存的克新 4 号、早大白的脱毒试管苗为供试材料。

1.2 试验方法

1.2.1 光照试验 把马铃薯克新 4 号、早大白脱毒试管苗在无菌条件下取其中部 3~4 节切断接种到盛有 30 mL 培养基的 100 mL 三角瓶中进行培养, 温度为 23±2℃, 每天光照 16h 获得基础苗。然后把三角瓶内繁殖的基础苗取出一片叶的单节茎段, 接种到装有附加 GA3、NAA、CCC 和白糖的液体 MS 培养基中, 每瓶接入 5 个茎段, 置于 2 000 Lx、16 h/d 光周期、25±1℃条件下培养 3 周长成壮苗, 然后在无菌条件下转入液体 MS 诱导结薯培养基(含 8%食用白糖), 并分别转入(I)全黑暗、(II)16 h/d 光周期(2 000 Lx)和(III)黑暗 1 周后转入自然光三种处理, 每个处理 6 瓶, 培养日数为 50 d, 培养温度 19±1℃。

1.2.2 培养基试验 把取得的马铃薯克新 4 号、早大白脱毒试管苗在无菌条件下剪成带一片叶的茎段, 转移到繁殖培养基(无激素的 MS 培养基, 3%蔗糖)上。用 100 mL 三角瓶培养, 每瓶加 30 mL 液体培养基, 接种 5 个茎段, 在 22±1℃、2 000 Lx 的连续光照下培养 3 周, 培育成 5 个壮苗, 分别转入三种不同的诱导培养基。

A 液体培养基(MS 盐+0.3 mg/L GA3+0.05 mg/L NAA+4 mg/L CCC+2.0%食用白糖), 培养 3 周后更换入液体诱导结薯培养基(MS 盐+8.0%食用白糖)。

B 固体培养基(A+0.6%琼脂), 培养 3 周后再转入固体诱导结薯培养基(MS 盐+8.0%食用白糖+0.6%琼脂)。

C 固液双层培养基, 即先把茎段接种在 B 培养 3 周后, 再在无菌条件下加入液体诱导结薯培养基(MS 盐+8.0%食用白糖)。

繁殖阶段均用 16 h/d、2 000 Lx 光照 3 周, 诱导结薯阶段均转入全黑暗、19±1℃条件下诱导培养 50d。以上处理均接种 20 瓶, 三次重复。

1.3 试验数据收集和整理

诱导培养 50 d 后按各处理收获微型薯, 统计结薯数(直径 3 mm 以上)、薯块平均直径(mm)、微型薯产量(g/瓶)、大薯数(直径大于 5mm 以上的微型薯)和大薯率(大薯占结薯总数的百分数)。以此作为调查微型薯在诱导期间发育阶段一致性程度的指标, 并对其差异性用 SSR 法加以测定。

2 结果与分析

2.1 光照处理对微型薯诱导结薯的影响

2.1.1 光照处理对微型薯数量的影响 处理不同, 诱导微型薯数量不同, 早大白表现为黑暗 1 周后转入自然光条件下结薯最多, 而克新 4 号表现为在全黑暗条件下结薯数量最多。单株块茎数量是品种的一个重要遗传性状, 是品种间的固有差异, 克新 4 号属于多块茎类型, 早大白属于少块茎的类型。从本试验的结果来看, 光照处理对诱导块茎结薯数量的影响并不因品种自身结薯数量的多少而变化, 不同块茎结薯数量的品种, 都有其一定的适宜的光照条件(见表 1)。

表 1 光照处理下不同品种的微型薯诱导结薯状况

品种	处理	结薯数量 (个/瓶)	薯块大小 (mm)	单瓶产量 (g/瓶)	大薯率 (%)
早大白	I	13.2 A	5.10 B	2.02 B	57.48 B
	II	17.0 A	5.72 A	3.03 A	85.13 A
	III	17.4 A	4.42 C	1.81 C	35.27 C
克新 4 号	I	17.6 A	5.74 A	3.56 A	75.36 A
	II	17.0 A	5.13 A	2.27 AB	56.67 A
	III	11.0 A	5.01 A	1.54 B	54.83 A

注: A、B、C 表示 0.05 差异显著性。

2.1.2 光照处理对试管微型薯块茎大小影响 光照处理对不同品种的微型薯薯块大小有很大的影响, 早大白表现为处理间差异极显著, 以 16 h/d 光周期(2 000 Lx)处理的薯块平均直径为最大, 这表明诱导前期的强光照对早大白微型薯发育是有利的, 而克新 4 号表现为处理间差异不显著(见表 1)。

2.1.3 光照处理对单瓶微型薯重量的影响 光照处理对单瓶微型薯重量的影响, 早大白、克新 4 号均表现出处理间差异极显著, 早大白以 16 h/d 光周期(2 000 Lx)处理的效果最好, 克新 4 号以全黑暗处理为最好(见表 1)。

2.1.4 不同处理条件下大薯率的比较 大薯率是微型薯诱导中的一项重要指标, 体积大的块茎对下一世代的繁殖有利。体积大的块茎, 具有较强的发

育能力, 获得高比例的大薯可为整齐一致的小薯繁殖群体提供物质基础。

从分析中得知, 早大白各处理间大薯率表现出差异极显著, 以 16 h/d 光周期 (2 000 Lx) 处理为最佳, 大薯率达 85. 13%, 而克新 4 号这一性状上没有表现出光照处理间的差异。这个结果表明由于品种间光照反应差异, 在诱导微型薯发育过程中, 光照因素所发挥的作用有所不同, 早大白属于光敏型品种, 对光因素的调整可对其发育过程起明显作用 (见表 1)。

由以上分析可以看出, 在同一培养基和低温 (19 ±1 ℃) 条件下, 不同处理, 早大白品种差异显著, 全黑暗条件培养诱导结薯所需时间短, 结薯数量多, 重量大, 大薯率高, 说明光照时间缩短有利于微型薯的形成和生长, 据此, 全黑暗条件是诱导结薯的关键。

2.2 三种不同类型培养基对微型薯诱导的影响

在全黑暗低温条件下, 不同类型培养基对微型薯的诱导效果差异显著, 但不同的品种诱导效果不同。对克新 4 号来说, 在结薯数量, 块茎直径, 鲜薯重量, 大薯率等方面, 液体培养基均显著高于固体培养基和固液双层培养基, 而固液双层培养基又极显著高于固体培养基, 固体培养基的诱导效果最差。但对早大白品种来说, 则以固液双层培养基的诱导效果最好, 其次是固体培养基, 而液体培养基效果最差。可见不同的品种都有其相适宜的诱导微型薯的培养基。值得注意的是, 培养后期液体培养基上的试管苗易出现茎叶黄化甚至有枯萎现象, 而固液双层培养基和固体培养基上的试管苗在相同时期则表现为茎叶鲜绿, 充满生机。

表 2 不同类型培养基对微型薯诱导的影响

品种	培养基类型	结薯数 (个/瓶)	鲜薯重量 (g/瓶)	块茎直径 (mm)	大薯率 (%)
早大白	液体	8. 7C	1. 232C	5. 8C	64. 80C
	固体	9. 9B	1. 643B	6. 9C	73. 21B
	固液双层	13. 4A	2. 782A	8. 4A	83. 99A
克新 4 号	液体	12. 7A	2. 801A	7. 7A	84. 52A
	固体	7. 6C	1. 218C	6. 3C	64. 73C
	固液双层	10. 2B	1. 658B	6. 0C	73. 80B

注: A、B、C 表示 0. 05 差异显著性。

3 讨论

3.1 光照

本试验采用 16 h/d 光照下繁殖试管苗, 然后更换入 MS 液体诱导结薯培养基, 在一定诱导时间内, 全黑暗培养比长日照培养诱导结薯快, 并且在结薯数量、块茎大小、鲜重和大薯率都有极显著促进作用, 这可能是全黑暗条件诱导结薯, 大大减少了光合作用以及促进植物生长的内源激素 BA3 的形成, 从而使植株由营养生长转向形成微型薯^[4], 试验结果表明, 在适宜的结薯温度下, 全黑暗条件是诱导马铃薯微型薯形成和增加结薯数量、提高产量的关键因素。

但也可以看出, 不同品种在微型薯诱导中对光照处理的反应存在差异。光照对不同品种的诱导块茎结薯数量、微型薯块茎大小、单瓶微型薯重量和大薯率均有显著的影响, 但不同基因型的诱导光照条件不同, 克新 4 号以全黑暗条件诱导微型薯效果较好; 而对早大白品种, 以 16 h/d 光周期 (2 000 Lx) 处理的效果最佳。因此, 在微型薯生产中应根据不同品种对光照条件的反应来选择适当的技术规程。

3.2 培养基类型

试验结果表明, 采用不同培养基对同一品种的诱导效果不同, 对克新 4 号品种来说, 液体培养基的诱导效果最好, 结薯数量、鲜薯重量和大薯率均高于固体培养基和固液双层培养基, 是诱导微型薯的最好的培养方式; 而对早大白品种来说, 固液双层培养基的诱导效果最好。可能是由于克新 4 号品种液体培养基更有利于培养外植体吸收养料的缘故, 对早大白品种, 固液双层培养基更有利于其生长发育。

参考文献:

[1] 柳俊, 谢从华, 黄大恩. 马铃薯块茎形成机制的研究—暗处理和光照对试管块茎形成的影响[J]. 马铃薯杂志, 1994, 8(3): 138-140.

[2] 张颢, 陈廷芳. 马铃薯试管薯诱导因子最佳组配的研究[J]. 马铃薯杂志, 1990, 4(4): 206-209.

[3] 孙慧生. 马铃薯试管薯的诱导与利用研究[J]. 山东农业科学, 1993, (2): 10-12.

[4] 冉毅东, 王蒂, 王清. 光温及培养基类型对马铃薯试管微型薯诱导的影响[A]. 陈伊里. 中国马铃薯学术研讨文集[C]. 哈尔滨: 黑龙江科学技术出版社, 1996. 244-249.

[5] Slimmon T, V Souza Machado, R Coffin. The effect of light on in vitro microtuberization of potato cultivars[J]. American Potato Journal, 1989, (66): 843-847.

[6] Li Canhui, Wang Jun. The influence of light intensity on in vitro tuberization of potato[Z]. Beijing: Potato and sweet Potato Research in China, CAAS and CIP Region VIII Beijing 1991. 78-83.