

# 不同生长延缓剂对马铃薯脱毒试管苗保存的影响

赵海红<sup>1</sup>, 贝丽霞<sup>2</sup>, 丁俊杰<sup>1</sup>

(1. 黑龙江省农业科学院 佳木斯分院, 黑龙江 佳木斯 154007; 2. 黑龙江八一农垦大学 农学院, 黑龙江 大庆 163319)

**摘要:**以马铃薯主栽品种克新 13 脱毒试管苗为试验材料, 以添加 CCC(矮壮素)  $500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $\text{B}_9$ (丁酰肼)  $80 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、 $\text{PP}_{333}$ (多效唑)  $0.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的培养基对其进行增殖培养, 比较不同生长延缓剂对马铃薯脱毒试管苗增殖、保存的影响。结果表明: 增殖培养基中附加  $500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的 CCC(矮壮素) 保存效果最为理想, 可使马铃薯试管苗种质保存 12 个月以上, 而且经过保存处理后对试管苗继代没有影响。

**关键词:** 生长延缓剂; 马铃薯; 脱毒试管苗

中图分类号: S532

文献标识码: A

文章编号: 1002-2767(2010)05-0001-02

马铃薯脱毒试管苗在正常生长环境中保存长势快, 短时间内就需要进行多次转瓶继代, 过程复杂, 费时费力, 易造成污染, 继代次数太多又会出现变异。培养基中添加生长抑制物质  $\text{B}_9$ (丁酰肼)、CCC(矮壮素) 或  $\text{PP}_{333}$ (多效唑) 能抑制保存材料的生长, 试管苗的保存时间能得到延长, 因此在多种植物种质资源保存中得到应用<sup>[1-5]</sup>, 同时也有研究报道, 可将马铃薯脱毒试管苗放入  $2\sim 6^\circ\text{C}$  冰箱中保存<sup>[6-7]</sup>, 总之, 在马铃薯试管苗保存方面的研究没有统一定论。因此, 研究不同种类、不同浓度的生长延缓剂对马铃薯脱毒试管苗保存的影响具有重要意义, 同时也为马铃薯脱毒试管苗工厂化生产提供理论依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

供试马铃薯品种为主栽品种克新 13 脱毒试管苗。接种材料均取自生长健壮、来源一致的马铃薯脱毒试管苗中部第 4~5 节段、单节茎段接种于相应处理的培养基上, 以避免由于植株顶部与底部长势不同所引起的试验误差。

### 1.2 方 法

试验所用培养基均以马铃薯增殖培养基为基础培养基, 加入蔗糖  $30 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ , 调节 pH 最终达到 5.8。即处理 1: 增殖培养基 + CCC(矮壮素)

$500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ; 处理 2: 增殖培养基 +  $\text{B}_9$ (丁酰肼)  $80 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ; 处理 3: 增殖培养基 +  $\text{PP}_{333}$ (多效唑)  $0.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ; CK: 增殖培养基; 将 25 d 苗龄的克新 13 马铃薯脱毒试管苗茎段分别接种到各培养基上, 每个处理均设 3 次重复, 每次重复分别接种 10 支试管, 各试管中接种茎段数为 3 个, 倒入培养基的量相同。置于温度  $25^\circ\text{C}$ , 湿度 80%, 光照  $2500 \text{ lx}$  条件下培养 16 h, 观察其长势。28 d 后记录试管苗的存活情况、生根情况、株高和生物产量等, 应用 DPS 和 Excel 软件分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同生长延缓剂对马铃薯试管苗保存的影响

由图 1 和图 2 可知, 当保存到 1 个月时, 3 种生长延缓剂处理中试管苗的生长均受到不同程度的抑制, 试管苗节间距缩短, 植株矮化, 茎秆、根系粗壮, 叶色深绿, 植株生长健壮, 培养基颜色无明显变化。对照处理试管苗植株较高, 茎秆较细, 根系较弱, 叶色绿, 培养基颜色无明显变化, 各处理的成活率均为 100%。当保存到 3 个月时, 对照试管苗的植株由于顶到封口膜转而弯曲向下生长, 植株基部的茎粗变化不明显, 越靠近植株顶端的茎越细, 且呈白色, 植株分枝较多, 新生叶特别小, 颜色浅绿, 多数老叶褪绿变黄, 根细长, 变成黄色, 紧挨容器壁向上生长, 试管苗成活率为 92.22%, 培养基呈黄色, 可能是由于马铃薯自身生长时释放的分泌物引起的。3 种生长延缓剂处理中的试管苗株高明显矮于对照, 植株健壮, 根呈白色, 老叶呈深绿色, 新生叶片较大, 颜色深绿, 试管苗成活率为 100%, 培养基颜色无明显变化。

收稿日期: 2010-01-13

第一作者简介: 赵海红(1981-), 女, 黑龙江省五常市人, 硕士, 研究实习员, 主要从事马铃薯栽培研究。E-mail: haihong51job@163.com。

通讯作者: 丁俊杰(1974-), 男, 黑龙江省桦南县人, 博士, 副研究员, 主要从事大豆病虫害研究。E-mail: me999@126.com。

当保存到6个月时,对照处理的试管苗多数枯黄死亡,成活的试管苗也反复弯曲生长,新生叶特别小,老叶色黄,茎越来越细,根细长发黄,培养基呈黑色。3种生长延缓剂处理中的试管苗植株生长仍然健壮,试管苗成活率为100%,培养基无明显变化。

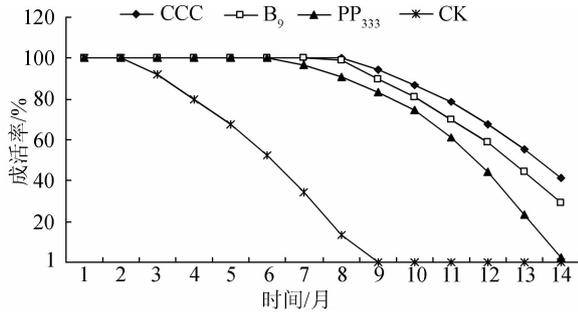


图1 不同生长延缓剂对马铃薯试管苗保存的影响

当保存到9个月时,对照处理的试管苗全部死亡,只是试管苗顶端仍呈绿色,处理1(CCC)、处理2(B<sub>9</sub>)和处理3(PP<sub>333</sub>)的成活率分别为94.44%、90.00%和83.33%。当保存到12个月时,处理1(CCC)、处理2(B<sub>9</sub>)和处理3(PP<sub>333</sub>)的成活率分别为67.78%、58.89%和44.44%,但处理2(B<sub>9</sub>)和处理3(PP<sub>333</sub>)的培养基颜色变黑,植株虽然不高,但多数叶片萎蔫枯黄,茎秆、根系均变黄。当保存到14个月时,处理1(CCC)、处理2(B<sub>9</sub>)和处理3(PP<sub>333</sub>)的成活率分别为41.11%、

28.89%和2.22%。处理1(CCC)的马铃薯试管苗在保存到14个月时仍有40%以上的成活率,而对照试管苗保存到9个月时,成活率为0。由此可知,经增殖培养基附加CCC 500 mg·L<sup>-1</sup>处理的试管苗比对照可延长5个月的保存时间,保存效果比其它处理好。

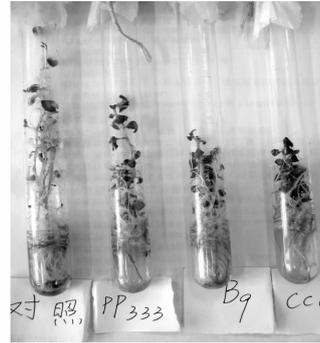


图2 不同延缓抑制剂处理下的试管苗(保存2个月)

## 2.2 CCC 保存对试管苗增殖的影响

将保存6个月的CCC处理中的克新13品种试管苗转入增殖培养基中进行继代培养,继代1个月,调查各处理的株高、茎粗、叶片数和根数等形态指标。结果表明(见表1),经保存处理后继代的试管苗在株高、茎粗、叶片数和根的数量等方面与对照差异不显著,即对试管苗继代生长没有影响。由此可以看出,用CCC保存马铃薯试管苗不影响试管苗的继代生长。

表1 CCC对马铃薯试管苗增殖的影响

处理	成活率/%	株高/cm	茎粗/mm	叶片数/片	根数/条
保存后继代培养	100	5.46aA	1.01aA	7.48aA	5.67aA
普通继代培养	100	5.48aA	1.04aA	7.50aA	5.69aA

## 3 讨论

PP<sub>333</sub>(多效唑)对试管苗有明显的矮壮作用,促进生根数,抑制根的伸长,该试验得到了同样的结果,但同时发现,PP<sub>333</sub>(多效唑)不利于马铃薯脱毒试管苗的成活。B<sub>9</sub>(丁酰肼)使马铃薯脱毒试管苗节间明显变短,但低浓度的B<sub>9</sub>(丁酰肼)抑制植株生长的作用较小,高浓度的B<sub>9</sub>(丁酰肼)又不能保证植株的成活率。由此可以推出,B<sub>9</sub>(丁酰肼)的使用效果受其使用浓度、基本培养基种类和附加的激素种类、浓度等影响。在培养基中添加CCC(矮壮素),试管苗的生长明显缓慢,根的发生也得到了抑制,保存效果也比其它处理好,因此,可以在生产中推广使用。

## 参考文献:

- [1] 崔翠,王季春,何凤发,等.不同MS和B<sub>9</sub>浓度对马铃薯脱毒试管苗生长的研究[J].西南农业大学学报,2001,23(5):414-417.
- [2] 李玉梅,马强,李玲.B<sub>9</sub>对脱毒马铃薯试管苗的影响[J].西北园艺,2003(1):7-8.
- [3] 徐传朝,张夏菊,刘爱君.活性炭对马铃薯试管苗生长和微型薯诱导影响研究[J].中国农业科技导报,2003,5(5):106-107.
- [4] 郝文胜,赵永秀,杨丽华.比久在马铃薯良种繁育中的应用[J].中国种业,2004(10):43-44.
- [5] 杨琼芬,白建明,隋启君.马铃薯组培技术中的壮苗研究[J].云南农业科技,2006(1):20-23.
- [6] 张巧仙,范冬梅.植物种质资源的保存[J].太原师范学院学报(自然科学版),2005,4(1):82-85.
- [7] 王静,安忠民,冯学赞,等.CCC在马铃薯试管苗越冬中的作用[J].植物生理学通讯,2004,40(4):441-443.

# 球孢白僵菌硝酸还原酶缺陷型突变体的筛选与鉴定

宋景荣<sup>1,2,3</sup>, 徐文静<sup>1</sup>, 赵 曦<sup>1,2</sup>, 杜 茜<sup>1</sup>, 杨信东<sup>2</sup>, 李启云<sup>1</sup>

(1. 吉林省农业科学院, 吉林 公主岭 136100; 2. 吉林农业大学 农学院, 吉林 长春 130118; 3. 内蒙古呼伦贝尔市农业科学研究所, 内蒙古 扎兰屯 162650)

**摘要:** 分别利用甲基磺酸乙酯(EMS)诱变原生质体和用氯酸盐培养基(WAC)诱变菌丝, 获得球孢白僵菌硝酸还原酶缺陷型突变体。EMS 诱变得到突变体 68 株, 其中硝酸盐还原酶活性最低的突变体相比于野生型菌株活性降低了 63.49%。WAC 方法诱变获得突变体菌株 19 株, 其中硝酸盐还原酶活性最低的突变体比野生型菌株活性降低了 59.46%。

**关键词:** 球孢白僵菌; 硝酸盐还原酶; 突变体; 筛选; 鉴定

中图分类号: S476.1 文献标识码: A 文章编号: 1002-2767(2010)05-0003-04

白僵菌(*Beauveria*, SSP)是当前世界上研究和应用最多的昆虫病原真菌之一,也是目前微生物农药研究的热点之一<sup>[1]</sup>。随着昆虫病原真菌致病性分子机理研究的不断深入及昆虫病原真菌的遗传转化技术的日趋成熟,基因工程技术已成为菌株改良最有效的途径之一,然而高效、无毒选择标记是工程菌株改良的关键和限制性因素。以硝酸盐还原酶(nitrate reductase, NR)作为选择标记,将其转化 NR 基因突变菌株,使突变菌株恢复野生型 NR 活性而建立选择体系,可作为转基因菌株的专用选择标记,具有抗生素和除草剂等其它

选择标记所没有的优点<sup>[2]</sup>。通过化学物理诱变技术筛选球孢白僵菌硝酸盐突变体,并进行了生理生化和分子生物学验证,可为球孢白僵菌基因工程菌株改良提供很好的受体材料。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 供试菌株

野生型球孢白僵菌(*Beauveria bassiana*) T3-1菌株为吉林省农业科学院植物保护研究所谭云峰副研究员赠予。大肠杆菌(*Escherichia coli*, *E. coli*) DH5 $\alpha$ 为吉林省农业科学院植物保护研究所生物农药研究室保存。

### 1.2 供试试剂

亚硝酸钠标准溶液, 0.100 mol  $\cdot$  L<sup>-1</sup> pH 7.5 的磷酸缓冲液, 1.00% 磺胺溶液, 0.02% 萘基乙烯胺, 0.100 mol  $\cdot$  L<sup>-1</sup> 硝酸钾溶液, 0.025 mol  $\cdot$  L<sup>-1</sup> pH 8.7 的磷酸缓冲液, 粗酶提取缓冲液, 2.000 mg  $\cdot$  mL<sup>-1</sup> NADH 溶液(现用现配)。

收稿日期: 2010-02-04

基金项目: 吉林省科技厅科技支撑计划重点资助项目(20080249)

第一作者简介: 宋景荣(1978-), 女, 吉林省德惠市人, 硕士, 助理研究员, 从事微生物农药研究。

通讯作者: 李启云(1974-), 男, 重庆市万县人, 博士, 研究员, 从事生物农药研究。E-mail: qyli@cjaas.com。

## Effect of Different Plant Growth Retardants on Conservation in vitro Plantlets of Potato

ZHAO Hai-hong<sup>1</sup>, BEI Li-xia<sup>2</sup>, DING Jun-jie<sup>1</sup>

(1. Jiamusi Branch of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Jiamusi, Heilongjiang 154007; 2. Agronomy College of Heilongjiang August First Land Reclamation University, Daqing, Heilongjiang 163319)

**Abstract:** The potato variety of Kexin13 was used as experimental material, the medium supplemented with CCC 500 mg  $\cdot$  L<sup>-1</sup>, B<sub>9</sub> 80 mg  $\cdot$  L<sup>-1</sup> and PP<sub>333</sub> 0.3 mg  $\cdot$  L<sup>-1</sup> were used as the regard proliferation medium, the effects of multiplication culture and conservation of different plant growth retardants were studied. The results showed that the medium supplemented with CCC 500 mg  $\cdot$  L<sup>-1</sup> was the best, could conserve the in vitro plantlets for more than 12 months. But had no significant effect on subculture.

**Key words:** plant growth retardants; potato; virus-free in vitro plantlets