

不同组分及低磷钾胁迫的马铃薯试管苗快繁培养基研究

宋鹏慧

(黑龙江省农业科学院 浆果研究所, 黑龙江 绥化 152200)

摘要:为培养出高品质、高效率、低成本的马铃薯脱毒试管苗,以马铃薯脱毒试管苗克新 13 为试验材料,以 MS 为基础培养基,研究不同组分的快繁培养基对马铃薯试管苗农艺性状、生物量及叶绿素含量的影响。结果表明:不添加有机物的培养基,可保证试管苗健康生长;不添加微量元素和铁盐的培养基不利于试管苗的生长。不添加有机物且大量元素中添加磷、钾素减半的低磷、钾胁迫的培养基没有对试管苗的生长产生不利影响,多数指标与在 CK 培养基上生长的试管苗水平较接近,而且在活叶数、有效茎节数、生物量、平均根长以及平均根条数方面优于全量添加的 CK 培养基。从节约成本的角度考虑,不添加有机物且大量元素中磷素和钾素减半的 MS 培养基可以应用于马铃薯试管苗的生产中。

关键词:马铃薯;脱毒试管苗;低磷、钾胁迫;不同组分

中图分类号:S532 **文献标识码:**A **文章编号:**1002-2767(2015)04-0006-04 DOI:10.11942/j.issn1002-2767.2015.04.0006

马铃薯(*Solanum tuberosum* L.)为茄科茄属一年生草本双子叶植物,是重要的粮食蔬菜兼用作物^[1]。目前,我国在马铃薯脱毒试管苗生产方面已经步入了规模化生产阶段^[2-4],但低成本高质量的试管苗生产技术及研究报道较少,尤其在简洁、实用的生产技术方面报道更少。报道多基于各种方面进行的培养基配方及培养条件的优化试验^[5-8],付伟伟^[9]等认为,MS 培养基添加 B₉ 浓度为 5~15 mg·L⁻¹ 为最佳培养基。刘志文^[10]等认为,可以从光强度方面进行马铃薯快繁的优化。并得出高温强光是最好的快繁条件。苏跃^[11]等认为,MS 培养基中氮、磷、钾浓度对不同品种试管苗的适应存在差异,费乌瑞它较适应高氮、磷、钾浓度的 MS 培养基,而中薯 3 号较适应常规含量的 MS 培养基。而本研究认为,在马铃薯脱毒试管苗的继代培养中,应在保证苗木数量、质量的前提下,尽量节约成本以及简化马铃薯培养基。在以往的试验报道中多数研究选用 MS 培养基,也有研究表明 1/2MS 培养基同样适用。而在作物苗期,植株对氮的需求要高于对磷、钾的需求。所以本试验分别设添加微量元素、铁盐、有机物以及大量元素中磷素和钾素减半的处理,探索马铃薯脱毒试管苗快繁的最佳简化方案,为探索高品

质、高效率 and 低成本马铃薯脱毒试管苗调控生产技术提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

试验材料为经黑龙江省农业科学院浆果研究所生物技术室脱毒并继代培养的马铃薯克新 13 脱毒试管苗。

1.2 方法

1.2.1 培养基的配制 采用 MS 培养基,大量元素中降低 KH₂PO₄ 和 KNO₃ 用量(使 KH₂PO₄ 提供的磷素为正常添加量的 50%,KH₂PO₄ 和 KNO₃ 提供的钾素为正常添加量的 50%),由于减少了 KNO₃ 的用量,照正常添加量缺少的氮素用 NH₄NO₃ 补充(见表 1)。分别设添加不同母液和大量元素中磷素和钾素减半的 7 组试验(见表 2),CK 为正常量添加所有母液的 MS 培养基。添加白糖 30 g·L⁻¹,琼脂 6 g·L⁻¹,pH5.8。

表 1 大量元素用量

Table 1 Dosage of macro elements of medium

处理 Treatments	大量元素用量/(mg·L ⁻¹) Macro elements				
	NH ₄ NO ₃	KNO ₃	KH ₂ PO ₄	MgSO ₄ · 7H ₂ O	CaCl ₂ · 2H ₂ O
PK	1650	1900	170	370	440
PK50	2030	950	85	370	440

1.2.2 接种及培养 取同一时期长势相同的基础苗,在无菌操作台进行操作。选取试管苗中上

收稿日期:2014-12-23

作者简介:宋鹏慧(1988-),女,黑龙江省绥化市人,硕士,研究实习员,从事植物组织培养研究。E-mail: song-
song00guoguo@sina.com。

部茎段,去掉基部,剪下带有 1 茎 1 叶的试管苗茎段,腋芽朝上插在不同处理的培养基上,每瓶插 3 段,每个处理 10 瓶,重复 3 次。接种后将培养瓶放置于培养室,培养温度为 25℃,光照强度 2 000~2 500 lx,光照时间为 12 h·d⁻¹。

表 2 试验设计

Table 2 Experimental design

编号 No.	处理 Treatments
1	大量元素(PK)+铁盐+有机物
2	大量元素(PK50)+铁盐+有机物
3	大量元素(PK)+微量元素+有机物
4	大量元素(PK50)+微量元素+有机物
5	大量元素(PK)+微量元素+铁盐
6	大量元素(PK50)+微量元素+铁盐
CK	大量元素(PK)+微量元素+铁盐+有机物

1.2.3 测定项目及数据处理 于接种 30 d 后进行取样调查,每个处理随机抽取 3 瓶试管苗,测定株高(cm)、活叶数(片·株⁻¹)、茎粗(mm)、有效茎节数(节·株⁻¹)、节间长度(cm)、叶柄长(cm)、大叶宽(cm)、大叶长(cm)、平均根数(条·株⁻¹)、平

均根长(cm)、植株鲜重(mg·株⁻¹)、植株干重(mg·株⁻¹)、根鲜重(mg·株⁻¹)及根干重(mg·株⁻¹)。

1.2.4 数据分析 试验数据由 Excel和 SPSS20.0 软件进行数据统计与分析。

2 结果与分析

2.1 不同培养基对马铃薯试管苗茎叶的影响

从表 3 中可以看出,在活叶片数、有效茎节数、节间长度、大叶长和成活率等方面,生长在处理 5 和处理 6 培养基上的试管苗生长较好且与 CK 差异不显著,生长在处理 5 与 CK 培养基上的试管苗除茎粗外其余茎叶指标均差异不显著,生长在处理 6 培养基上的试管苗虽然在株高、茎粗、叶柄长和大叶宽等方面略低于生长在 CK 培养基上的试管苗,但活叶数和有效茎节数最多,略高于对照,表明低磷、钾胁迫对马铃薯试管苗叶片发生能力具有促进作用,从而增多有效茎节数。生长在 PK 与 PK50 培养基上的试管苗多数指标差异不显著。生长在处理 1 和处理 2 培养基上的试管苗长势略低于处理 5、处理 6 和 CK,生长在处理 3 和处理 4 培养基上的试管苗表现最差,长势也较弱,叶呈黄绿色。

表 3 不同培养基对马铃薯试管苗茎叶的影响

Table 3 Effect of different medium on stems and leaves of potato plantlets

处理 Treatments	株高/ cm Plant height	茎粗/ mm Stem diameter	活叶数/ (片·株 ⁻¹) Live leaf number	有效茎节数/ (节·株 ⁻¹) Effective number of internodes	节间长/ cm Internode length	叶柄长/ cm Petiole length	大叶宽/ cm Big blade width	大叶长/ cm Big blade length	成活 率/% Survival rate	叶色 Leaf color	长势 Growth
1(PK)	5.00 cC	0.88 cC	8.2 bcBC	7.2 bCD	0.65 bB	0.47 bB	0.38 bB	0.55 bAB	87 bB	绿	较弱
2(PK50)	4.93 cC	0.87 cC	9.0 bB	7.6 bBC	0.64 bBC	0.44 cC	0.35 cC	0.52 bBC	85 cC	绿	较弱
3(PK)	4.00 dD	0.76 dD	7.0 cC	5.1 cDE	0.43 cD	0.39 dD	0.31 dD	0.45 cC	70 dD	黄绿	弱
4(PK50)	3.87 dD	0.73 dD	7.7 bcBC	5.8 cE	0.46 cCD	0.38 dD	0.36 dD	0.44 cC	72 eE	黄绿	弱
5(PK)	7.87 aA	0.97 bAB	11.0 aA	9.1 aABC	0.83 aA	0.51 aA	0.46 aA	0.62 aA	98 aA	浓绿	强
6(PK50)	6.90 bB	0.95 bB	11.7 aA	9.7 aA	0.73 abAB	0.48 bB	0.45 bB	0.59 abAB	98 aA	浓绿	强
CK(PK)	7.90 aA	1.01 aA	11.1 aA	9.2 aAB	0.85 aA	0.52 aA	0.49 aA	0.64 aA	98 aA	浓绿	强

不同小写字母和大写字母表示在 0.05 和 0.01 水平差异显著,利用新复极差法。下同。
Different lowercases and capital letters mean significant difference at 0.05 and 0.01 levels by Duncan's Multiple Range Test, respectively. The same below.

2.2 不同培养基对马铃薯试管苗根的影响

由图 1 和图 2 可知,生长在处理 5 和处理 6 培养基上的试管苗与生长在 CK 培养基上的试管苗在平均根数和平均根长方面差异不显著,且根系粗壮,植株生长健壮。生长在处理 1 和处理 2

培养基上的试管苗平均根条数较少且平均根长均较短,生长在处理 3 和处理 4 培养基上的试管苗是生长在 CK 培养基上的试管苗平均根数的一半左右。生长在 PK50 培养基上的试管苗的平均根数和平均根长较 PK 数值高,且处理 6 较对照水

平还要高,表明生长在不添加有机物且大量元素中磷素和钾素减半的培养基上的试管苗在平均根数和平均根长方面较优,并可用作生根培养基。

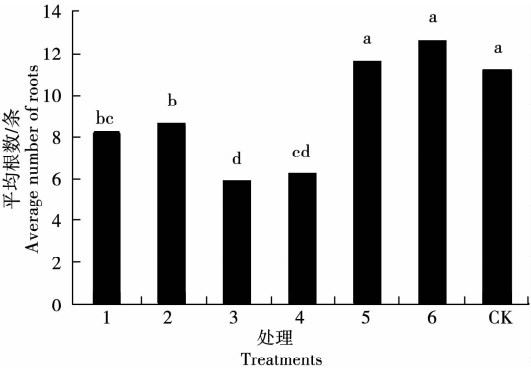


图 1 不同培养基对马铃薯试管苗平均根数的影响

Fig. 1 Effect of different mediums on average number of roots of potato plantlets

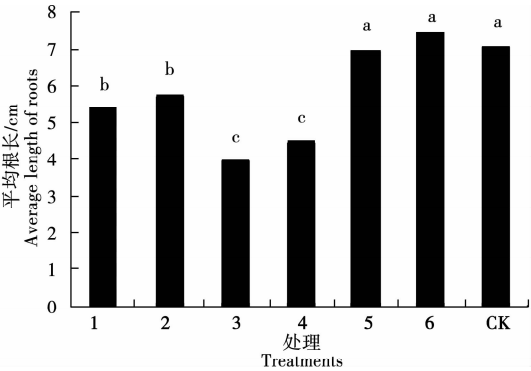


图 2 不同培养基对马铃薯试管苗平均根长的影响

Fig. 2 Effect of different mediums on average length of roots of potato plantlets

2.3 不同培养基对马铃薯试管苗生物量的影响

从图 3 可知,生长在处理 5 和处理 6 培养基上的试管苗与 CK 培养基上试管苗茎叶的干重以及鲜重水平较接近。根的干重和鲜重也是生长在处理 5 和处理 6 培养基上的试管苗与 CK 培养基上的试管苗差别不明显,且处理 6 较对照水平高。生长在处理 1 和处理 2 培养基上的试管苗生物量较少,生长在处理 3 和处理 4 培养基上的试管苗生物量最少。生物量较多,表现为植株生长健壮,新叶数多。而生物量较少,表现为植株生长缓慢,节间变短,叶面积缩小。生长在 PK50 培养基上的试管苗的生物量较 PK 数值略高。低磷、钾胁迫条件下生物量的增多,钾起主要调控作用。在植物体内钾不足的情况下,钾被优先分配到生长旺盛的幼嫩组织和器官中,因此适宜的低钾胁迫条件会增强植株对钾素的吸收能力,加速钾素的

流动和运转,促进新叶的发生及生物量的增多。

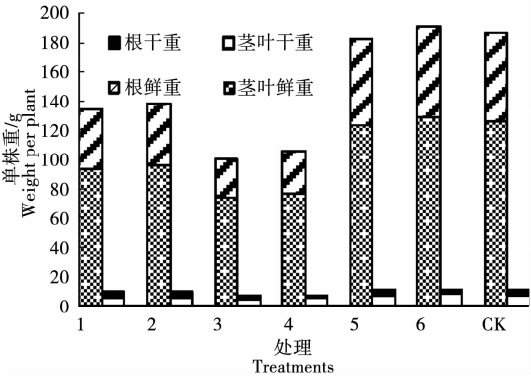


图 3 不同培养基对马铃薯试管苗生物量的影响
Fig. 3 Effect of different mediums on biomass of potato plantlets in vitro

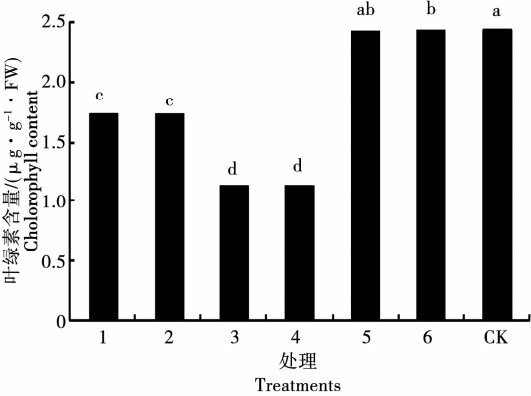


图 4 不同培养基对马铃薯试管苗叶绿素含量的影响
Fig. 4 Effect of different mediums on chlorophyll content of potato plantlets in vitro

2.4 不同培养基对马铃薯试管苗叶绿素含量的影响

从图 4 可以看出,处理 5、处理 6 和 CK 培养基上生长的试管苗叶绿素含量最高,且处理 5 和 CK 差异不显著。生长在 PK 和 PK50 培养基上的试管苗叶绿素含量差异不显著,因为氮素是叶绿素的重要组成成分,而 PK 和 PK50 供氮水平一致。施用充足的氮素营养可以加快叶绿素的形成,增加作物叶片叶绿素的含量和叶片的 SPAD 值,从而加快作物的光合作用。生长在不添加有机物且低磷、钾胁迫培养基上的试管苗依然可以保持类囊体及叶绿体的跨膜质子梯度,较好地完成光合作用。生长在不添加铁盐培养基上的试管苗叶绿素含量最低且叶片呈黄绿色,因为铁是叶绿素形成不可缺少的,在植株体内很难转移,植物缺铁的表现是叶片“失绿症”,并且这种失绿首先表现在幼嫩叶片上。铁对植物的光合作用、呼吸

作用都有影响。

3 结论与讨论

本试验结果表明,不添加有机物的培养基可保证试管苗健康生长,不添加微量元素和铁盐的培养基不利于试管苗的生长。这与黄萍^[12]等不加有机成分的 MS 固体培养基培养的试管苗与对照的各项生长指标无显著差异以及其它研究者大都赞成省去有机成分,而多数人不赞成省去铁盐 and 无机大量元素的结论相符。不添加有机物且大量元素中添加磷、钾素减半的低磷、钾胁迫的培养基没有对试管苗的生长产生不利影响,多数指标与在 CK 培养基上生长的试管苗水平较接近,而且在活叶数、有效茎节数、生物量、平均根长以及平均根条数方面优于大量元素全量添加的 CK 培养基。这与刘玉汇^[13]等低钾胁迫低钾培养环境对马铃薯试管苗新叶发生能力具有促进作用,且地上部分和地下部分的鲜重增加,植株生长健壮的结果相近。在平均根长和平均根条数方面,陈凯^[14]等使用大量元素减半的 1/2MS 液体培养基对培养结果无显著影响以及其它一些的试验研究表明,低无机盐浓度有利于根的分化,一般用 1/2MS 或 1/4MS 培养基为诱导长根的基本培养基这与本文添加量磷、钾素减半试验的结果相类似。所以在大量生产中,不添加有机物且大量元素中添加量磷、钾素减半培养基可以替代传统的 MS 培养基。

采用本试验设计的脱毒马铃薯试管苗快繁培养基,省去了 MS 培养基中有机物的部分,在配制 MS 母液时减少了称取烟酸、烟酸吡哆醇等 5 种需要精密称取的化学药品的步骤,节约成本并简化了试验。将大量元素中磷、钾素添加量减半,同时也节省了部分人工和生产成本。在保证马铃薯

试管苗质量的前提下,实现生产中的提效并节约成本,为马铃薯试管苗的工厂化生产提供一定的理论依据和技术支持。但试管苗的移栽成活率、抗病能力、产量以及对马铃薯品质的影响等指标的变化尚待进一步研究。

参考文献:

- [1] 罗源,陈耀锋,李春莲,等. 马铃薯茎段愈伤组织培养体系的优化[J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版,2007,35(10):159-162.
- [2] 赵光磊,吴凌娟,张雅奎,等. 马铃薯脱毒试管苗壮苗培养体系的优化[J]. 中国马铃薯,2013(4):199-205.
- [3] Katarzyna O, Gra-yna G. Cellular localisation of calcium ions during potato hypersensitive response to potato virus Y[J]. Micron,2011,42(5):381-391.
- [4] 吕金凤,辛建华. $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ 对马铃薯脱毒试管苗生长的影响[J]. 长江蔬菜,2010(10):18-21.
- [5] 齐恩芳,王一航,张武,等. 马铃薯茎尖脱毒培养方法优化研究[J]. 中国马铃薯,2007,21(4):200-203.
- [6] 孙书伟. MS 有机成分和光照时数对脱毒马铃薯快繁的影响[J]. 辽东学院学报:自然科学版,2008,15(4):189-190.
- [7] 高军,张永成. 几种植物生长调节剂对马铃薯脱毒试管苗生长的影响[J]. 种子,2008,27(5):77-79.
- [8] 王英,于丽丽,刘志文. 不同水源和碳源对脱毒马铃薯快繁的影响[J]. 河南农业科学,2011(5):35-38.
- [9] 付伟伟,肖萍,冯志峰,等. 马铃薯试管苗生产技术探索[J]. 中国马铃薯,2013,27(4):212-214.
- [10] 刘志文,陈阳,侯英敏. 不同培养基和培养条件对脱毒马铃薯快繁生长的影响[J]. 中国农学通报,2011,27(24):179-182.
- [11] 苏跃,冯泽蔚,胡虎,等. 马铃薯试管苗快繁培养基研究[J]. 种子,2009,28(3):71-72.
- [12] 黄萍,颜谦,何庆才,等. 培养基成分改变对马铃薯试管苗生长的影响[J]. 种子,2005,24(4):58-59.
- [13] 刘玉汇,王丽,张俊莲,等. 低钾胁迫下马铃薯试管苗生长及生理指标的变化[J]. 中国马铃薯,2011,25(3):152-156.
- [14] 陈凯,刘颖,卢月霞. 培养基与光照强度对马铃薯脱毒试管苗组培快繁的影响[M]. 安徽农业科学,2005,33(9):1628.

Study on the Rapid Propagation of Potato Culture Mediums Under Different Components, Low Phosphorus and Potassium Stress

SONG Peng-hui

(Berries Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Suiling, Heilongjiang 152200)

Abstract: In order to explore the high quality, high efficiency and low cost potato detoxified tube seedling, taking potato virus-free plantlets Kexin 13 as material and taking MS as basic medium, the effect of rapid propagation culture medium with different composition on test tube seedling agronomic characters, biomass and chlorophyll content in potato were studied. The results showed that the culture medium without adding organic matter could ensure the healthy growth of plantlets *in vitro*; it was not conducive to the growth of plantlets *in vitro* without adding trace elements and ferric salt. Large number of elements added amount of nitrogen and potassium, half the number of low phosphorus, potassium stress free medium on growth of test tube seedlings had adverse effect without adding organic matter and, most indicators and in CK medium on the growth of plantlets level was close, but also in the loose leaf number and effective stem node number, biomass, average root length and average root number than the full amount of the added CK medium. Consider from the cost angle, a large number of elements in the phosphorous and potassium half MS medium could be applied to the production of potato plantlets *in vitro* without adding organic matter.

Keywords: potato; virus-free plantlets; low phosphorus and potassium stress; different components