

马铃薯延薯 4 号再生体系建立

康哲秀, 吴京姬, 郎贤波, 许震宇, 玄春吉, 南哲佑

(延边朝鲜族自治州农业科学院, 吉林 龙井 133400)

摘要:为了建立马铃薯高效、稳定离体再生体系,以延薯 4 号无菌试管苗茎段为材料,通过对茎段再生体系的筛选,优化了培养基内最佳激素配比浓度。结果表明:马铃薯延薯 4 号无菌试管苗茎段诱导愈伤组织最适培养基为:MS+6-BA $3.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +NAA $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。茎段丛生芽分化的最适培养基为:MS+6-BA $2.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +NAA $0.20\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +GA $3\ 1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

关键词:马铃薯;延薯 4 号;茎段;愈伤组织诱导;植株再生

中图分类号:S532 **文献标识码:**A **文章编号:**1002-2767(2016)12-0011-02 DOI:10.11942/j.issn1002-2767.2016.12.0011

马铃薯(*Solanum tuberosum* L.)是茄科茄属作物,具有分布范围广、适应性强、产量高、营养全面和用途广泛等特点,是中国继水稻、小麦、玉米之后的第四大粮食作物^[1]。到目前为止,很多学者对马铃薯叶片^[2-3]、茎段^[4]、花药^[5]等进行大量的愈伤组织诱导及分化研究,但因分化率低,褐化严重,重复性差等因素,没有制定一套完善的马铃薯再生体系。本研究以吉林省马铃薯主栽品种延薯 4 号无菌试管苗茎段为材料,研究不同生长调节剂对马铃薯延薯 4 号愈伤组织的诱导及其丛生芽分化的影响,便于建立高效、稳定离体再生体系为马铃薯遗传转化,种质资源创新打下良好基础。

1 材料与方法

1.1 材料

试验以马铃薯延薯 4 号无菌试管苗为材料。延薯 4 号是延边农业科学院选育的品种,属中熟品种,生育期 95 d 左右。块茎大而整齐、商品率高、品质优、耐贮藏、淀粉含量 15%~16%,田间抗晚疫病性强。

1.2 方法

1.2.1 无菌试管苗的获得 以生长健壮的延薯 4 号试管苗茎段为外植体材料,在无菌条件下将其切成长度约 0.5 cm 的茎段(不带腋芽),以平铺的方式均匀接种到培养基上。

1.2.2 培养条件 所有培养基均加蔗糖 30 g·L⁻¹,琼脂 8 g·L⁻¹,pH 5.8。温度 23~25 ℃,光照 16 h,光照强度 2 500~3 000 lx,相对湿度 60%~70%。

1.2.3 不同生长调节剂对茎段愈伤组织的诱导的影响 以改良 MS 为基本培养基,细胞分裂素选择 6-BA,其浓度分别为 1、3、5 mg·L⁻¹,生长素选择 NAA,其浓度分别为 0.5、1.0、1.5 mg·L⁻¹。

1.2.4 6-BA、NAA 和 GA₃ 不同组合对茎段芽分化的影响 以改良 MS 为基本培养基,细胞分裂素选择 6-BA、GA₃。其浓度均为 1.0、2.0、3.0 mg·L⁻¹和 1.0、2.5、5.0 mg·L⁻¹,生长素选择 NAA,其浓度为 0.05、0.10、0.20 mg·L⁻¹,正交设计获得愈伤组织分化最佳培养基。

2 结果与分析

2.1 不同生长调节剂对愈伤组织诱导的影响

将茎段分别接在改良的 MS 为基本培养基添加不同浓度的 6-BA 和 NAA 的培养基上,7 d 以后茎段伤口处开始细胞增殖,出现淡黄色的愈伤组织。30 d 以后 9 种培养基上都能诱导出愈伤组织,且诱导率都在 80%以上,但不同处理产生的愈伤组织颜色、形状及长势均有差异(见表 1),培养基 A1 诱导出的愈伤组织为乳白色,A2~A4 和 A7~A9 为淡黄色,A5~A6 为淡绿色。从表 1 可以看出,茎段愈伤组织诱导的最佳培养基为 MS+6-BA $3.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ +NAA $1.0\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

2.2 6-BA、NAA 和 GA₃ 不同组合对茎段芽分化的影响

愈伤组织接到分化培养基后 15 d 左右从愈伤组织周边形成绿色的芽点,在 35~45 d 不定芽大量的出现。由表 2 可知,随着 6-BA 浓度的递

收稿日期:2016-11-07

基金项目:国家马铃薯产业技术体系建设专项资金资助项目(CARS-10)

第一作者简介:康哲秀(1980-),男,朝鲜族,吉林省通化市人,硕士,副研究员,从事马铃薯育种、组织培养及种薯快繁技术研究及应用研究。

通讯作者:吴京姬(1981-),女,朝鲜族,吉林省永吉县人,硕士,副研究员。从事马铃薯组织培养及病毒检测研究。E-mail:18332255@qq.com。

增分化率曾现先增后减的变化,NAA 浓度的递增分化率逐渐增加。从芽的生长情况及褐化出现综合来看,激素组合 MS+6-BA2.0 mg·L⁻¹+

NAA0.20 mg·L⁻¹+GA₃1.0 mg·L⁻¹最好,分化率达到 65.6%,褐化率只有 7.8%,且芽的颜色及长势都很正常。

表 1 6-BA 和 NAA 对延薯 4 号茎段愈伤组织诱导的影响

Table 1 Effect of 6-BA and NAA on the callus induction of the stem segments of Yanshu 4					
培养基编号 No.	6-BA/ (mg·L ⁻¹)	NAA/ (mg·L ⁻¹)	接种数 Test number	诱导率/% Induced rate	颜色和形状 Colors and shapes
A1	1.0	0.5	100	80	乳白色,疏松
A2	1.0	1.0	100	86	淡黄色,较疏松
A3	1.0	1.5	100	92	淡黄色,较致密
A4	3.0	0.5	100	94	淡黄色,较致密
A5	3.0	1.0	100	100	淡绿色,致密
A6	3.0	1.5	100	84	淡绿色,较致密
A7	5.0	0.5	100	92	淡黄色,较致密
A8	5.0	1.0	100	91	淡黄色,较疏松
A9	5.0	1.5	100	88	淡黄色,较疏松

表 2 6-BA、NAA 和 GA₃不同组合对茎段芽分化的影响

Table 2 Effect of 6-BA,NAA and GA ₃ on the callus differentiation of Yanshu 4						
培养基编号 No.	6-BA/ (mg·L ⁻¹)	NAA/ (mg·L ⁻¹)	GA ₃ / (mg·L ⁻¹)	愈伤组织数 Amount of inoculated anther	芽分化率/% Differentiation rate of sprout	褐化率/% Browning rate
B1	1.0	0.05	1.0	50	16.5	12.6
B2	1.0	0.10	2.5	50	28.6	16.5
B3	1.0	0.20	5.0	50	29.5	20.8
B4	2.0	0.05	2.5	50	33.6	15.6
B5	2.0	0.10	5.0	50	42.3	20.4
B6	2.0	0.20	1.0	50	65.6	7.8
B7	3.0	0.05	5.0	50	16.9	32.0
B8	3.0	0.10	1.0	50	22.5	15.6
B9	3.0	0.20	2.5	50	19.8	26.0

3 结论与讨论

马铃薯再生体系的建立是获得转基因马铃薯的一个先决条件^[6-7]。本试验以马铃薯延薯 4 号无菌试管苗茎段为材料,通过愈伤组织途径建立马铃薯离体培养再生体系。试验发现细胞分裂素 6-BA 对延薯 4 号茎段愈伤组织诱导有明显的促进作用,6-BA3.0 mg·L⁻¹时诱导率最大,当 6-BA 浓度大于 5.0 mg·L⁻¹时,诱导率不再增加,反而有所下降。当 MS+6-BA3.0 mg·L⁻¹+NAA 1.0 mg·L⁻¹时,茎段愈伤组织诱导率最高可达 100%,且愈伤组织生长旺盛,结构致密。本试验 6-BA、NAA 和 GA₃不同组合,采用正交设计诱导

愈伤组织分化丛生芽。诱导愈伤组织分化丛生芽时细胞分裂素 6-BA 浓度不宜过高,超过 2.0 mg·L⁻¹反而起抑制作用,在适宜范围内(0.05~0.20 mg·L⁻¹),随着 NAA 浓度的升高,分化率逐渐升高。诱导愈伤组织分化丛生芽最适宜培养基为 MS+6-BA2.0 mg·L⁻¹+NAA0.20 mg·L⁻¹+GA₃1.0 mg·L⁻¹最好,分化率达到 65.6%,褐化率只有 7.8%,且丛生芽颜色嫩绿,生长健壮。

参考文献:

[1] 高志民.我国马铃薯主粮化战略启动[N].人民政协报,2015-01-08(07).
[2] 李娟,程慧,张国裕.马铃薯叶片高效再生体系的建立[J].西北植物学报,2004(4):610-614.

东北春麦区小麦品种(系)低分子量麦谷蛋白基因 *Glu-A3d* 和 *Glu-B3g* 的分子检测

杨雪峰,宋维富,张延滨,宋庆杰,张春利,辛文利,肖志敏
(黑龙江省农业科学院 作物育种研究所,黑龙江 哈尔滨 150086)

摘要: *Glu-A3* 位点的 *Glu-A3d* 基因和 *Glu-B3* 位点的 *Glu-B3g* 基因是优质低分子量麦谷蛋白亚基(LMW-GS)。为明确 2 个优质基因在东北春麦区小麦品种(系)中的分布情况,从而为强筋小麦育种和品质改良提供有用信息,利用 *Glu-A3d* 和 *Glu-B3g* 基因特异性 STS 标记检测了 127 份小麦品种(系)。结果表明:2 个品种携带 *Glu-A3d* 基因,62 个品种(系)携带优质基因 *Glu-B3g* 基因,占 48.8%。
关键词: 小麦;*Glu-A3d* 基因;*Glu-B3g* 基因;分子标记辅助选择
中图分类号: S512.1⁺2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1002-2767(2016)12-0013-05 DOI:10.11942/j.issn1002-2767.2016.12.0013

小麦贮藏蛋白中的麦谷蛋白和醇溶蛋白是形成面筋的主要成分,也是决定小麦加工品质的主要物质^[1]。麦谷蛋白是通过二硫键连接起来的复合结构多肽链,而醇溶蛋白是单一的多肽链(单体蛋白)。因此一般认为麦谷蛋白决定小麦面筋的强度和弹性,醇溶蛋白决定面筋的延伸性^[2-3]。麦谷蛋白形成的谷蛋白聚合体是形成面团的必要物质,所以与面团特性有关的加工品质主要受麦谷蛋白影响^[4-5]。根据麦谷蛋白在十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(Sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)迁移率,将其分为高分子量麦谷蛋白亚基(HMW-GS)和低分子量麦谷蛋白亚基(LMW-

收稿日期:2016-11-08
基金项目: 国家现代农业产业技术体系建设专项资助项目(No. CARS-3-1-6);黑龙江省博士后基金资助项目(No. LBH-Z14185);黑龙江省农业科学院引进博士科研启动金资助项目(No. 201507-18);2013 年度黑龙江省农业科学院重点基金资助项目(ZD011)
第一作者简介: 杨雪峰(1980-),男,黑龙江省鸡东县人,硕士,助理研究员,从事小麦遗传育种研究。E-mail: yodghyxf@126.com。
通讯作者: 宋维富(1982-),黑龙江省甘南县人,男,博士,助理研究员,从事小麦品质遗传育种研究。E-mail: songweiful121@126.com。

- [3] 杨琼芬,卢丽丽,潘哲超,等.马铃薯叶片愈伤组织再生体系的建立[J].西南农业学报,2012(3): 1001-1004.
- [4] 鲍红春,李小雷,王建平,等.马铃薯品种陇薯 5 号茎段再生体系的建立[J].内蒙古农业科技,2014(2): 31-32.
- [5] 李文霞,宁海龙,张永根,等.二倍体马铃薯花药培养再生体系的优化[J].中国蔬菜,2012(04X):68-74.
- [6] 李晶.马铃薯再生体系的建立及遗传转化的研究[D].哈尔滨:东北农业大学,2003.
- [7] 柳容.马铃薯的再生及其再生植株遗传稳定性研究[D].长沙:湖南农业大学,2007.

Establishment of the Regeneration System of Potato Variety Yanshu 4

KANG Zhe-xiu, WU Jing-ji, LANG Xian-bo, XU Zhen-yu, XUAN Chun-ji, NAN Zhe-you
(Yanbian Academy of Agricultural Sciences, Longjing, Jilin 133400)

Abstract: To establish the highly efficient and stable in vitro regeneration system of potato, the stem regeneration system of the aseptic Yanshu 4 seedlings was screened and the hormone proportion of culture medium was optimized. The results showed that the optimum culture medium for the callus induction of explants from stem segments of Yanshu 4 was MS+6-BA3.0 mg·L⁻¹+NAA1.0 mg·L⁻¹ and the best culture medium for differentiation of multiple buds inducted by stem segment callus was MS + 6-BA2.0 mg·L⁻¹+NAA 0.20 mg·L⁻¹+GA₃ 1.0 mg·L⁻¹.
Keywords: potato; Yanshu 4; stem segment; callus induction; plant regeneration